

## 微型述评

## 真核生物起始因子 5

万永奇 朱克毅 王善治 谢 维\*

(东南大学医学院分子医学研究所, 南京 210009)

**摘要** 真核生物起始因子 5 (eIF-5) 是一种重要的翻译起始因子, 过去人们认为它只是 GTP 酶活化因子, 催化 eIF-2 上的 GTP 水解, 促进 80 S 起始复合体的形成. 近年来人们发现它不仅催化 eIF-2 上的 GTP 水解, 还参与 eIF-3 功能的发挥, 与 eIF-2、eIF-3 同时结合, 促进起始因子复合体的形成.

**关键词** 真核生物起始因子 (eIF), 基因, 表达

**学科分类号** Q71

真核生物的翻译起始大致包括下列几步: a. 三元复合物形成. b. 43 S 前起始复合体形成. c. mRNA 结合. d. 80 S 起始复合体形成. 这一过程中, 各种翻译起始因子 (translation initiation factor) 起着重要作用, 主要的真核生物起始因子 (eukaryotic initiation factor, eIF) 有: eIF-1, eIF-2, eIF-2B, eIF-3, eIF-4A, eIF-5 等. eIF-5 介导 eIF-2 上的 GTP 水解, GTP 水解导致核糖体 40 S 小亚基上 eIF-2、GDP、磷酸基与其他翻译起始因子释放, 核糖体大小亚基结合, 形成 80 S 起始复合体.

## 1 eIF-5 的结构和功能

最早人们认为 eIF-5 分子质量为 125 ku 或 150 ~ 168 ku, 1993 年, Das 等克隆到哺乳动物 eIF-5 的 cDNA 序列 (大鼠), 有 1 297 个核苷酸, 编码 429 个氨基酸残基组成的肽链, 理论计算分子质量为 48.926 ku, 在 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳泳动率约 58 ku. 几乎同时, Chakravarti 等克隆表达酵母 eIF-5 基因 *Tif5*, 序列长 1 215 个核苷酸, 编码 405 个氨基酸残基的多肽, 分子质量为 45.346 ku, 氨基酸序列与大鼠 eIF-5 的同源性为 60%, 一致率为 39%. Si 等克隆了人的 eIF-5 基因, 编码序列有 1 293 个核苷酸, 编码 431 个氨基酸残基的多肽, 分子质量为 49.123 ku, 只有 40 个氨基酸与大鼠 eIF-5 不同. 线虫的 eIF-5 基因 *Ceif5* 编码序列为 1 323 个核苷酸, 编码 441 个氨基酸残基, 分子质量为 49.303 ku. 上述资料表明, 各种物种的 eIF-5 编码序列大多为 1 300 个核苷酸, 编码约 430 个氨

基酸残基的多肽, 分子质量为 49 ku 左右, 在进化过程中高度保守.

不同物种的 eIF-5 都有强酸性富含天冬氨酸和 / 或谷氨酸的区域. eIF-5 与 GTP 酶超家族 G-1-G-4 特征结构域有较低的同源性. 但 eIF-5 的 G-1 基序中有一个氨基酸的插入, 提示 eIF-5 可能无 GTP 酶活性, 不直接水解 GTP, 只是 GTP 酶活化蛋白 (GTPase activating protein), 使 eIF-2 或其他翻译起始因子的 GTP 酶活性得以发挥. eIF-5 羧基端 326 至 411 位氨基酸序列为 eIF-5C 结构域, 在 GCD6、eIF-2B  $\epsilon$ 、eIF-4  $\gamma$  等蛋白质因子中也存在, 目前已发现 36 种蛋白质具有 eIF-5C 结构域, 广泛分布于酵母、拟南芥、线虫、果蝇、小鼠、人各种真核生物中.

最近, Paulin 等<sup>[1]</sup>发现 eIF-5 具有经典 GTP 酶活化蛋白的标记, eIF-5 有一高度保守的精氨酸残基, 与经典 GTP 酶活化蛋白的“精氨酸指”结构域相似, “精氨酸指”结构域的侧翼有疏水氨基酸残基包绕, eIF-5 这一精氨酸残基的周围也存在许多疏水残基, 如将此精氨酸突变为甲硫氨酸, eIF-5 将不能介导 GTP 水解, 也不能在体外支持 mRNA 翻译. eIF-5 氨基端的另一精氨酸残基 (Arg 48) 也参与 eIF-2·eIF-5 复合体 GTP 酶活性位点的形成. 他们的结果表明, eIF-5 确实是一种 GTP 酶活化蛋白.

\* 通讯联系人. 东南大学医学院分子医学研究所, 发育遗传学实验室.

Tel: 025-3220761, E-mail: wei.xie@seu.edu.cn

收稿日期: 2001-04-23, 接受日期: 2001-07-26

## 2 eIF-5 与 eIF-2 的相互作用

eIF-2 与 GTP 及起始 tRNA 结合, 形成三元复合物. eIF-2 上的 GTP 水解使 40 S 小亚基上的各种翻译起始因子脱落, 为形成 80 S 起始复合体创造条件.

由于 eIF-5 主要作用是介导 eIF-2 上的 GTP 水解, 人们推测它可能直接与 eIF-2 结合, 这种结合是它催化 GTP 水解的必要条件. Chaudhuri 等将未完全纯化的 eIF-2 与 eIF-5 制备液混合后经蔗糖梯度离心, 发现它们在 160 ku 处共沉淀, 如不混合则分别沉淀于 50 ku、120 ku 处, 恰好与预计的 eIF-5、eIF-2 的大小吻合. 他们的结果表明早期人们纯化的 160 ku “eIF-5” 是 eIF-5 与 eIF-2 的复合物. Das 等进一步指出, eIF-5 与 eIF-2 的  $\beta$  亚单位相结合, eIF-2 $\beta$  亚基的氨基端是结合的关键部位, 该区域有一赖氨酸富集区: K 盒 (K-box), K 盒有三个: K 盒 1、2、3, K 盒也是 eIF-2 $\beta$  与 GTP 交换因子 eIF-2B 结合的关键区域. eIF-5 与 eIF-2 结合的关键位点在羧基端的 165 个氨基酸<sup>[2]</sup> (即 eIF-5C 结构域), 这一区域有富含芳香 (aromatic) 氨基酸和酸性 (acidic) 氨基酸的二重 (bipartite) 基序, 该基序有两个片段 (AA 盒 1 和 AA 盒 2), 片段间由 19~23 个较不保守的氨基酸隔开. AA 盒 1 含 12 个氨基酸 (342~353), AA 盒 2 含 7 个氨基酸. eIF-5 羧基端 165 到 430 位氨基酸残基序列是 eIF-2 的结合位点, 其中 165 到 263 位氨基酸序列不能与 eIF-2 直接结合, 但对结合非常重要, 这一片段缺失将大大降低 eIF-5 与 eIF-2 的结合能力, 提示它可能帮助 eIF-5 形成合适的空间结构, 使结合位点得以暴露<sup>[3]</sup>.

尽管早已观察到 eIF-5 与 eIF-2 的结合, 但这种结合对 GTP 水解的作用尚不清楚. eIF-5 与 eIF-2 结合后既不能水解游离的 GTP, 也不能水解单纯结合在 Met-tRNA•eIF-2 上的 GTP, 而只能水解与核糖体 40 S 小亚基结合的 eIF-2 上的 GTP, 表明 40 S 小亚基对 GTP 的水解是必需的. Kozak 推测 40 S 小亚基上有一“GTP 酶激活中心”, 与原核生物核糖体 50 S 亚基同源, 原核生物 50 S 亚基这一结构域介导原核起始因子 IF2 与延伸因子 EFTu、EFG 催化的 GTP 水解, 原核生物 IF2、EFTu 弱 GTP 酶活性被该结构域明显增强. Das 等则认为 eIF-5 通过与 eIF-2 $\beta$  结合改变了 eIF2 的构象, 激发 eIF-2 的内在 GTP 酶活性, 因为 eIF-5 的 AA 盒突

变破坏其与 eIF-2 的结合后, eIF-5 催化 GTP 水解的能力也大大降低, 表明 eIF-5 与 eIF-2 的结合确实是 eIF5 催化作用发挥的前提, 但目前尚无直接证据表明, eIF-2 有潜在的 GTP 酶活性. eIF-5 的氨基端也是它发挥功能所必需的<sup>[4]</sup>, 这一区域的保守精氨酸 (Arg 15) 如被突变, 不影响它与 eIF-2 结合, 但严重降低催化 GTP 水解的效率. eIF-5 的 33 位与 55 位赖氨酸被丙氨酸替代对功能也有关键作用. 这些结果提示, eIF-5 与 eIF-2 的结合是 eIF-5 发挥催化作用的必要但非充分条件, 关于 eIF-5 催化作用的机制还需进一步研究. 另外, 不同物种的 eIF-5 都有保守的锌指基序, 酵母的相似基序在核糖体起始位点的识别中起重要作用, 哺乳动物 eIF-5 这一基序的作用尚不清楚.

## 3 eIF-5 与 eIF-3 的相互作用

继 eIF-2 后, 人们发现翻译起始因子 eIF-3 也可与 eIF-5 结合.

eIF-3 是多亚基蛋白, 在起始 tRNA 与 40 S 小亚基的结合中起关键作用, 也参与随后 mRNA 与 40 S 起始前复合体的结合、扫描, 起始密码子的识别, 80 S 起始复合体的形成等. Bandyopadhyay 等通过免疫亲和层析和蛋白质印迹发现 eIF-3 的 P42 亚基与 eIF-5 特异性结合. Phan 等在酵母中也得到相似的结果, 酵母 eIF-3 Prt1P 亚基与 eIF-5 结合. eIF-5 羧基端是与 eIF-3 NIP1 亚基专一结合的区域, 其中含芳香氨基酸和酸性氨基酸的二重基序 1、2 (AA Box 1、2) 是结合所必需的, 这一区域也是与 eIF-2 结合的关键位点. eIF-3 与 eIF-2 会不会竞争性抑制, eIF-5 能否与 eIF-3、eIF-2 同时结合, 这种结合对真核生物翻译起始有什么作用? 成了人们关心的问题.

Asano 等<sup>[5]</sup>发现酵母的 eIF-5 体外同时与 eIF-3、eIF-2 $\beta$  结合, eIF-5 羧基端介导其与 eIF-3、eIF-2 的结合. 将 eIF-5 的 AA 盒 2 定点诱变后, eIF-2 就无法与 eIF-3 共沉淀, 说明 AA 盒变化使 eIF-5 不能与 eIF-2、eIF-3 结合, 阻止了 eIF-2 与 eIF-3 的共沉淀. eIF-2 $\beta$  亚基的 K 盒突变会显著降低 eIF-2 $\beta$  与 eIF-5 的免疫沉淀, 完全破坏 eIF-2 $\beta$  与 eIF-3Prt 亚基的结合. eIF-2、eIF-3 和 eIF-5 体内不依赖于核糖体即可形成复合体, 提示这些因子可能以组装单位的形式与 40 S 核糖体小亚基结合, 促进 43 S 前起始复合体的形成, 只要有 eIF-1A 与 mRNA/eIF-4A/PAB1 复合体参与, 即可形成 48 S

起始前复合体. eIF-3 可促进三元复合物与 40 S 小亚基的结合. 目前尚未检测出 eIF-2 与 eIF-3 的直接结合, 只有通过 eIF-5, eIF-3 才能与 eIF-2 结合, 发挥功能.

由此可见, eIF-5 与 eIF-2、eIF-3 同时结合, 形成起始因子复合体, 促进 eIF-3 功能的发挥.

综上所述, eIF-5 不仅是一种 GTP 酶活化蛋白, 催化 GTP 水解, 促进 eIF-2 与其他翻译起始因子的释放, 使核糖体大小亚基可以结合, 还与 eIF-3 结合, 促进起始因子复合体的形成, 使 eIF-3 的功能得以发挥.

eIF-5 功能下一步研究的关键在于, a. 明确 eIF-2 是否有 GTP 酶活性, 以探讨 eIF-5 与 eIF-2 的结合在真核生物起始中的确切作用. b. 核糖体 40 S 亚基是否有 GTP 酶活性, 以解释为什么 eIF-5 只能水解核糖体 40 S 亚基上的 GTP. 目前人们认为在核糖体中, 蛋白质只是结构组分, 真正具肽酰转移酶活性的是核糖体 RNA. Cech 更进一步指出, 核糖体 RNA 就是一种核酶. 如果可以证明真正有 GTP 酶活性的是核糖体亚基, eIF-5 只能水解与核糖体小亚基结合的 eIF-2 上的 GTP 就很好解释. c. 在人、酵母、大鼠之外的生物中寻找 eIF-5

同源蛋白, 以明确各种生物的 eIF-5 在翻译起始过程的作用是否一致, 同时也可物种进化与翻译起始调控研究提供资料. d. 进一步研究以明确 eIF-5 其他区域氨基酸的功能. e. 研究已发现的含 eIF-5C 结构域蛋白的功能, 发现更多含 eIF-5C 结构域的蛋白质, 了解这一结构域分布如此广泛的原因.

## 参 考 文 献

- 1 Paulin F E, Campell L E, O'Brien K, *et al.* Eukaryotic translation initiation factor 5 (eIF-5) acts as a classical GTPase activator protein. *Curr Biol*, 2001, **11** (1): 55~ 59
- 2 Asano K, Krishnamoorthy T, Phan L, *et al.* Conserved bipartite motifs in yeast eIF5 and eIF2B $\epsilon$ , GTPase activating and GDP-GTP exchange factors in translation initiation, mediate binding to their common substrate eIF-2. *EMBO J*, 1999, **18** (6): 1673~ 1688
- 3 Das S, Maitra U. Mutation analysis of mammalian translation initiation factor 5 (eIF-5): role of interaction between the  $\beta$ -subunit of eIF2 and eIF5 in eIF5 function *in vitro* and *in vivo*. *Mol Cell Biol*, 2000, **20** (11): 3942~ 3950
- 4 Das S, Ghosh R, Maitra U. Eukaryotic translation initiation factor 5 function as a GTPase activating protein. *J Biol Chem*, 2001, **276** (9): 6720~ 6726
- 5 Asano K, Clayton J, Shalev A, *et al.* A multifactor complex of eukaryotic initiation factors, eIF-1, eIF-2, eIF-3, eIF-5, and initiator tRNA<sup>Met</sup> is an important translation initiation intermediate *in vivo*. *Genes and Development*, 2000, **14** (19): 2534~ 2546

## Eukaryotic Initiation Factor 5

WAN Yong-Qi, ZHU Ke-Yi, WANG Shan-Zhi, XIE Wei\*

(Institute of Molecular Medicine, Southeast University Medical School, Nanjing 210009, China)

**Abstract** Eukaryotic initiation factor 5 (eIF-5) is an important factor in translation initiation. It acts as a GTPase activating factor to mediate the hydrolysis of GTP binding to eIF-2 which is essential for the composition of functional 80S complex. Besides, eIF-5 binds eIF-2 and eIF-3 at the same time, so induces the construction of translation initiation factors complex.

**Key words** eukaryotic initiation factor (eIF), gene, expression

\* Corresponding author. Laboratory of Developmental Genetics, Institute of Molecular Medicine, Southeast University Medical School.

Tel: 86-25-3220761, E-mail: wei.xie@seu.edu.cn

Received: April 23, 2001 Accepted: July 26, 2001