

真核生物 mRNA 翻译起始机制研究进展

郑超星¹, 马小凤¹, 张永华¹, 李洪杰², 张根发¹

1. 北京师范大学生命科学学院, 北京 100875

2. 中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081

摘要: 在真核生物中, mRNA 翻译是一个复杂的多步骤过程, 包括起始、延伸和终止 3 个阶段。其中, 起始阶段的调控是影响 mRNA 翻译的关键。目前已经发现, mRNA 翻译起始方式有多种, 以最早发现的 m⁷G 帽依赖性扫描机制最为经典, 但当细胞处于逆境, 经典起始机制受到抑制时, 其他类型的起始机制会将其替代以保证翻译的顺利进行。本文对目前已发现的真核生物 mRNA 不同翻译起始机制特别是经典起始机制的替代机制进行了综述, 旨在为深入认识真核生物基因在翻译水平上的表达调控提供参考。

关键词: 翻译起始; 真核生物 mRNA; 帽依赖性扫描; IRES; CITE

Research progress in the mechanism of translation initiation of eukaryotic mRNAs

Chaoxing Zheng¹, Xiaofeng Ma¹, Yonghua Zhang¹, Hongjie Li², Genfa Zhang¹

1. College of Life Sciences, Beijing Normal University, Beijing 100875, China

2. Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China

Abstract: The translation of mRNA is a complicated multi-step process, including initiation, elongation and termination. Among them, the regulation of the initial stage plays the key role. There are many ways to initiate mRNA translation, and the most classical way is the m⁷G cap-dependent scanning mechanism that was also the first mechanism identified. When cells encounter adversity and the classical mechanism is inhibited, other types of translation initiation mechanisms will be activated. In this review, we summarize the translation initiation mechanisms of eukaryotic mRNAs, especially some alternative mechanisms. It will provide a reference for further understanding of the expression and regulation of eukaryotic genes at the translation levels.

Keywords: translate initiation; eukaryotic mRNA; m⁷G cap-dependent scanning; IRES; CITE

收稿日期: 2018-04-09; 修回日期: 2018-06-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 31470399)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (No.31470399)]

作者简介: 郑超星, 硕士研究生, 专业方向: 植物分子遗传学。E-mail: superstarz@163.com

通讯作者: 张根发, 博士, 教授, 研究方向: 植物分子遗传学。E-mail: gfzh@bnu.edu.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.17-393

网络出版时间: 2018/7/13 9:55:13

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20180713.0932.001.html>

在真核生物中, mRNA 翻译是一个不断循环的过程, 包括起始、延伸和终止 3 个步骤。其中, 起始阶段在基因表达调控中尤为重要。研究表明, 此过程涉及到不同种类的翻译起始因子(eukaryotic initiation factors, eIFs)和不同特点的 mRNA, 它们在翻译调控中均发挥着重要的作用^[1]。依赖于 m⁷G 帽结构的核糖体扫描机制(m⁷G cap-dependent scanning mechanism)是真核生物进行翻译起始的主要形式, 也被公认为是最经典的分子作用机制, 其过程主要包括 43S 前起始复合物的组装、43S 前起始复合物与 mRNA 5'末端 m⁷G 帽的结合、起始密码子的选择、60S 核糖体亚基的加入和 80S 亚基的形成等^[1]。

当经典翻译起始机制受到抑制时, 一些 mRNA 则会通过其他机制进行翻译, 以维持蛋白质的合成效率, 保证细胞在逆境中的生存和恢复。在这些非典型的翻译起始案例当中, 大多数却并不依赖于 5'末端的 m⁷G 帽结构, 因此被称为非帽依赖性翻译起始机制(cap-independent mechanism)。例如, 40S 核糖体亚基可以通过特殊的内部核糖体进入位点(internal ribosome entry site, IRES)直接被招募到 mRNA 上游的某个位置, 或者直接与起始密码子结合。此外, 还有一种非典型机制既不依赖帽结构, 也不依赖 IRES, 而是通过一种特殊的 RNA 结构完成核糖体亚基的招募, 这种特殊结构被称为非帽依赖性翻译增强子(cap-independent translational enhancer, CITE)^[2]。

真核生物的 mRNA 翻译起始是一个极其复杂的过程, 尤其是当细胞处于胁迫状态时, 各种替代式的非典型起始机制不断被发现。本文在总结经典的帽依赖性扫描机制的相关研究进展的基础上, 对由 IRES 和 CITE 介导的两种非典型翻译起始机制进行了介绍, 期望为更好地探索多种翻译起始方式及它们的调控方式提供参考。

1 经典的帽依赖性扫描机制

真核生物 mRNA 的典型结构是 5'末端的 m⁷G 帽和 3'末端的 poly (A)尾, 它们在 mRNA 的翻译和稳定性中发挥了重要作用^[1], 帽依赖性扫描机制是绝大多数拥有 m⁷G 帽和 poly (A)尾的真核生物 mRNA

进行翻译起始的经典方式。

该机制由 Kozak^[3]在 1989 年首次提出, 经过不断完善和总结, 主要可以分别两大步骤: 其一, 在翻译起始因子 eIF1、eIF1A、eIF3 和 eIF5 的作用下, 三元复合物(eIF2-GTP-Met-tRNA_i^{Met})与 40S 核糖体亚基结合形成 43S 前起始复合物(preinitiation complex, PIC); eIF4E、eIF4G、eIF4B、eIF4A 和 PABP 等与 mRNA 结合并将其激活。其中, 当 eIF4E(帽结合蛋白)与 mRNA 5'末端的 m⁷G 帽结构发生绑定时, 激活过程正式开始。其二, 组装好的 43S 复合物与激活的 mRNA 相互结合, 核糖体 40S 亚基将沿着 mRNA 从 5'至 3'的方向扫描 5'UTR, 直到扫描至开放式阅读框(open reading frames, ORFs)的起始密码子 AUG 处, 60S 亚基加入后, 80S 延伸复合物形成, 延伸过程开始。其间还需要真核起始因子(eIFs)及辅助因子的协作(图 1)^[4-9], 它们可以调控 mRNA、tRNA 和核糖体亚基彼此间复杂的相互作用(表 1)。扫描机制下的翻译起始效率极高, 在一个多聚核糖体 mRNA 上, 最快每 6 s 发生一次, 在扫描的过程中也需要大量翻译起始因子的参与^[9]。

Jang 等^[10]发现, 40S 亚基识别起始密码子的方式除了“核糖体扫描”外, 可能还有“RNA looping”现象, 他们认为位于 43S 复合物和起始密码子 AUG 之间的 mRNA 片段(即 5'UTR)会发生环化, 促使二者可以不经过核糖体扫描直接结合(图 2)。“RNA looping”存在的一个有力证据是 5'UTR(untranslated region)的长度会影响翻译的效率^[10], 当 5'UTR 的长度为 70 个碱基左右时, mRNA 的翻译效率最高, 当 5'UTR 的长度逐渐偏离最佳长度时, mRNA 的翻译效率会极速下降, 但是这一最佳长度却比核糖体与 mRNA 正常结合时所覆盖的长度长很多, 因此推测 43S 亚基与起始密码子结合时二者之间的 mRNA 形成了环状结构。

5'UTR 是翻译起始的高度敏感区, 其长短、茎环结构以及主要开放式阅读框(main open reading frames, mORFs)上游 AUG(uAUG)的数量都会影响翻译起始的效率^[11]。5'UTR 的长度一般是 100~200 个核苷酸^[12, 13], 少于 20 个碱基时会发生遗漏扫描(Leaky scanning)^[14, 15]。关于为什么最少需要 20 个碱基, 最合理的解释是当 40S 核糖体亚基的 P 位点被

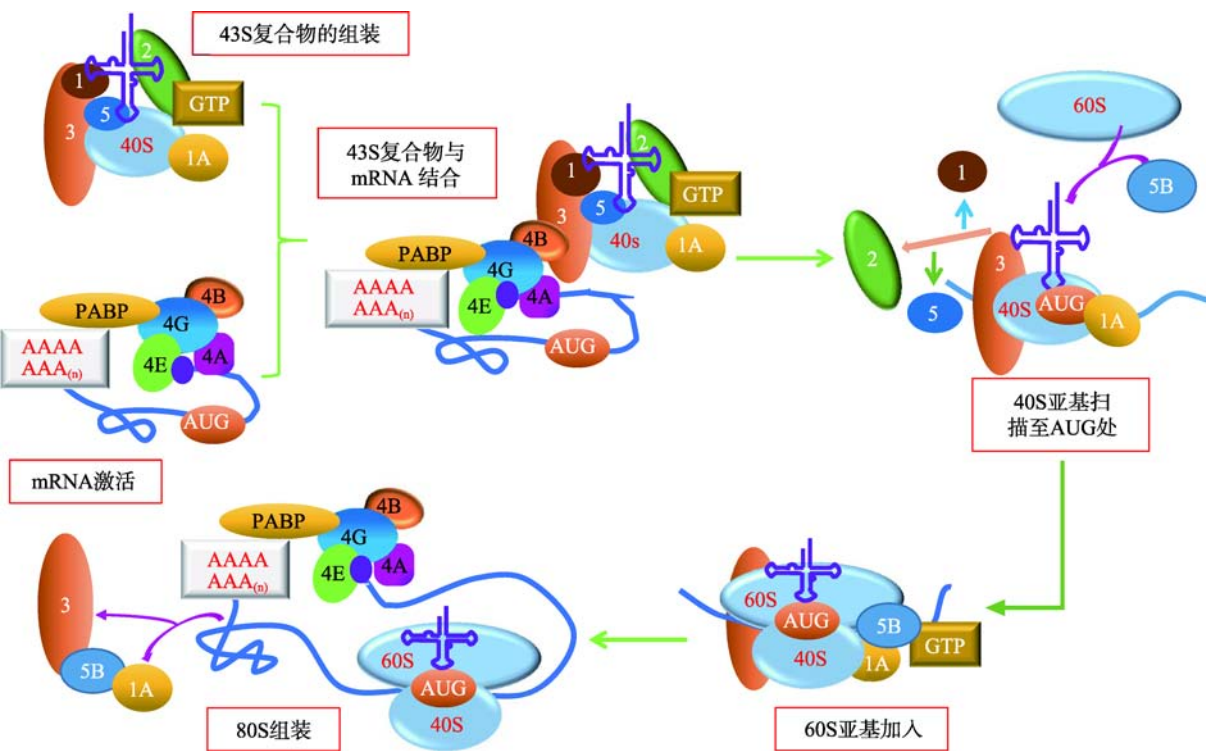


图 1 真核生物帽依赖性翻译起始机制的模型

Fig. 1 A model of cap-dependent translation initiation in eukaryotes

真核生物帽依赖性翻译起始机制分为以下几个步骤：(1) 43S 前起始复合物的组装：包括 40S 亚基、eIF1、eIF1A、eIF3、eIF2-GTP-Met-tRNA_i^{Met} 以及可能存在的 eIF5；(2) mRNA 的激活：涉及 eIF4E、eIF4G、eIF4B、eIF4A 和 PABP 等与 mRNA 5'帽的结合；(3) 43S 复合物与激活的 mRNA 区域结合；(4) 43S 复合物从 5'到 3'方向扫描 5'UTR 直至识别起始密码子 AUG，AUG 通过密码子—反密码子相互作用与 Met-tRNA_i 进行碱基互补配对；(5) 60S 亚基加入，eIF1、eIF2、eIF5 从复合物上释放；(6) eIF5B、eIF1A 和 eIF3 释放，延伸复合物 80S 亚基形成。参考文献[1]修改绘制。

表 1 真核细胞翻译起始因子

Table 1 Translation initiation factors of eukaryotic cells

种类	名称	功能
核心起始因子	eIF2	形成与 40S 亚基结合的 eIF2-GTP-Met-tRNA _i 三元复合物，从而介导 Met-tRNA _i 募集核糖体
	eIF3	与 40S 亚基、eIF1、eIF4G 和 eIF5 结合；促进 eIF2-GTP-Met-tRNA _i 与 40S 亚基的结合；与 eIF4G 作用，促进 43S 复合物与 mRNA 的连接和扫描；具有核糖体解离和抗缔合活性，阻止 40S 和 60S 亚基的连接
	eIF1	确保起始密码子选择的忠实性；促进核糖体扫描；刺激 eIF2-GTP-Met-tRNA _i 与 40S 亚基的结合；防止由 eIF5 介导的与 eIF2 结合的 GTP 提前水解释放 P _i
	eIF1A	刺激 eIF2-GTP-Met-tRNA _i 与 40S 亚基的结合；与 eIF1 共同促进核糖体扫描和起始密码子的选择
	eIF4E	与 mRNA 5' m ⁷ GpppG 帽结构结合，活性主要受 mTOR 激酶调节
	eIF4A*	DEAD-box ATP 酶、ATP 依赖性的 RNA 解旋酶
	eIF4G+	eIF4E 和 eIF4A 及其他蛋白 eIF3、PABP、Mnk1/2 激酶结合的支架；增强 eIF4A 的解旋酶活性
	eIF4F	由 eIF4E、eIF4A 和 eIF4G 形成的复合物；识别 m ⁷ GpppG 帽结构，展开 mRNA 5'近端区域并介导 43S 复合物的附着(植物 eIF4F 由 eIF4E 和 eIF4G 异二聚体组成，不包括 eIF4A，另有 eIF4F 同系物 eIF (iso) 4F，由 eIF (iso) 4E 和 eIF (iso) 4G 组成)
	eIF4B	RNA 结合蛋白，可增强 eIF4A 的解旋酶活性

续表

种类	名称	功能
核心起始因子	eIF4H	eIF4B 的同源片段, 可增强 eIF4A 的解旋酶活性
	eIF5	GTP 酶激活蛋白, 特异性诱导在识别起始密码子时与 eIF2 结合的 GTP 水解
	eIF5B	核糖体依赖性 GTP 酶, 介导核糖体亚基的介入
	eIF2B	鸟苷核苷酸交换因子, 促进 GDP 与 GTP 的互换
辅助因子	DHX29	DExH-box 结合蛋白, 直接与 40S 亚基结合, 帮助扫描具有较长高度结构化 5'UTRs 区的哺乳动物 mRNAs, 促进核糖体与其结合
	Ded1	与 DEAD-box 结合的 NTP 酶、RNA 解旋酶
	eIF6	抗缔合因子, 可与 60S 亚基结合, 从而阻止其与 40S 亚基的连接
	p97	与 eIF4G 羧基末端的 2/3 处紧密相关; 与 eIF4A 和 eIF3 结合; 以一种潜在的 mRNA 特异性方式促进翻译起始
	PABP	与 mRNA 的 3' poly (A) 尾、eIF4G、eRF3 结合; 增强 eIF4F 与帽端的结合; 并可能协助招募终止后的 40S 亚基再循环回到 mRNA 5'端

Ded1: DEAD-box 解旋酶 1; DHX29: DExH-box 蛋白 29; eIF: 真核起始因子; PABP: poly (A) 结合蛋白。*两个旁系同源物(eIF4AI 和 eIF4AII), 由不同基因编码, 功能相同, 但 eIF4AIII 无真核起始因子活性。+由不同基因编码的两个旁系同源物(eIF4GI 和 eIF4GII) 功能相似, 但对不同的 mRNA 具有选择性, eIF4GI 通常更丰富。根据文献[9]内容修改整理。

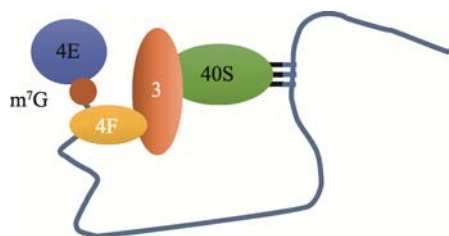


图 2 43S 前起始复合物与起始密码子间的“RNA looping”示意图

Fig. 2 “RNA looping” between the 43S precursor complex and the start codon

4E 与 mRNA m^7G 5'帽结构结合, 4F 识别 m^7GpppG 帽结构, 展开 5'近端区域并介导 43S 复合物的附着, 43S 复合物和起始密码子 AUG 之间的 mRNA 片段发生环化形成“RNA looping”。参考文献[10]修改绘制。

AUG 结合后, 起始复合物需要与 AUG 上游的 17 个碱基和下游的 11 个碱基相互作用^[16]。茎环结构对翻译起始的抑制作用取决于它在 5'UTR 的位置、稳定性及其与特定调控蛋白的结合能力^[17, 18]。当一个稳定的茎环结构出现在接近 m^7G 帽的位置时, 会对翻译起始复合物的组装造成空间干扰, 严重影响起始效率; 当茎环结构出现在 5'UTR 下游, 43S 核糖体的扫描会被抑制, 但这种抑制作用可以被与核糖体结合的解旋酶消除; 当在 AUG 的下游出现弱茎环结构时, 反而会增加翻译的忠实性, 这可能是因为弱

茎环结构会造成 40S 亚基的暂停, 为 P 位点与 AUG 的结合提供充足的时间^[19]。

2 非帽依赖性翻译机制

细胞在生理或病理胁迫环境中会迅速产生应激反应以保护自身, 蛋白质合成的重新调整是促进这种反应的主要进程之一^[20, 21]。与重新转录出新的 mRNA 经翻译得到所需蛋白质相比, 改变现有 mRNA 的翻译方式进而产生新的蛋白质的这种途径显然更为快捷。因此, 当通过帽依赖性翻译起始机制起始的蛋白质合成大幅减少时, 非帽依赖性起始机制就会成为翻译起始的主导, 启动保护细胞免受刺激的蛋白质的 mRNA 的正常翻译^[20]。Braunstein 等^[22]发现, eIF4E 结合蛋白(eIF4E-binding protein, 4E-BP)的激活可以响应缺氧和 mTORC₁ 抑制, 调控帽依赖性机制向非帽依赖性机制的转换, 从而有助于肿瘤细胞生长和血管生成, 在晚期乳腺癌细胞中翻译调控蛋白 4E-BP 和起始因子 eIF4G 会发生过表达, 继而导致 mRNA 进行非帽依赖性翻译起始。

生物体 mRNA 中 uAUG 的存在非常普遍, 约 50% 的人类 mRNA 和果蝇 mRNA 的 5'UTR 上含有 uAUGs^[23]。由于帽依赖性扫描机制从 5'UTR 的

近 m^7G 帽开始扫描, 所以一些 uAUGs 会抑制主要开放式阅读框(main open reading frames, mORFs)的翻译, 而要确保核糖体到达目的 AUG, 就会利用遗漏扫描、重新起始(reinitiation)和核糖体绕道(ribosomal shunting)等方法^[24, 25]。另外, 近期发现的具有肽编码能力的小开放式阅读框除了存在于正常 mRNA 的 5'UTR 外, 也多分布于 CDS、3'UTR 以及非编码 RNA 上。此时, sORFs 及其周围的 mORFs 的翻译会受到不同类型的非典型翻译起始机制的调控, 最终翻译出不同的蛋白质来适应外界环境的刺激^[26]。除了上述的遗漏扫描、重新起始和核糖体绕道 3 种方式之外, 当它所在的 mRNAs 没有 5'帽端时, 核糖体还可以依赖内部核糖体进入位点或非帽依赖性翻译增强子来介导翻译起始^[27]。以下将对这两种非帽依赖性的翻译起始机制进行介绍。

2.1 内部核糖体进入位点介导的翻译起始

1988 年, Jang 等^[28]通过构建双顺反子系统研究发现脑心肌炎病毒(encephalomyocarditis virus, EMCV) RNA 序列的 5'端 UTR 区域包含有一个潜在的内部核糖体进入位点(internal ribosome entry sites, IRES), 且该序列的 260~484 位核苷酸对翻译起重要作用。同年, Pelletier 等^[29]也发现脊髓灰质炎病毒(poliovirus, PV)的 5'UTR 也具有核糖体结合作用。随后, Chen 等^[30]发现将微小核糖核酸病毒(picornavirus)的 IRES 连接到一个缺少 5'末端的环状 RNA 上, 该 RNA 能够被正常翻译, 证实了 IRES 能够起始翻译。

IRES 是存在于一些 mRNA 5'UTR 的特异性结构元件, 能在 mRNA 5'末端缺失的情况下将起始前复合物招募到起始密码子上。IRES 介导的翻译起始是一些正义单链 RNA 病毒翻译起始的主要方式, 这些病毒在侵染宿主细胞后, 会通过清除起始因子 eIF4G、eIF4A、PABP、eIF3 亚基或使 eIF4E 失活等方式降低细胞内的 mRNA 招募核糖体亚基的效率, 导致宿主细胞中的蛋白质合成下调, 而病毒 mRNA 凭借自身含有的 IRES 结构高效表达。

1991 年, Macejak 和 Sarnow^[31]首次在真核细胞中编码免疫球蛋白重链结合蛋白(Bip)的 mRNA 上发现了 IRES。但关于真核细胞中是否也存在 IRES 介导的翻译起始机制的说法一直没有定论。目前来看,

认为真核生物中存在该机制的观点处于上风。最初实验发现, 当真核细胞处于内质网应激^[32]、缺氧^[33]、缺糖损伤^[34]、有丝分裂^[35]和细胞分化^[36]等环境中时, 蛋白质的合成会受到全面抑制, 但在多项研究中均发现那些 5'UTR 高度结构化的 mRNA 仍然可以继续翻译。因此, 有人据此推测是因为这些 mRNA 上的 IRES 发挥了作用, 不过反对者则认为, 上述研究中的检测手段受到了现有生物学技术的限制, 而且均是在实验室内比较理想的条件下完成的, 因此在自然条件下实验可能无法重复^[37]。另外一项独立的实验显示, 丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)、蟋蟀麻痹病毒(cricket paralysis virus, CrPV)、艾滋病病毒(human immunodeficiency virus, HIV-1)和脑心肌炎病毒 EMCV 中的 IRESs 及一些细胞中的 IRESs, 都可与 40S 亚基结合, 而且 40S 亚基的头部还需要与核糖体蛋白 eS25 结合以保证翻译活性, 说明 IRESs 和 40S 亚基之间存在一种特别普遍的相互作用^[38]。近期, Weingarten 等^[39]通过高通量系统分类方法发现, 在随机选择的人类 mRNA 的 5'UTR 中, 约 10%都含有 IRES 元件。这些潜在的 IRES 元件可以分为两类: (1)具有整体 RNA 折叠结构, 如二级结构(图 3 A); (2)具有招募核糖体的短序列元件, 比如能与 18S rRNA 互补配对的序列结构(图 3 B)。此外, 细胞中 IRES 元件的活性有望在 *Hox* mRNAs 的翻译调控中得到验证^[39], *Hox* mRNAs 是一种复合型 RNA 调节子, 在其折叠的长 5'UTR 中有一段能阻碍帽依赖性蛋白合成的抑制序列, 研究者普遍认为, 在时空条件受到限制时, 5'UTR 中的 IRES 能够通过核糖体上的 eL38 招募特定的核糖体而不依赖于 5'帽结构(图 3 C)。

大多数 IRES 位于 mRNAs 的 5'UTR, 但也有一些位于编码序列(coding sequence, CDS)^[40, 41]。关于哪些 5'UTR 更容易包含 IRES, 目前尚无明确的划分依据。有实验证明 5'UTR 的长度、二级结构、上游 AUGs 的数量、GC 含量以及一种 Y 形结构都不能作为分类依据^[42, 43]。IRESs 在与 40S 亚基相互作用时, 对典型翻译起始因子的需求降低, 但需要特定的 IRESs 反式作用因子(IRES trans-acting factors, ITAFs)的辅助, 这一点在病毒和真核细胞中非常相似(图 4)^[44, 45]。许多 ITAFs 都是核不均一核糖蛋白(hnRNP A1、

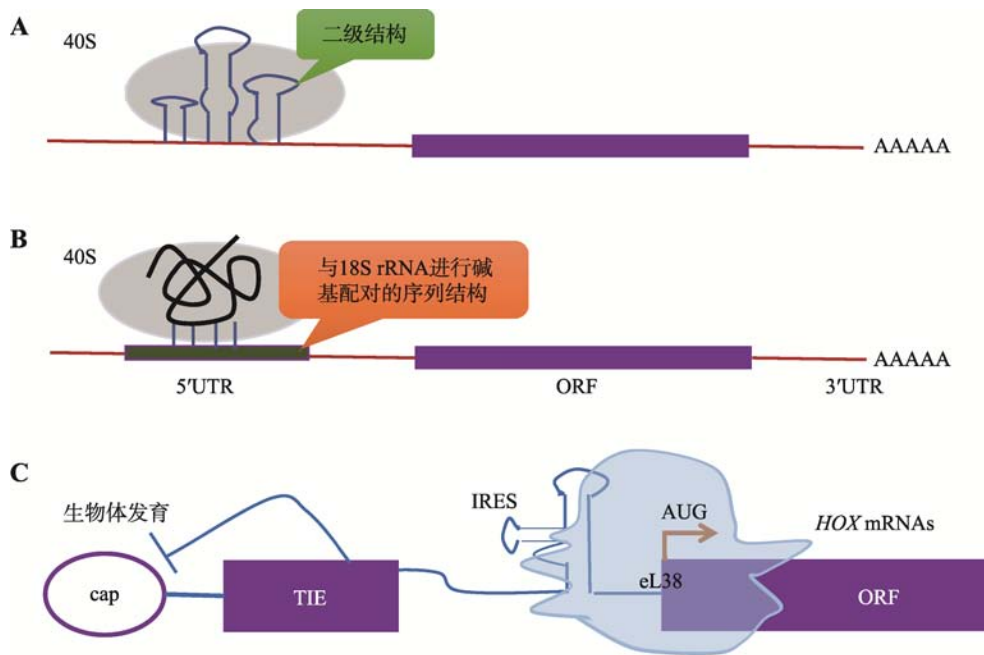


图 3 真核细胞 mRNAs 中 IRES 的预测分类与作用机制

Fig. 3 Predictive classification and the mechanism of IRES in eukaryotic mRNAs

IRESs 与 40S 亚基结合促进翻译的起始, IRES 元件分为复杂的整体 RNA 折叠和短序列元件两类。A: IRESs 具有整体 RNA 折叠结构, 如二级结构; B: 具有招募核糖体的短序列元件, 如能与 18S rRNA 互补配对的序列结构; C: 复合型 RNA 调节子 *HOX* mRNAs 的 5'UTR 中的 IRES 通过核糖体上的 eL38 招募特定的核糖体, 使其以一种非帽依赖性的方式完成翻译。参考文献[39]修改绘制。

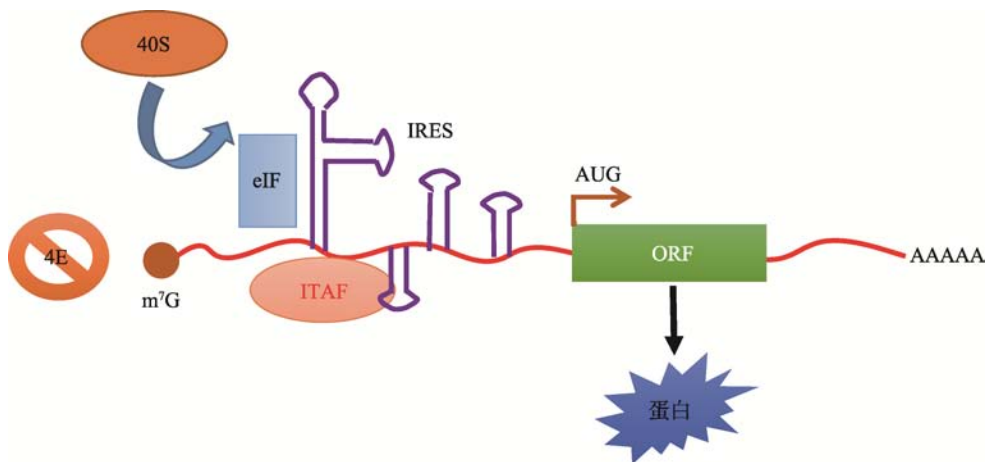


图 4 内部核糖体进入位点(IRES)依赖性翻译起始的模型

Fig. 4 A model of internal ribosome entry site (IRES)-dependent translation initiation

IRESs 在与 40S 亚基相互作用时, 需要 IRESs 反式作用因子 ITAFs 的辅助, 用茎环结构表示的 mRNA 二级结构直接将 40S 核糖体亚基招募到开放式阅读框(ORF)的起始密码子(AUG)上或其附近, 该过程中, 一些典型的起始因子(eIFs)和 IRES 反式作用因子(ITAF)起到直接或间接的帮助。考文献[2]修改绘制。

C1/C2、I、E1/E2、K 和 L), 它们可以在细胞核和细胞质之间穿梭。一些 ITAFs, 比如 hnRNP A1、La、PTB、Unr 和 ITAF45 会响应细胞代谢中的微小变化, 并影响 IRES 的活性^[46, 47]。由于几乎在所有编码蛋

白质的 mRNA 中都有 IRES 出现, 为了解哪类蛋白更可能由该机制翻译得到, Lacerda 等^[2]按照蛋白的功能进行了划分, 发现含 IRES 的 mRNA 大多编码转录因子、转运蛋白、受体或通道以及生长因子;

其次,与细胞凋亡相关的蛋白、热休克蛋白、肿瘤抑制因子、细胞骨架相关蛋白、癌症相关蛋白、RNA 结合蛋白、细胞周期蛋白和翻译因子等其他几类蛋白质也都通过 IRES 依赖的翻译起始机制合成。这些蛋白质在合成时都需要进行微调节,因为它们在某程度上与细胞至关重要的适应过程和生存过程存在联系。

2.2 非帽依赖性翻译增强子介导的翻译起始

Terenin 等^[48]通过实验发现,当将一个病毒 mRNA 中 IRES 上的 eIF4G 结合序列插入到 mRNAs 的 5'UTR 后,发现该 mRNA 在哺乳动物细胞中可以不依赖帽结构通过典型的扫描机制大量翻译。在双顺反子实验中,第 2 个顺反子不能正常起始翻译,说明此类 mRNA 的翻译需要 5'末端与 43S 前起始复合物的共同结合,这也证实了以上机制不同于 IRES 介导机制。但是这种机制虽然不依赖于帽端结构,却仍需要 5'末端和非帽依赖性翻译增强子(cap-independent translation enhancer, CITE)的参与^[48]。关于 CITE 能增强翻译起始,有两项证据:(1) CITE 能与 eIF4F 复合物(植物中为 eIFiso4F)相互作用,或直接与核糖体亚基结合^[49]; (2)病毒 RNA 的 CITE 与 5'端序列频繁发生互补,可以帮助转移由 CITE 招募的翻译起始因子^[50]。

CITE 分为 5'CITE 和 3'CITE 两种,分别位于 5'UTR 和 3'UTR。5'CITE 可能与扫描机制中的起始因子结合,但结合能力比较弱,目前研究的比较多的是 3'CITE^[51~54]。





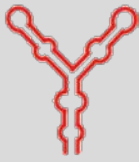
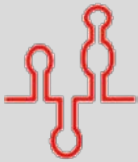
3'CITE 最早在卫星烟草坏死病毒(satellite tobacco

necrosis virus, STNV)的翻译增强结构域(translation enhancer domain, TED)中被发现。STNV 由一条 1239 bp 的亚病毒 RNA 和外壳蛋白组成,其 mRNA 3'UTR 区的 627~737 bp 序列在功能上可以代替 5'帽在翻译起始中发挥作用^[54]。绝大多数不含 5'帽和 3'poly (A)尾的植物病毒在 3'UTR 区至少有一个 CITE,可以与翻译起始因子(eIF4E、eIF4G 和 eIF4F)及核糖体结合来增强翻译起始。根据碱基序列和二级结构的不同,目前已发现的 3'CITE 可被分为 6 大类,分别是 BTE、PTE、TED、I-shaped、Y-shaped 和 T-shaped (表 2)^[55, 56]。Ogawa 等^[57]将 6 类不同病毒的最优 3'CITE 和对应的 5'UTR 分别添加到小麦胚芽提取物 mRNA 的 3'UTR 区,发现选自烟草坏死卫星病毒的 120 nt 5'UTR 和 131 nt 3'CITE 增强翻译起始的功能最佳。

在翻译起始过程中,3'CITE 可以与 5'UTR 通过 RNA-RNA 碱基互补配对进行结合,同时与相应的 eIF 结合,帮助招募 43S 核糖体亚基进入 mRNA 5'端,进而 40S 亚基对 5'UTR 进行扫描直至开放式阅读框的起始密码子 AUG 处,待 60S 核糖体亚基加入形成 80S 延伸复合物后继续延伸^[55](图 5)。有证据显示,一些 3'CITE 可以发生互换,自然条件下的重组允许模块化的 CITE 基序进行互换,这可以帮助病毒克服遗传学抗性,拓宽宿主范围^[50]。

真核生物的 mRNA 都拥有帽子结构,在正常情况下不需要通过 IRESs 来进行翻译起始,但是很有可能需要 CITE 的辅助^[58]。人类 APAF-1 (apoptotic protease activating factor 1) mRNA 在帽结合因子 eIF4E 受到抑制时就通过这种机制起始翻译,也就是

表 2 6 类典型 3'CITE 的特征
Table 2 Features of six typical types of 3'CITE

名称	BTE	PTE	TED	I-shaped	Y-shaped	T-shaped
代表病毒	大麦黄矮病毒	黍花叶坏死病毒	烟草坏死卫星病毒	甜瓜坏死斑病毒	番茄丛矮病毒	芜菁黄花叶病毒
二级结构						
配体	eIF4G	eIF4E	eIF4G/E	核糖体 60S 亚基	—	eIF4E/G

BTE : BYDV-like translation element ; PTE : PMV-like translation element ; TED : translation enhancer domain.

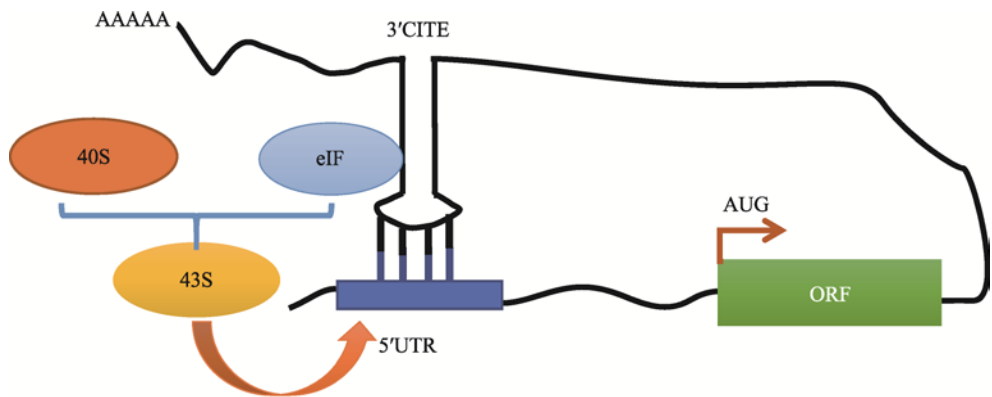


图 5 3'CITE 介导的翻译起始模型

Fig. 5 A model of translation initiation mediated by 3'CITE

非帽依赖性翻译增强子 3'CITE 与 5'UTR 通过 RNA-RNA 碱基互补配对进行结合,同时与 eIF 结合,招募 43S 核糖体亚基进入 mRNA 5' 端,进而 40S 亚基对 5'UTR 进行扫描直至 ORF 的起始密码子 AUG 处。“—”表示该病毒的相应配体尚未被发现。

说 APAF-1 的 5'UTR 可以不依赖 m⁷G 帽端、但依赖 5' 末端进行扫描^[59]。

3 翻译起始方式的区分

帽依赖性扫描、内部起始(IRES 介导)和 5'末端 依赖性起始(CITE 介导)3 种翻译起始机制在很多方面存在不同点,特别是与 5'帽相关的一些特征(表 3)。此外, IRES 和 CITE 的共同点是它们都会与翻译起始过程中的一些元件相结合,然后通过非帽依赖性方式来促进翻译起始;不同点是 IRES 介导的翻译起始完全不依赖 m⁷G 帽结构和 5'末端,而 CITE 介导的翻译起始可以不依赖 m⁷G 帽结构,但是需要有独立的 5'末端^[60]。所以,区分 IRES 介导和 CITE 介导

的关键在于确认是否依赖 5'末端。因此可以通过阻止 5'端依赖性翻译起始来区分 IRES 介导和 CITE 介导的翻译。因此,有 3 种方法可以通过阻止 5'端依赖性翻译起始来区分 IRES 介导和 CITE 介导的翻译:(1)将 mRNA 环化,5'端将不复存在,这种方法最彻底;(2)利用双顺反子 mRNA,当两个顺反子间缺少翻译耦合,不能同时翻译时(比如再起始),则必须由非 5'端依赖性的翻译机制进行翻译;(3)在 5'端加入一个稳定的茎环结构以阻止核糖体招募,从而消除 5'端的作用^[60]。其中采用较多的是构建双顺反子^[58, 61~63]。

关于如何有效辨别 mRNA 是通过哪种机制进行翻译的, Terenin 等^[60]认为,首先将所要研究的 mRNA 的 5'UTR 克隆到双顺反子表达载体上;然后

表 3 3 种翻译起始的特征

Table 3 Manifestations of the three mechanisms of translation initiation

类别	帽依赖性	IRES	CITE
eIF4G 解离	敏感	不敏感 ^a	不敏感 ^a
mTORC ₁ 抑制剂	敏感	不敏感	不敏感 ^a
4E-BP 或 m ⁷ GTP	敏感	不敏感 ^a	不敏感
双顺反子活性	无	有	无
帽依赖程度	强或一致	弱 ^b	弱
含帽 mRNA 活性	弱或一致	弱或一致或强	强或一致

IRES 和 CITE 的区别仅在于它们在双顺反子 mRNA 中的活性不同。此外,还存在一些特殊情况,a:表示甲型肝炎病毒(hepatitis A virus, HAV)的 IRES 需要与 eIF4G 结合,而许多植物 CITEs 需要与 eIF4E 结合,所以它们也会对能够影响 m⁷G-eIF4E-eIF4G 复合形成的因素比较敏感;b:表示丙型肝炎病毒的 IRES 相对较弱,在单顺反子中其 mRNA 的翻译受到了 5'帽的诱导,这可能是由于借助 IRES 进行的核糖体扫描激活了经典的帽依赖性翻译起始机制。根据文献^[60]内容修改整理。

进行双顺反子表达、无启动子质粒表达以及 RNAi (第一个顺反子沉默) 表达试验, 初步判断翻译起始类型; 最后在 mRNA 水平上构建不同的顺反子, 根据帽依赖性的强弱和第二个顺反子的表达情况确认具体的翻译起始方式(图 6)。以 DNA 为基础的试验都不可避免的要进行以 RNA 为基础的试验, 所以可以直接从 RNA 试验开始。

4 结语与展望

在一个哺乳动物细胞中, 同一时间约有 5000 条不同的 mRNAs 在接近核糖体并进行翻译。起始过程是翻译的开端, 也是翻译调控的关键。最早发现的、最经典的翻译起始方式是 5' 帽依赖性扫描机制, 但是当细胞受到胁迫时, 这种机制的作用将会受到大幅度的抑制。此时, 非帽依赖性机制将成为主要的翻译起始方式, 从而保证细胞在逆境中的生存和

恢复。其中研究得最多的是 IRES 介导的翻译起始, 但到目前为止, 真核生物 mRNA 中的 IRES 是否能介导翻译起始仍没有确凿证据, *Hox* mRNA 在人为控制的条件下可以由 IRES 介导翻译, 但是在自然条件下是否确实如此, 还需要有进一步的实验证据。

当然, 还有许多其他的非经典翻译起始机制逐渐被发现。2008 年, Elfakess 等^[64]在用生物信息学工具搜索启动子邻近区域的调控元件时, 发现了一种 SAASATGGCGGC (S 为 C 或 G) 序列, 命名为短 5'UTRs 翻译起始因子(translation initiator of short 5'UTRs, TISU)。TISU 存在于 4.5% 的哺乳动物蛋白质编码基因中, 特别是缺少 TATA-box 启动子的基因, 并严格定位于转录起始位点(transcription start site, TSS)下游+5 至+30 处。最初发现它是转录过程中的重要元件, 活性受 YY1 转录因子的介导。此外, TISU 序列中有一个恒定的 ATG, 实验证明它也能在翻译过程中发挥作用, 在 64% 含有 TISU 序列的基

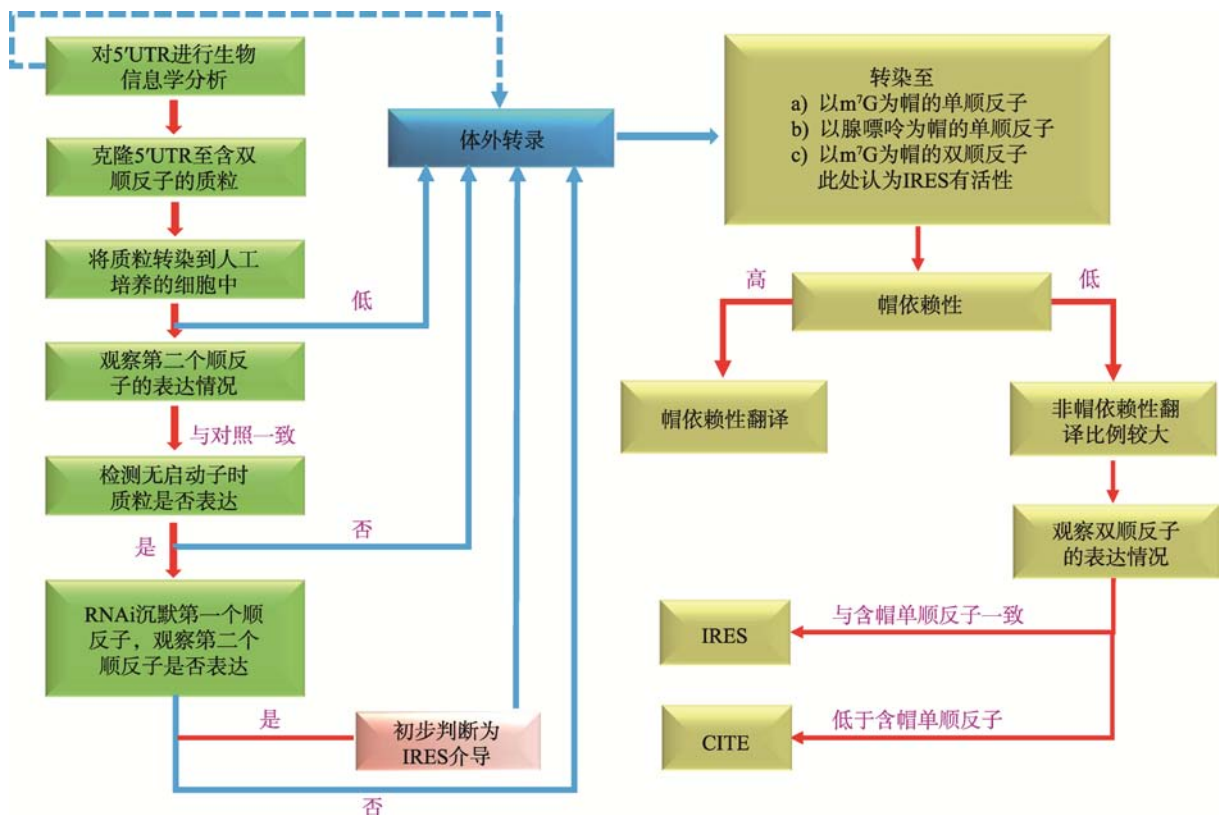


图 6 区分翻译起始方式的方法

Fig. 6 A generalized workflow of how to address internal initiation

通过分子试验分析 mRNA 的翻译机制, 分别构建相应的双顺反子表达载体; 进行双顺反子表达、无启动子质粒表达以及 RNAi 表达, 初步判断翻译起始类型; 最后在 mRNA 水平上明确翻译起始方式。参考文献[60]修改绘制。

因中,其中的 AUG 被识别为起始密码子。重要的是这些基因转录得到的 mRNA 的 5'UTR 极短,平均长度只有 12 个碱基。后来 Elfakess 等^[65, 66]继续证实了 TISU 介导的翻译起始实际上是一种依赖 m^7G 帽结构但无需扫描的机制。43S 前起始复合物被招募后,可以不经核糖体的扫描,也没有“RNA looping”的帮助,而是直接与起始密码子 TISU 序列中的 AUG 进行结合,继而起始翻译过程(图 7)。

此外,许多真核细胞 mRNAs 都有被 N^6 -甲基腺苷(N^6 -methyadenosine, m^6A)残基修饰的现象,这是

一种普遍的碱基修饰方式,在 3'UTR、蛋白质编码区、5'UTR 处均存在。近期有证据显示,5'UTR 上的 m^6A 可以代替 5'帽起到促进翻译起始的作用,它们可以直接与 eIF3 和 43S 核糖体亚基结合以起始翻译,而且不需要帽结合蛋白 eIF4E 的协助,该位点也被称为是“ m^6A 介导的核糖体结合位点(m^6A -induced ribosome engagement sites, MIREs)”,当腺苷甲基化被抑制时,5'UTR 上含有 m^6A 的 mRNA 的翻译会被选择性抑制。而且,在热激反应中, Hsp70 mRNA 会通过提高自身的 m^6A 水平来调控其非帽依赖性翻

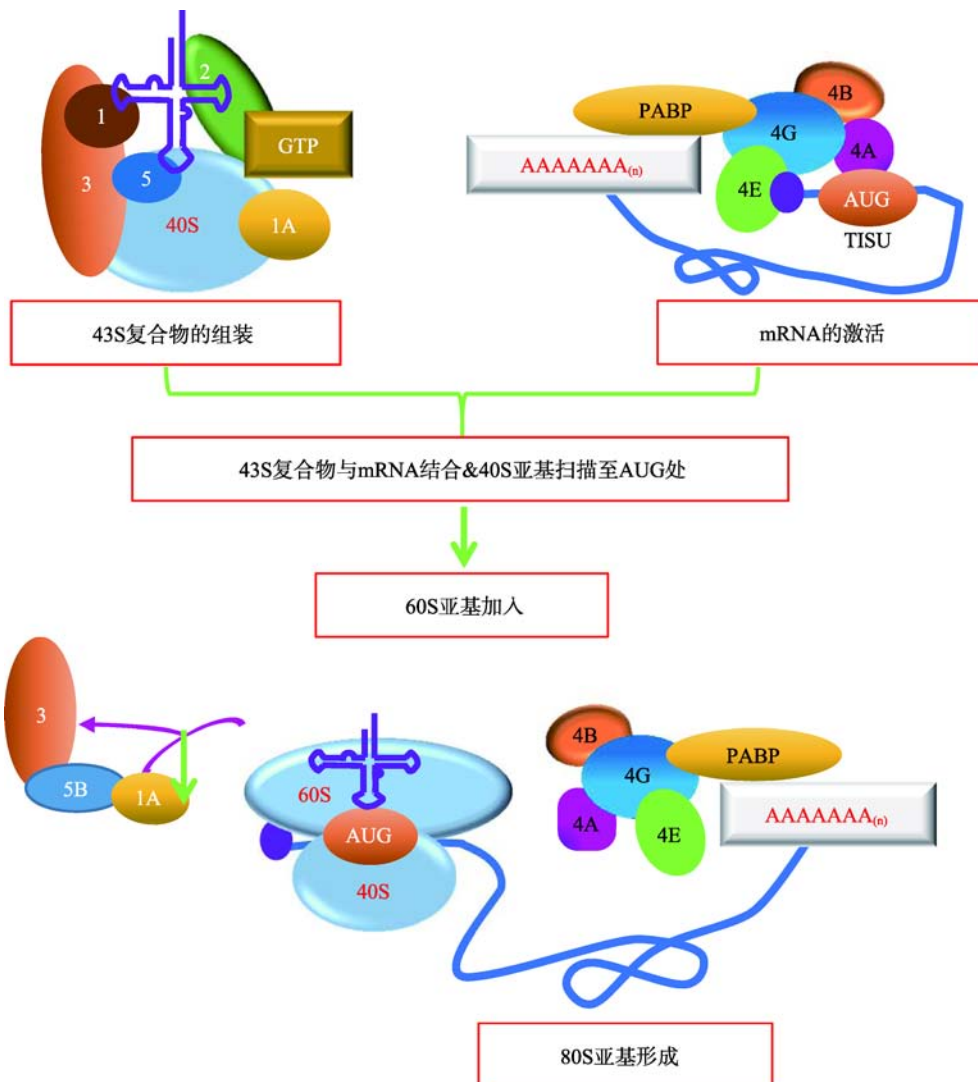


图 7 含 TISU 元件 mRNA 的帽依赖性不扫描翻译起始机制

Fig. 7 A scheme describing cap-dependent and scanning-independent translation initiation of mRNAs bearing the TISU element

TISU 序列中的 AUG 被识别为起始密码子,由于 5'UTR 极短,所以 AUG 的位置就在 m^7G 帽端附近,43S 前起始复合物不经核糖体的扫描,直接与 TISU 序列中的 AUG 进行结合起始翻译。参考文献[1]修改绘制。

译机制。但是由 m^6A 介导的翻译起始仍然需要核糖体亚基对 5'UTR 进行扫描, 而且 m^6A 是如何被识别并促进非帽依赖性翻译起始的, 仍然需要深入研究^[67, 68]。

综上所述, 针对于真核生物 mRNA 翻译起始机制的研究在未来将集中在两个方面: 一是深入探究已发现的翻译起始机制的分子机理及其调控方式, 二是挖掘更多的翻译起始机制。如果能够揭示生物体在不同环境条件下, 特别是在响应环境胁迫或病理状态时, 不同的翻译方式是如何交替发挥作用的, 将对深入认识基因在翻译水平上的表达调控有重要意义。

参考文献(References):

- [1] Haimov O, Sinvani H, Dikstein R. Cap-dependent, scanning-free translation initiation mechanisms. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1849(11): 1313–1318. [DOI]
- [2] Lacerda R, Menezes J, Romão L. More than just scanning: the importance of cap-independent mRNA translation initiation for cellular stress response and cancer. *Cell Mol Life Sci*, 2017, 74(9): 1659–1680. [DOI]
- [3] Kozak M. The scanning model for translation: an update. *J Cell Biol*, 1989, 108(2): 229–241. [DOI]
- [4] Andreev DE, Dmitriev SE, Loughran G, Terenin IM, Baranov PV, Shatsky IN. Translation control of mRNAs encoding mammalian translation initiation factors. *Gene*, 2018, 651: 174–182. [DOI]
- [5] Hershey JW. Regulation of protein synthesis and the role of eIF3 in cancer. *Braz J Med Biol Res*, 2010, 43(10): 920–930. [DOI]
- [6] Kashiwagi K, Takahashi M, Nishimoto M, Hiyama TB, Higo T, Umehara T, Sakamoto K, Ito T, Yokoyama S. Crystal structure of eukaryotic translation initiation factor 2B. *Nature*, 2016, 531(7592): 122–125. [DOI]
- [7] Wek RC, Jiang HY, Anthony TG. Coping with stress: eIF2 kinases and translational control. *Biochem Soc Trans*, 2006, 34(Pt 1): 7–11. [DOI]
- [8] Kamenska A, Simpson C, Standart N. eIF4E-binding proteins: new factors, new locations, new roles. *Biochem Soc T*, 2014, 42(4): 1238–1245. [DOI]
- [9] Jackson RJ, Hellen CU, Pestova TV. The mechanism of eukaryotic translation initiation and principles of its regulation. *Nat Rev Mol Cell Bio*, 2010, 11(2): 113–127. [DOI]
- [10] Jang SK, Paek KY. Cap-dependent translation is mediated by 'RNA looping' rather than 'ribosome scanning'. *RNA Biol*, 2015, 13(1): 1–5. [DOI]
- [11] Miras M, Miller WA, Truniger V, Aranda MA. Non-canonical translation in plant RNA viruses. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 494. [DOI]
- [12] Moshonov S, Elfakess R, Golan-Mashiach M, Sinvani H, Dikstein R. Links between core promoter and basic gene features influence gene expression. *BMC Genomics*, 2008, 9(1): 92–102. [DOI]
- [13] Pesole G, Mignone F, Gissi C, Licciulli F, Liuni S. Structural and functional features of eukaryotic mRNA untranslated regions. *Gene*, 2001, 276(1): 73–81. [DOI]
- [14] Kozak M. A short leader sequence impairs the fidelity of initiation by eukaryotic ribosomes. *Gene Expr*, 1991, 1(2): 111–115. [DOI]
- [15] Kozak M. Effects of long 5' leader sequences on initiation by eukaryotic ribosomes *in vitro*. *Gene Expr*, 1991, 1(2): 117–125. [DOI]
- [16] Pisarev AV, Kolupaeva VG, Yusupov MM, Hellen CU, Pestova TV. Ribosomal position and contacts of mRNA in eukaryotic translation initiation complexes. *EMBO J*, 2008, 27(11): 1609–1621. [DOI]
- [17] Kozak M. Pushing the limits of the scanning mechanism for initiation of translation. *Gene*, 2002, 299(2): 1–34. [DOI]
- [18] Guo S, Lu H. Conjunction of G-quadruplex and stem-loop in the 5' untranslated region of mouse hepatocyte nuclear factor 4- α 1 mediates strong inhibition of protein expression. *Mol Cell Biochem*, 2018, <https://doi.org/10.1007/s11010-018-3274-3>. [DOI]
- [19] Kozak M. Downstream secondary structure facilitates recognition of initiator codons by eukaryotic ribosomes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87(21): 8301–8305. [DOI]
- [20] Mokrejš M, Mašek T, Vopálenský V, Hlubuček P, Delbos P, Pospíšek M. IRE site—a tool for the examination of viral and cellular internal ribosome entry sites. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(Database issue): D131–D136. [DOI]
- [21] Spriggs KA, Bushell M, Willis AE. Translational regulation of gene expression during conditions of cell stress. *Mol Cell*, 2010, 40(2): 228–237. [DOI]
- [22] Braunstein S, Karpisheva K, Pola C, Goldberg J, Hochman T, Yee H, Cangiarella J, Arju R, Formenti SC, Schneider RJ. A Hypoxia-controlled cap-dependent to cap-independent translation switch in breast cancer. *Mol Cell*, 2007, 28(3): 501–512. [DOI]

- [23] Medenbach J, Seiler M, Hentze MW. Translational control via protein regulated upstream open reading frames. *Cell*, 2011, 145(6): 902–913. [DOI]
- [24] Meijer HA, Thomas AA. Control of eukaryotic protein synthesis by upstream open reading frames in the 5'-untranslated region of an mRNA. *Biochem J*, 2002, 367(Pt 1): 1–11. [DOI]
- [25] Ryabova LA, Pooggin MM, Hohn T. Viral strategies of translation initiation: ribosomal shunt and reinitiation. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol*, 2002, 72: 1–39. [DOI]
- [26] 陈宜亭, 张凤, 赵佳, 于家峰, 沙玉杰, 王吉华. 原核生物基因组编码 sORFs 分布及功能特征. *生物化学与生物物理进展*, 2018, 45(1): 59–67.
Chen YT, Zhang F, Zhao J, Yu JF, Sha YJ, Wang JH. Sequence and function analysis of peptide coding small open reading frames in prokaryotic genomes. *Prog Biochem Biophys*, 2018, 45(1): 59–67. [DOI]
- [27] Hellens R, Brown C, Chisnall M, Waterhouse P, Macknight R. The emerging world of small ORFs. *Trends Plant Sci*, 2016, 21(4): 317–328. [DOI]
- [28] Jang SK, Kräusslich HG, Nicklin MJ, Duke G, Palmenberg A, Wimmer E. A segment of the 5' nontranslated region of encephalomyocarditis virus RNA directs internal entry of ribosomes during *in vitro* translation. *J Virol*, 1988, 62(8): 2636–2643. [DOI]
- [29] Pelletier J, Sonenberg N. Internal initiation of translation of eukaryotic mRNA directed by a sequence derived from poliovirus RNA. *Nature*, 1988, 334(6180): 320–325. [DOI]
- [30] 赵晔, 张靖溥. RNA 病毒内部核糖体进入位点(IRES)研究进展. 抗感染药物与耐药菌防控专题研讨会, 2011. [DOI]
- [31] Macejak DG, Sarnow P. Internal initiation of translation mediated by the 5' leader of a cellular mRNA. *Nature*, 1991, 353(6339): 90–94. [DOI]
- [32] Shi Y, Yang Y, Hoang B, Bardeleben C, Holmes B, Gera J, Lichtenstein A. Therapeutic potential of targeting IRES-dependent c-myc translation in multiple myeloma cells during ER stress. *Oncogene*, 2016, 35(8): 1015–1024. [DOI]
- [33] Philippe C, Dubrac A, Quelen C, Desquesnes A, Van DBL, Segura C, Filleron T, Pyronnet S, Prats H, Brousset P, Touriol C. PERK mediates the IRES-dependent translational activation of mRNAs encoding angiogenic growth factors after ischemic stress. *Sci Signal*, 2016, 9(426): ra44. [DOI]
- [34] Khan D, Katoch A, Das A, Sharathchandra A, Lal R, Roy P, Das S, Chattopadhyay S, Das S. Reversible induction of translational isoforms of p53 in glucose deprivation. *Cell Death Differ*, 2015, 22(7): 1203–1218. [DOI]
- [35] Liberman N, Gandin V, Svitkin YV, David M, Virgili G, Jaramillo M, Holcik M, Nagar B, Kimchi A, Sonenberg N. DAP5 associates with eIF2 β and eIF4AI to promote Internal Ribosome Entry Site driven translation. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(7): 3764–3775. [DOI]
- [36] Vaklavas C, Grizzle WE, Choi H, Meng Z, Zinn K, Shrestha K, Blume S. IRES inhibition induces terminal differentiation and synchronized death in triple-negative breast cancer and glioblastoma cells. *Tumour Biol*, 2016, 37(10): 13247–13264. [DOI]
- [37] Yamamoto H, Unbehaun A, Spahn CMT. Ribosomal chamber music: Toward an Understanding of IRES Mechanisms. *Trends Biochem Sci*, 2017, 42(8): 655–668. [DOI]
- [38] Carvajal F, Vallejos M, Walters B, Contreras N, Hertz MI, Olivares E, Cáceres CJ, Pino K, Letelier A, Thompson SR, López-Lastra M. Structural domains within the HIV-1 mRNA and the ribosomal protein S25 influence cap-independent translation initiation. *FEBS J*, 2016, 283(13): 2508–2527. [DOI]
- [39] Weingarten-Gabbay S, Elias-Kirma S, Nir R, Gritsenko A, Stern-Ginossar N, Yakhini Z, Weinberger A, Segal E. Systematic discovery of cap-independent translation sequences in human and viral genomes. *Science*, 2016, 351(6270): aad4939. [DOI]
- [40] Le HTT, Sorrell AM, Siddle K. Two isoforms of the mRNA binding protein IGF2BP2 are generated by alternative translational initiation. *PLoS One*, 2012, 7(3): e33140. [DOI]
- [41] Weingarten-Gabbay S, Khan D, Liberman N, Yoffe Y, Bialik S, Das S, Oren M, Kimchi A. The translation initiation factor DAP5 promotes IRES-driven translation of p53 mRNA. *Oncogene*, 2014, 33(5): 611–618. [DOI]
- [42] Baird SD, Turcotte M, Korneluk RG, Holcik M. Searching for IRES. *RNA*, 2006, 12(10): 1755–1785. [DOI]
- [43] Le SY, Maizel JV Jr. A common RNA structural motif involved in the internal initiation of translation of cellular mRNAs. *Nucleic Acids Res*, 1997, 25(2): 362–369. [DOI]
- [44] Komar AA, Hatzoglou M. Cellular IRES-mediated translation: the war of ITAFs in pathophysiological states. *Cell Cycle*, 2011, 10(2): 229–240. [DOI]
- [45] Komar AA, Hatzoglou M. Internal ribosome entry sites in cellular mRNAs: mystery of their existence. *J Biol Chem*, 2005, 280(25): 23425–23428. [DOI]

- [46] Gao G, Dhar S, Bedford MT. PRMT5 regulates IRES-dependent translation via methylation of hnRNP A1. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(8): 4359–4369. [DOI]
- [47] Lewis SM, Holcik M. For IRES trans-acting factors, it is all about location. *Oncogene*, 2008, 27(8): 1033–1035. [DOI]
- [48] Terenin IM, Andreev DE, Dmitriev SE, Shatsky IN. A novel mechanism of eukaryotic translation initiation that is neither m7G-cap-, nor IRES-dependent. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(3): 1807–1816. [DOI]
- [49] Sharma SD, Kraft JJ, Miller WA, Goss DJ. Recruitment of the 40S ribosome subunit to the 3'-untranslated region (UTR) of a viral mRNA, via the eIF4 complex, facilitates cap-independent translation. *J Biol Chem*, 2015, 290(18): 11268–11281. [DOI]
- [50] Simon AE, Miller WA. 3' cap-independent translation enhancers of plant viruses. *Annu Rev Microbiol*, 2013, 67: 21–42. [DOI]
- [51] Terenin IM, Andreev DE, Dmitriev SE, Shatsky IN. A novel mechanism of eukaryotic translation initiation that is neither m7G-cap-, nor IRES-dependent. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(3): 1807–1816. [DOI]
- [52] Rakotondrafara AM, Polacek C, Harris E, Miller WA. Oscillating kissing stem-loop interactions mediate 5' scanning-dependent translation by a viral 3'-cap-independent translation element. *RNA*, 2006, 12(10): 1893–1906. [DOI]
- [53] Simon AE. 3'UTRs of carmoviruses. *Virus Res*, 2015, 206: 27–36. [DOI]
- [54] Blanco-Pérez M, Pérez-Cañamás M, Ruiz L, Hernández C. Efficient translation of pelargonium line pattern virus RNAs relies on a TED-like 3'-translational enhancer that communicates with the corresponding 5'-region through a long-distance RNA-RNA interaction. *PLoS One*, 2016, 11(4): e0152593. [DOI]
- [55] Nicholson BL, White KA. 3' Cap-independent translation enhancers of positive-strand RNA plant viruses. *Curr Opin Virol*, 2011, 1(5): 373–380. [DOI]
- [56] Miller WA, Wang Z, Treder K. The amazing diversity of cap-independent translation elements in the 3'-untranslated regions of plant viral RNAs. *Biochem Soc Trans*, 2007, 35(Pt 6): 1629–1633. [DOI]
- [57] Ogawa A, Tabuchi J, Doi Y. Identification of short untranslated regions that sufficiently enhance translation in high-quality wheat germ extract. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, 24(16): 3724–3727. [DOI]
- [58] Shatsky IN, Dmitriev SE, Terenin IM, Andreev DE. Cap- and IRES-independent scanning mechanism of translation initiation as an alternative to the concept of cellular IRESs. *Mol Cells*, 2010, 30(4): 285–293. [DOI]
- [59] Andreev DE, Dmitriev SE, Zinovkin R, Terenin IM, Shatsky IN. The 5'untranslated region of Apaf -1 mRNA directs translation under apoptosis conditions via a 5' end-dependent scanning mechanism. *FEBS Lett*, 2012, 586(23): 4139–4143. [DOI]
- [60] Terenin IM, Smirnova VV, Andreev DE, Dmitriev SE, Shatsky IN. A researcher's guide to the galaxy of IRESs. *Cell Mol Life Sci*, 2017, 74(8): 1431–1455. [DOI]
- [61] Thompson SR. So you want to know if your message has an IRES? *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2012, 3(5): 697–705. [DOI]
- [62] Gilbert WV. Alternative ways to think about cellular internal ribosome entry. *J Biol Chem*, 2010, 285(38): 29033–29038. [DOI]
- [63] Jackson RJ. The current status of vertebrate cellular mRNA IRESs. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, 5(2): a011569. [DOI]
- [64] Elfakess R, Dikstein R. A translation initiation element specific to mRNAs with very short 5'UTR that also regulates transcription. *PLoS One*, 2008, 3(8): e3094. [DOI]
- [65] Elfakess R, Sinvani H, Haimov O, Svitkin Y, Sonenberg N, Dikstein R. Unique translation initiation of mRNAs-containing TISU element. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(17): 7598–7609. [DOI]
- [66] Dikstein R. Transcription and translation in a package deal: the TISU paradigm. *Gene*, 2012, 491(1): 1–4. [DOI]
- [67] Zhou J, Wan J, Shu XE, Mao Y, Liu XM, Yuan X, Zhang X, Hess ME, Brüning JC, Qian SB. N⁶-methyladenosine guides mRNA alternative translation during integrated stress response. *Mol Cell*, 2018, 69(4): 636–647. [DOI]
- [68] Meyer KD, Patil DP, Zhou J, Zinoviev A, Skabkin MA, Elemento O, Pestova TV, Qian SB, Jaffrey SR. 5'UTR m⁶A promotes cap-independent translation. *Cell*, 2015, 163(4): 999–1010. [DOI]