

EL FACTOR eIF4G: LA PROTEÍNA ANDAMIO DEL COMPLEJO DE INICIO DE LA TRADUCCIÓN EN EUCARIONTES*

Sara Jiménez-López y Estela Sánchez de Jiménez

Departamento de Bioquímica, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 México D.F. Correo E: estelas@unam.mx

RESUMEN

El inicio de la traducción de mRNAs eucariontes, es un paso limitante en la síntesis de proteínas, en el cual, las subunidades ribosomales se ensamblan con factores de inicio de la traducción y un mRNA para formar el complejo activo de la traducción eIF4F. El factor de iniciación eIF4G, es la columna vertebral de este complejo de inicio de la traducción, debido a que es una proteína escalafón a la cual se le unen diversas proteínas como la proteína de unión a Cap eIF4E, la helicasa eIF4A y su activador eIF4B. Así mismo, se le une la proteína de unión a la cola de Poli-A (PABP), lo cual facilita la circularización y estabilidad del transcrito. Más aún, eIF4G, ayuda a posicionar al mRNA en el ribosoma 40S a través de su interacción con eIF3, interacción necesaria para formar el complejo de iniciación 48S activo.

PALABRAS CLAVE:

Traducción de mRNAs, factores de inicio de la traducción, eIF4G, traducción Cap-dependiente, IRES.

ABSTRACT

The translation initiation of mRNAs in eukaryotic is a limiting step in protein synthesis, in which ribosomal subunits are assembled with translation initiation factors and mRNA to form an active complex eIF4F. The translation initiation factor eIF4G is the backbone of this complex, because it is a protein scaffold to which various proteins bind as Cap-binding protein eIF4E, the helicase eIF4A and its activator eIF4B. Likewise, it recruits poly-A binding protein (PABP), to facilitates the circularization and stability of the transcript and, in addition, eIF4G helps to position the mRNA on the ribosome 40 S through its eIF3, interaction necessary to form the initiation active 48 S complex.

KEY WORDS:

mRNAs translation, translation initiation factors, eIF4G, Cap-dependent translation, IRES.

1. REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA

Existen dos procesos fundamentales para que los seres vivos lleven a cabo la regulación de la expresión génica, la transcripción y la traducción. En la primera se transmite la información contenida en la molécula del DNA a moléculas de mRNA y posteriormente esta información es procesada a través de la traducción, decodificando la información de la secuencia nucleotídica y transformándola en una proteína con la correspondiente secuencia de aminoácidos.

En procariontes, la transcripción y la traducción se llevan a cabo en el citoplasma y de manera simultánea. Muchos de los mRNAs de estos or-

ganismos son policistronicos; es decir, codifican para varias proteínas diferentes. En eucariontes, la transcripción tiene lugar en el núcleo y la traducción en el citoplasma. La transcripción genera un mRNA inmaduro que consta de una región 5'UTR ("untranslated region"), una región central codificante y una región 3'UTR. Un buen número de los mRNAs de estos organismos contienen además secuencias no codificantes o intrones intercaladas entre las codificantes o exones. La mayoría de los mRNAs inmaduros son modificados postranscripcionalmente por varias enzimas antes de ser exportados al citoplasma para su traducción. Estas modificaciones son: el retiro o procesamiento de intrones ("splicing"), la adición

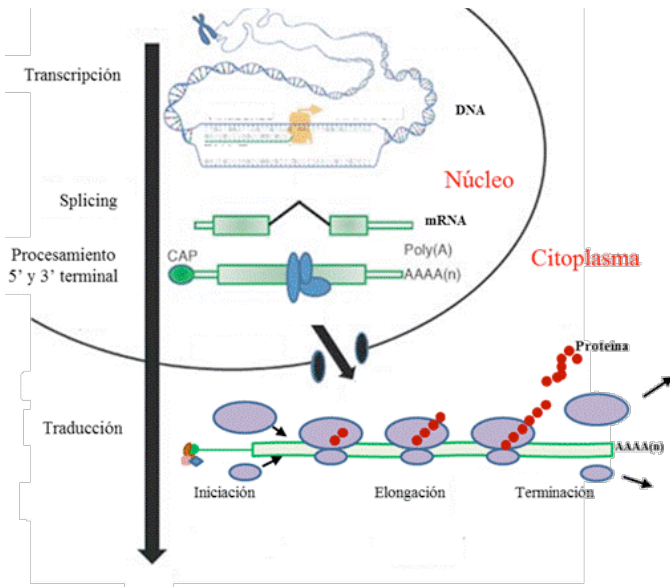


Figura 1. Esquema general de la regulación de expresión génica en eucariontes.

de adeninas en el extremo 3' (PoliA), así como la metilación en posición 7 de la G, primera base del 5' UTR. El extremo 5' metilado se conoce como Cap (Fig. 1).

2. INICIO DE LA TRADUCCIÓN CAP DEPENDIENTE

La síntesis de proteínas o traducción es uno de los procesos de mayor consumo de energía por lo que se encuentra altamente regulada y acoplada al estado metabólico de la célula. En este proceso se han identificado fundamentalmente tres etapas: iniciación, elongación y terminación.

El inicio de la traducción de mRNAs en organismos eucariontes, es un proceso complejo y constituye un paso limitante en la síntesis de proteínas. Está dividido en sucesivas fases y requiere de al menos 11 factores de iniciación (eIFs). En la pri-

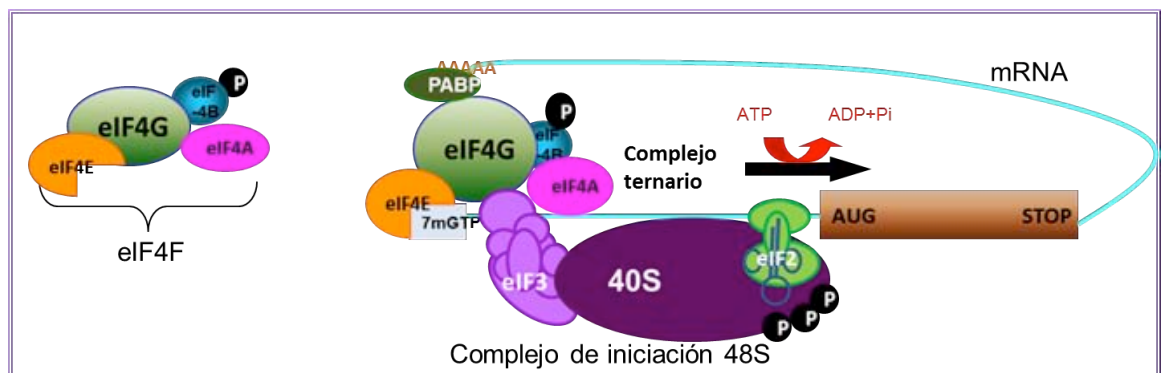
mera fase, se ensambla el complejo eIF4F, formado por la proteína de unión a Cap eIF4E, una proteína de andamio eIF4G, la helicasa eIF4A y eIF4B, el activador de ésta. Estos dos últimos factores tienen como función desarrollar la estructura secundaria del 5'UTR del mRNA a través de su actividad de ATPasa (1, 2). Posteriormente, el complejo eIF4F ya integrado se une al 5' UTR del mRNA y recluta al complejo de iniciación 43S formado a su vez por la subunidad ribosomal 40S, los factores eIF1, eIF1A, eIF2, así como por el factor multipeptídico eIF3, que está asociado con el tRNA iniciador de metionina (3, 4). La unión entre ambos complejos (eIF4F y 43S) se da a través de la interacción de eIF4G y eIF3 y da como resultado la formación del complejo ribosomal activo 48S que se mueve unidireccionalmente (5' a 3') hidrolizando moléculas de ATP a lo largo de la región 5' UTR del mRNA hasta encontrar el codón de inicio AUG (5, 6). Finalmente, la proteína de unión a PoliA (PABP) se une a la región 3' UTR del mRNA a través de la región PoliA y mediante su unión con eIF4G, circulariza al mRNA, lo que incrementa la estabilidad y la eficiencia de la traducción de los mensajeros (Fig. 2), formando un gran complejo conocido como 48S.

El complejo 48S interactúa con los factores eIF5 y eIF5B a través de eIF2 activándose la hidrólisis de GTP, energía que es usada para lograr la unión de la subunidad ribosomal 60S y liberar coordinadamente estos factores de iniciación, permitiendo así la formación del ribosoma activo 80S. La interrupción de alguno de los eventos antes mencionados, puede bloquear la síntesis de proteínas (1, 7, 8).

3. INICIO DE LA TRADUCCIÓN DEPENDIENTE DE IRES

Existe un mecanismo de control traduccional alternativo para la síntesis de proteínas, descubierto en el mRNA de un picornavirus, el cual presenta en su región 5'UTR una estructura secundaria llamada IRES ("Internal Ribosome Entry Site") o sitio interno de entrada para el ribosoma (9). En este mecanismo,

Figura 2. Representación esquemática de los complejos de inicio de la traducción eIF4F y 48S.



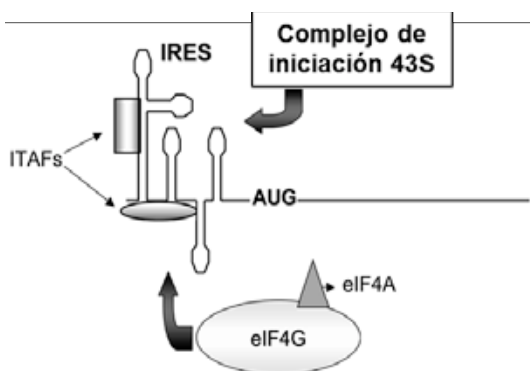


Figura 3. Elementos reclutados por IRES para el inicio de la traducción.

la maquinaria traduccional es reclutada al 5'UTR del mRNA de manera Cap independiente, con la ayuda de factores que reconocen al IRES y actúan en *trans* (ITAFs), factores de inicio de traducción o por la unión directa de la subunidad ribosomal 40S al mRNA (Fig. 3). Entre los factores de inicio de la traducción que se han identificado que interactúan con secuencias IRES para dar inicio a la síntesis de proteínas se encuentran eIF4G, eIF4A, eIF2 y eIF3 (10).

Este mecanismo de inicio de la traducción es ampliamente descrito en varios tipos de virus, sin embargo, también se ha encontrado en mRNAs celulares de eucariontes y depende estrictamente de la integridad de su estructura secundaria, dado que pequeños cortes en su cadena nucleotídica pueden aumentar o reducir severamente su actividad (11).

Entre los mRNAs celulares que contienen estructura IRES, algunos codifican para factores de inicio de la traducción, factores de la transcripción, factores de crecimiento y para algunas proteínas que responden a estímulos fisiológicos como hipoxia, estrés por calor, apoptosis o a infecciones virales propiciando una ventaja para la traducción de estos mRNAs bajo estas condiciones (12).

4. EL FACTOR DE INICIO DE LA TRADUCCIÓN eIF4G

En la sección anterior, se menciona que al factor de iniciación eIF4G se le unen diversas proteínas que participan en la traducción de mRNAs, por lo que se le considera la proteína andamio del complejo de inicio de la traducción. Debido a esta función presenta varios dominios de unión a los factores de inicio de la traducción (Fig. 4). En la región NH₂-terminal se encuentran los dominios de unión a eIF4E y PABP; en la región central se localizan los dominios de unión a eIF3 y al mRNA. Así mismo, la proteína eIF4G presenta hasta tres dominios HEAT (MIF4G, MA3, W2) en donde se puede unir eIF4A, uno en la región central y los otros dos en el COOH-terminal. El dominio HEAT-1 es el más conservado en vertebrados y plantas, mientras que el HEAT-3 solo se presenta en vertebrados (5, 13).

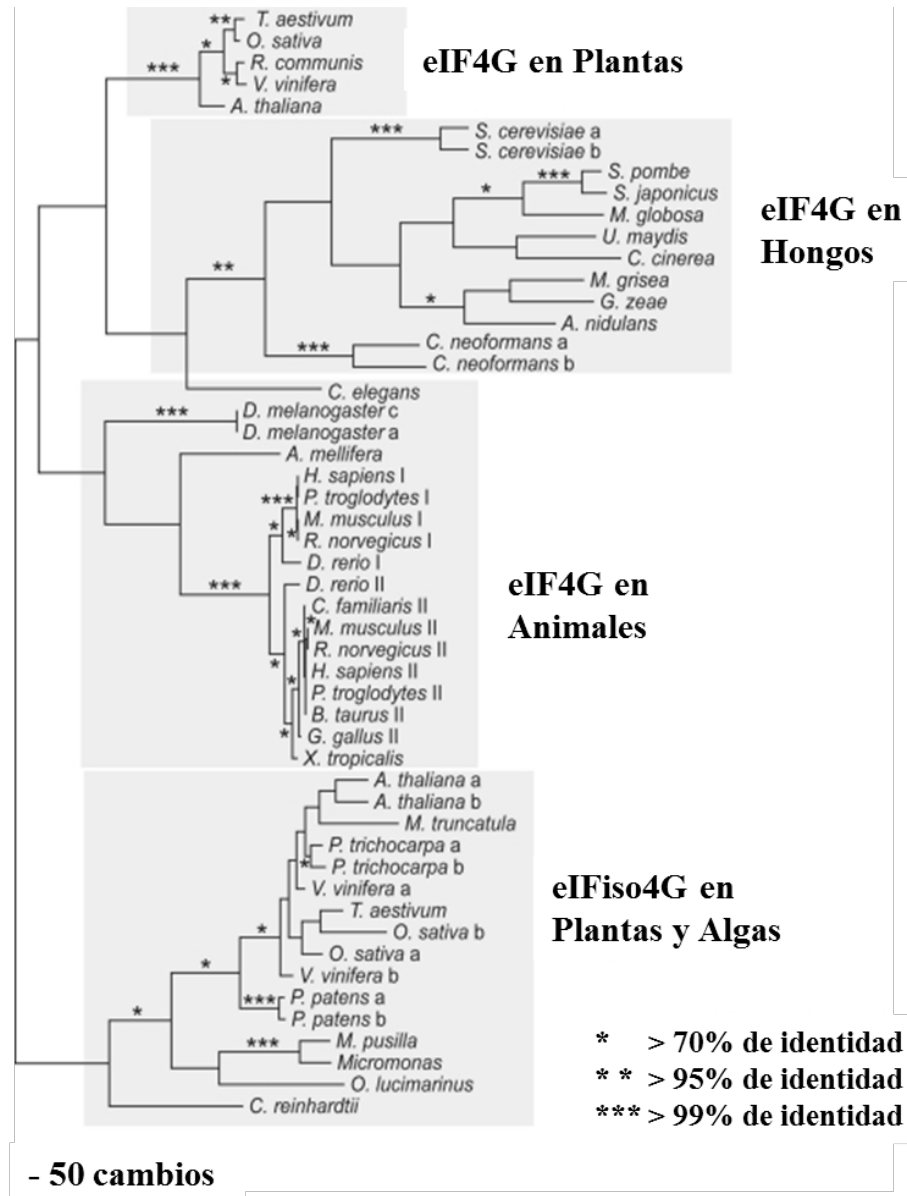
eIF4G en plantas. Cabe destacar que únicamente en plantas se ha descrito un segundo complejo de inicio de la traducción denominado eIFiso4F con diferentes tamaños, patrones de expresión y distintas isoformas de eIF4G y eIF4E. En el caso de eIF4E y eIFiso4E, ambas isoformas tienen una masa molecular similar de 26 y 28 kDa respectivamente, sin embargo, eIF4G y eIFiso4G presentan una masa molecular diferente, 220 y 86 kDa, respectivamente. Por otra parte, existen reportes que muestran que el factor eIFiso4G tiene una secuencia NH₂-terminal mucho más corta comparada con eIF4G, por lo tanto, la diferencia en tamaño de los factores eIF4F y eIFiso4F depende de los tamaños tan diferentes de los factores eIF4Gs. (14-16).

En extractos de germen de trigo y puntas de raíz de maíz, se ha observado que eIFiso4F es de 3 a 5 veces más abundante que eIF4F, sugiriendo que este puede ser el complejo primario usado para iniciar la traducción general en muchas células de plantas (15). Sin embargo, la capacidad para iniciar la traducción de algunos mRNAs no



Figura 4. Dominios de organización de factor eIF4G.

Figura 5. Árbol filogenético de los factores eIF4G y eIFiso4G (13).



es igual para ambos complejos eIF4F y eIFiso4F, lo que sugiere que las características de algunos mRNAs les permiten interactuar preferencialmente con eIF4F o eIFiso4F.

Filogenéticamente los factores eIF4Gs tienen la región central muy conservada en plantas superiores, hongos y animales. El árbol filogenético construido con 50 secuencias de aminoácidos de la región central de eIF4G (Fig. 5), muestra que hubo una duplicación de genes ancestrales en algún momento antes de la diversificación de plantas, animales y hongos, lo que dio origen a eIFiso4G en plantas. Ambos genes (eIF4G y eIFiso4G) han sido retenidos en plantas superiores, sin embargo, el gen de eIFiso4G se ha perdido en hongos y vertebrados (14, 18). La presencia de múltiples

isoformas de eIF4G en plantas, sugiere una posible especialización funcional de las mismas.

A la fecha, solo en *Arabidopsis thaliana* se han encontrado tres isoformas del factor eIF4G, una del factor eIF4G y dos del factor eIFiso4G. Las isoformas de eIFiso4G tienen una masa molecular de 86 kDa y 83 kDa, son ~ 57% idénticas en su secuencia de aminoácidos y 72% similares en sus dominios conservados; mientras que la masa molecular de eIF4G es de 168 kDa y tiene ~ 27% de identidad en secuencia de aminoácidos y 41% de similitud con las otras dos isoformas (14, 18).

Por otro lado, se ha observado que eIFiso4F es de 3 a 5 veces más abundante que eIF4F en extractos de germen de trigo, en puntas de raíz de maíz y en floraciones de coliflores, sugiriendo

que eIFiso4F puede ser el complejo primario más usado para iniciar la traducción general en muchas células de plantas.

eIF4G en la traducción Cap-independiente.

Adicionalmente a su rol central en la traducción Cap-dependiente, el factor eIF4G está involucrado en el proceso de traducción Cap-independiente de virus y mRNAs celulares que presentan elementos IRES, este proceso es mediado por la asociación de eIF4G con el IRES, complejo que recluta al ribosoma (19, 20). Lo anterior se ha observado tanto en infecciones virales como en condiciones de estrés térmico en donde el reconocimiento del Cap se pierde y solamente eIF4G y/o eIFiso4G son requeridos para la traducción Cap-independiente (17).

CONCLUSIONES

Existen diversos mecanismos de control de la expresión génica, uno de los más importantes es la regulación del inicio de la traducción de mRNAs en la que participan diversos factores, entre ellos eIF4G, el cual juega un papel central en esta regulación. Este factor estabiliza al complejo multiprotéico de iniciación eIF4F ya que funciona como una proteína de andamio en este complejo. A pesar del papel relevante de eIF4G en la traducción, no se ha investigado su posible participación como un blanco de control traduccional de mRNAs específicos. 

REFERENCIAS

1. Richter JD, Sonenberg N (2005) Regulation of cap-dependent translation by eIF4E inhibitory proteins. *Nature* 433:477-480.
2. Mamane Y, Petroulakis E, Martineau Y, Sato TA, Larsson O, Rajasekhar VK, Sonenberg N (2007) Epigenetic activation of a subset of mRNAs by eIF4E explains its effects on cell proliferation. *PLoS One* 2:1-13.
3. Holcik M, Pestova TV (2007) Translation mechanism and regulation: old players, new concepts. Meeting on translational control and non-coding RNA. *EMBO Rep.* 8(7):639-643.
4. Spirin AS (2009) How does a scanning ribosomal particle move along the 50-untranslated region of eukaryotic mRNA? brownian ratchet model. *Biochem* 48:10688-10692.
5. LeFebvre AK, Korneeva NL, Trutschl M, Cvek U, Duzan RD, Bradley CA, Hershey JW, Rhoads RE (2006) Translation initiation factor eIF4G-1 binds to eIF3 through the eIF3e subunit. *J Biol Chem.* 281:22917-22932.
6. Vassilenko KS, Alekhina OM, Dmitriev SE, Shatsky IN, Spirin AS (2011) Unidirectional constant rate motion of the ribosomal scanning particle during eukaryotic translation initiation. *Nucleic Acids Res* 39(13):5555-5567.
7. Kapasi P, Chaudhuri S, Vyas K, Baus D, Komar AA, Fox PL, Merrick WC, Mazumder B (2007) L13a blocks 48S assembly: role of a general initiation factor in mRNA-specific translational control. *Mol Cell* 25(1):113-126.
8. Olsen DS, Savner EM, Mathew A, Zhang F, Krishnamoorthy T, Phan L, Hinnebusch AG (2003) Domains of eIF1A that mediate binding to eIF2, eIF3 and eIF5B and promote ternary complex recruitment in vivo. *EMBO J* 22: 193-204.
9. Stoneley M, Willis AE (2004). Cellular internal ribosome entry segments: structures, transacting factors and regulation of gene expression. *Oncogene* 23(18):3200-3207.
10. Constantino D, Kieft JS (2005) A preformed compact ribosome-binding domain in the cricket paralysis-like virus IRES RNAs. *RNA* 11(3):332-343.
11. Martínez-Salas E, López de Quinto S, Ramos R, Fernández-Miragall O. (2002) IRES elements: features of the RNA structure contributing to their activity. *Biochem* 84(8):755-763.
12. Graber TE, Holcik M (2007) Cap-independent regulation of gene expression in apoptosis. *Mol Biosyst* 3(12):825-834.
13. Schutz P, Bumann M, Oberholzer AE, Bieniossek C, Trachsel H, Altmann M, Baumann U (2008) Crystal structure of the yeast eIF4A-eIF4G complex: an RNA-helicase controlled by protein-protein interactions. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:9564-9569.
14. Lellis AD, Allen ML, Aertker AW, Tran JK, Hillis DM, Harbin CR, Caldwell C, Gallie DR, Browning KS. (2010) Deletion of the eIFiso4G subunit of the Arabidopsis eIFiso4F translation initiation complex impairs health and viability. *Plant Mol Biol* 74(3):249-263.
15. Browning KS (1996) The plant translational apparatus. *Plant Mol Biol* 32:107-144.

16. Gallie DR, Browning KS (2001) eIF4G functionally differs from eIFiso4G in promoting internal initiation, cap-independent translation, and translation of structured mRNAs. *J Biol Chem* 276(40):36951–36960.
17. Nicaise V, Gallois JL, Chafiai F, Allen LM, Schurdi-Levraud V, Browning KS, Candresse T, Caranta C, Le GO, German-Retana S (2007) Coordinated and selective recruitment of eIF4E and eIF4G factors for potyvirus infection in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett* 581:1041–1046.
18. Katoh K, Toh H (2008) Recent developments in the MAFFT multiple sequence alignment program. *Brief Bioinform* 9:286–298.
19. Breyne S, Yu Y, Unbehauen A, Pestova T, Hellen CU (2009) Direct functional interaction of initiation factor eIF4G with type 1 internal ribosomal entry sites. *PNAS* 106(23):9197–9202.
20. Kafasla P, Morgner N, Robinson CV, Jackson, RJ (2010) Polypyrimidine tract-binding protein stimulates the poliovirus IRES by modulating eIF4G binding. *The EMBO J* 29:3710–3722.