

## 단백질 합성을 증진시키는 개시인자(factor)의 발견 및 그 특성에 관한 연구

단백질합성(translation)은 유전자 발현 및 세포 성장을 조절하는데 중요한 과정으로 알려져 있으며 여러 가지 외부환경이나 세포내의 필요에 따라서 그 증감이 조절된다. 단백질 합성과정을 전기(initiation), 중기(elongation), 말기(termination)의 세 단계로 나누어볼 때, 단백질 합성의 조절은 초기단계에서 빈번히 일어나고 있다. 단백질 합성의 초기단계는 개시코돈(initiation codon)인 AUG를 선택하는 과정이다.

### 단백질 합성 초기단계 및 그 조절이 일어나는 예

단백질 합성 초기단계는 기본적으로 initiator Methionyl-tRNA ( $\text{Met-tRNA}_i^{\text{Met}}$ )을 AUG 코돈에 전달해 주는 과정인데, 이 과정에는 많은 eukaryotic initiation factors(eIF)라고 명명된 개시인자들이 관여한다 (Fig. 1). Initiator Met-tRNA의 운반체인 eIF2는 GTP와 함께 안정한 ternary complex를 형성하여 40S ribosome에 붙어 43S preinitiation complex를 형성한다. 여기에는 몇 가지 다른 인자들 eIF3, eIF1, eIF1A가 포함되어 있다. 이 43S

complex는 진핵세포의 mRNA에 존재하는 5'  $m^7G$  cap말단에 붙게되는데 이때 eIF4F, eIF4B, eIF4A가 관여한다. 다음에 이 complex는 개시코돈 AUG를 향하여 mRNA를 따라 진행(scanning)한다. 적합한 AUG에 도달했을 때 GAP (GTPase activating protein)인 eIF5에 의해 eIF2에 붙어있는 GTP의 가수분해가 일어나면서 여러 개시인자들이 그 initiation complex에서 떨어져 나오고 동시에 60S ribosome과의 결합이 일어나는 것으로

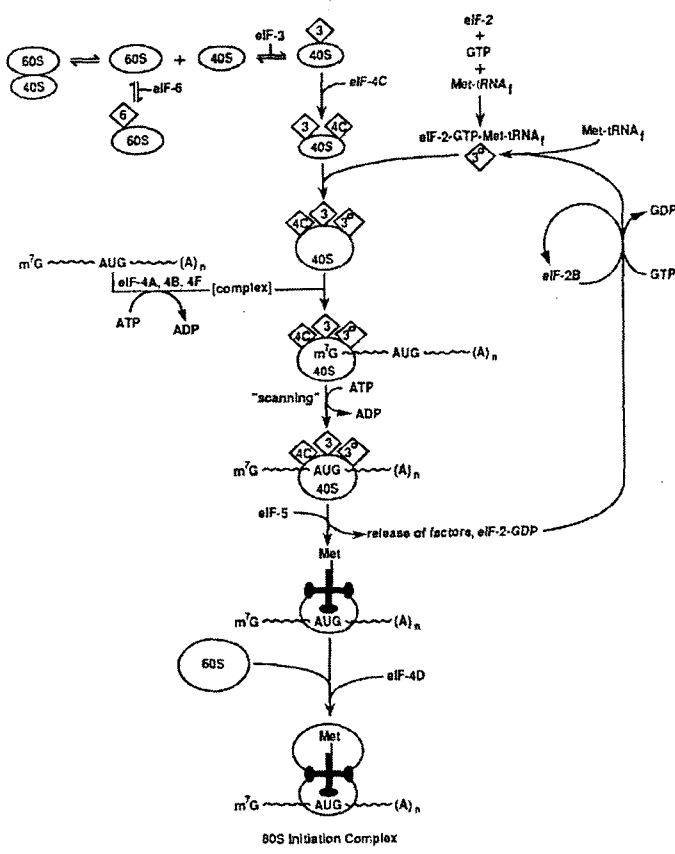


FIG. 1. Flow scheme for formation of 80S initiation complexes.

알려져 있다(8). 이 과정 중에서 외부의 환경에 따라 단백질 합성을 조절하는 여러 개시인자들이 있다. 첫째로 세 종류( $\alpha$ ,  $\beta$ , and  $\gamma$ )의 subunit로 구성된 eIF2는 여러 종류의 외부자

극, virus 감염, heme 결핍, 아미노산 결핍, heat shock, 중금속노출, glucose 결핍 등에 의해 인산화되어 단백질 합성이 증감된다. 그 대표적인 kinase인 PKR, HRI, GCN2 등은  $\alpha$  subunit를 인산화시켜 guanine nucleotide exchange factor인 eIF2B에 의한 eIF2-GDP의 eIF2-GTP로의 전환이 잘 일어나지 않게 되어 궁극적으로 단백질 합성을 저해한다(6). 두 번째로 eIF4E와 4E-BP (4E binding protein)가 있다. 단백질 합성률은 growth factor, hormone, mitogen 등에 의해 증가되는데 이들의 자극에 의한 여러 signal transduction pathway에 의해 위의 두 factor들에 특이적으로 인산화가 일어나, 완전한 형태의 eIF4F를 만들어 단백질 합성을 증진시킨다(5). 전체적인 단백질 합성의 조절은 크게 스트레스에 의한 반응과 세포증식을 위해 일어나는 현상으로 구분할 수 있다. 이 외에도 단백질 합성의 조절은 특정 유전자 수준에서 만도 일어나는데 주로 mRNA의 5' UTR (untranslated region)에 특정 sequence 및 structural element가 존재할 때 발견된다.

### 원핵세포의 단백질 합성인자인 IF2와 진핵세포에서의 IF2 homologue

원핵세포에서는 진핵세포와는 달리 단백질 합성초기단계에 IF1, IF2, IF3만이 관여한다. *Saccharomyces cerevisiae*의 게놈(genome)서열이 완독되면서 IF2의 homologue(yIF2)를

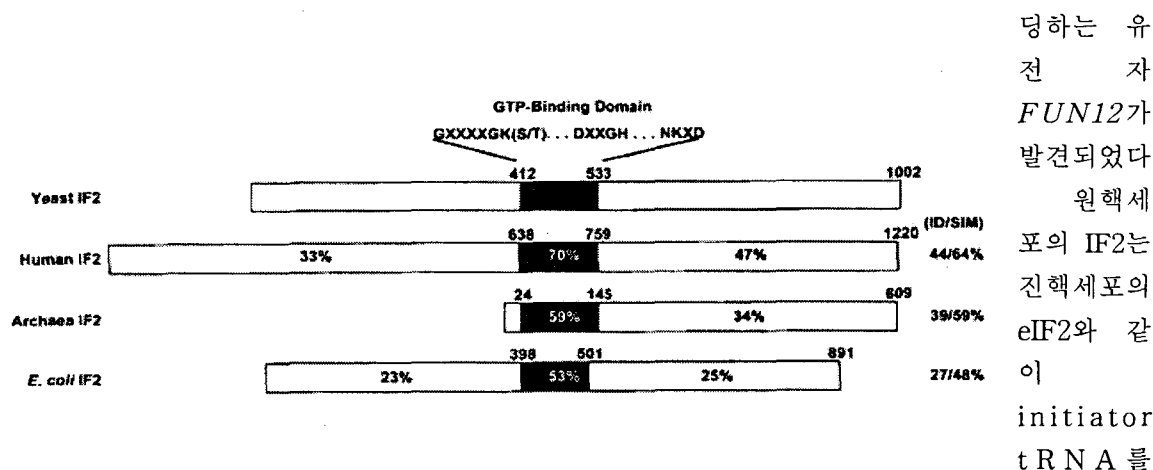


FIG. 2. Structural conservation among the eukaryotic, archaeal, and prokaryotic IF2 proteins. Indicated on the cartoons of hIF2, aIF2 (*M. jannaschii*) and *E. coli* IF2 protein are the percentages of amino acid sequence identities to yIF2 in the N-terminal region, the GTP-binding domain, and the C-terminal region of the proteins. Also indicated (at the right) are the amino acid identity(ID) and similarity(SIM) of the full length proteins compared with yIF2. The black box in the cartoons identifies the location of the GTP-binding domain with the indicated consensus sequence motifs, and the numbers above the cartoons refer to the amino acid residues in each protein.

ribosome으로 운반하는 기능을 가지고 있다. *FUN12*는 발견당시 essential gene으로 알려져 실제 translation factor를 코딩한다면 그 기능이 어떠할지 궁금했다. 만일 그렇다면 원핵세포의 특성을 갖는 factor일 것으로 예상되었다. yIF2의 구조적인 특성은 Fig. 2에서 보는 바와 같이 중앙에 GTP binding-domain을 가지고 있으며 *E.coli* IF2와 전체적으로 27%의 동일성(identity)을 보였다. 이 유전자 *FUN12*를 disruption 시켰을 때 효모의 성장이 매우 느렸다(severe slow grow phenotype). 따라서 이 protein은 mitochondria에서 작용

하는 factor일 수 있는데, 이 *fun12*Δ strain이 glycerol 등의 nonfermentable carbon source를 이용할 수 있는 것과, immunofluorescence 분석에 의해 cytoplasm에 존재하는 것으로 관찰된 바 mitochondria에서 작용하는 factor는 아니었다. 이 단백질이 translation factor인지 아닌지를 확인하기 위하여 polysome profile 분석을 wild type strain과 그 isogenic *fun12*Δ strain에서 동시에 수행하였다. *fun12*Δ strain은 활발하게 단백질 합성이 일어나는 비교적 큰 polysome의 양이 감소되고 그로부터 dissociation된 40S 와 60S ribosome이 결합하여 많은 양의 80S를 형성함을 관찰하였는데, 이는 *fun12*Δ strain이 translation에 결함이 생긴 것을 보여준다. 이러한 *in vivo* 결과는 yIF2가 간접적으로 translation factor에 영향을 주어 일어나는 현상일 수 있으므로 *in vitro* translation assay를 행하였다. *fun12*Δ strain에서 만들어진 translation extract는 wild type에서 만들어진 extract보다도 낮은 활성을 보였으며 여기에 GST-yIF2를 넣어 주었을 때 그 낮아진 활성이 넣어준 양에 비례해서 wild type의 활성까지 회복되는 것이 관찰되었다. 이는 yIF2가 대부분의 endogenous cellular mRNA에 작용하는 general translation factor임을 시사한다. 또한 yIF2는 eIF2로 대체할 수 없는 것으로 보아 이들은 isozyme이 아닌 별개의 기능을 지닌 factor라고 사료된다. *fun12*Δ strain은 GCN4의 발현유도가 안되는 형질(gcn phenotype)을 나타내었다. GCN4는 효모에서 아미노산의 생합성을 조절하는 global transcriptional regulator로서 그 mRNA의 5' UTR에 4개의 짧은 upstream ORF( $\mu$ ORF1-4)가 있으며 단백질 합성단계에서 발현이 조절된다(6). 아미노산 결핍시에 kinase인 GCN2가 eIF2 $\alpha$ 를 인산화시켜 적은 양의 eIF2-GTP를 만들고 다음에 적은 양의 ternary complex를 형성하여 이 complex가  $\mu$ ORF를 지나면서 GCN4의 발현을 특이적으로 증진시킨다. Ribosome은 GCN4 mRNA의  $\mu$ ORF1을 전역(translation)하고 다시 mRNA를 따라 진행하게 되는데  $\mu$ ORF2에서 4까지의 전역은 eIF2-GTP-Met-tRNA<sup>Met</sup>의 양에 의존하게 된다. Reinitiation되지 않고  $\mu$ ORFs2에서 4까지 bypass한 ribosome만이 GCN4를 전역할 수 있다. 따라서 *fun12*Δ strain이 GCN4발현을 못하는 것은  $\mu$ ORF1후에 reinitiate를 못 하거나,  $\mu$ ORFs2에서 4를 bypass 못하기 때문일 것이다. *fun12*Δ strain은 단지  $\mu$ ORF1만 포함한 GCN4의 발현에 아무 영향이 없는 것으로 보아 translation reinitiation의 결함은 아닌 것 같다. *fun12*Δ strain의 gcn phenotype은 아직 그 기작이 충분히 밝혀지지 않았지만 yIF2가 Met-tRNA를 ribosome에 전달하거나 안정화시키는 데 작용할 것을 시사한다. 유전학적인 증거로서는 *fun12*Δ strain의 slow growth phenotype이 tRNA<sup>Met</sup>을 과발현시킴으로서 회복되었으나 elongator tRNA<sup>Met</sup>은 그렇지 않았다. 이와 같은 결과들은 yIF2가 general translation factor로써 Met-tRNA<sup>Met</sup>를 ribosome에 전달하는 것을 원활하게 함을 보여준다(3).

## Human 및 Archaea에서의 IF2 homologue

원핵세포의 단백질 합성인자인 IF2와 진핵세포의 eIF2는 구조적으로나 기능적으로 차이는 있지만 공통적으로 Met-tRNA<sup>Met</sup>을 ribosome에 전달해주는 기능을 갖고 있다. 그러나, *Methanococcus jannaschii*의 genome sequencing으로 archaea도 진핵세포와 마찬가지로 세 가지의 eIF2 subunits의 homologues가 존재하면서 IF2 homologue(aIF2)도 존재함이 밝혀졌다(Fig. 2). 이는 archaea가 원핵세포와 진핵세포사이의 중간적인 형태의 translation apparatus를 갖고 있음을 보여주는 것이다. aIF2가 yIF2와 같이 단백질 합성인자인지를 알아보기 위해서 aIF2가 yeast *fun12*Δ strain의 slow growth phenotype을 회복시키는지를 검토하였는데 galactose-inducible GAL promoter하에서 aIF2를 발현시켰을 때 활성을 나타내

었다. 또한 yeast에서 만들어진 *in vitro* translation system에서 aIF2나 IF2가 활성을 갖

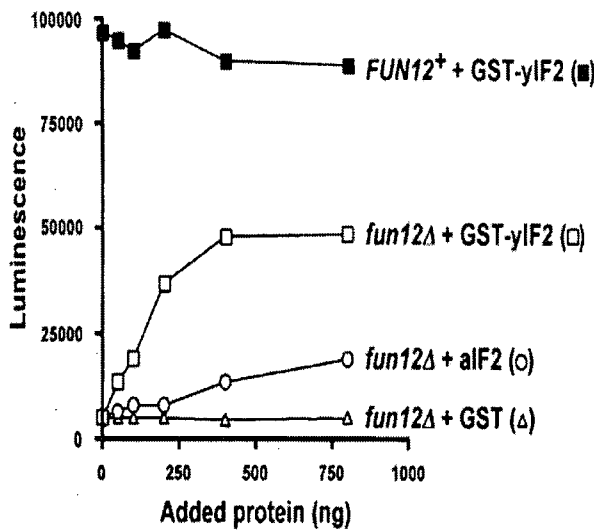


FIG. 3. Addition of aIF2 partially restores translation activity in extracts from a *fun12* $\Delta$  strain. *In vitro* translation extracts were prepared from the *fun12* $\Delta$  and wild type strains. Extracts were incubated with 200 ng of luciferase mRNA and the indicated amounts of recombinant GST, GST-yIF2, and aIF2 proteins. Translation activity was determined by measuring luminescence after 15-min incubation at 26<sup>o</sup>C.

고 있는지를 알아보았을 때 Fig. 3에서 보는 바와 같이 IF2는 활성을 보이지 않았으나 aIF2는 활성을 약하게 보였다. 이는 archaea의 단백질합성 machinery가 진핵세포에 가까움을 나타내주는 것이며, IF2가 활성을 갖지 않는 원인이 같이 작용하는 ribosomal subunit의 종 간의 차이 때문인지를 밝히는 것이 흥미로운 일인 것 같다. Archaeal IF2는 Fig. 2에서 보여지듯이 N-말단지역이 없는데, yIF2의 이 부위는 성장에 불필요하였지만 IF2의 이 부위는 세균의 성장에 필요한 것으로 보고되었다. yIF의 N-말단지역은 다른 단백질 합성인자인 eIF2, eIF3 및 eIF5와 상호접촉 (ribosome에 경유하여 일어날 수도 있음)이 일어나는 부위이

며, 또한 archaea에는 완전한 형태의 eIF3 homologues나 eIF5 homologue가 없는 것으로 보아, N-말단지역이 고등한 생물에서 원핵세포와 다르게 진화된 것으로 사료된다. Human의 expressed sequence tag (EST) database에서 여러 EST DNAs가 yIF와 유사한 것을 발견하였으며, 이러한 sequence가 skeletal muscle과 testis에서 많이 발견됨을 multiple tissue Northern blot에서 확인할 수 있었다. hIF2 cDNA를 클로닝하여 염기서열을 분석한결과, yIF2와는 44%의 동일성을 보였으며 N-말단지역이 다소 길며 (Fig. 2), HeLa cell extract에서 immunoblot 분석을 한 결과 약 175 kDa의 크기로 발견되었다. 단백질의 아미노산 서열에서 예견된 크기는 139 kDa이었지만 N-말단지역이 highly charged되어 있어서 SDS-PAGE상에서 비정상적으로 느리게 이동하는 것으로 사려된다. 이러한 human IF2가 활성을 갖는지를 알기 위해 yeast에서 만들어진 분석 system들을 이용하였다. hIF을 galactose-inducible *GAL* promoter하에서 발현시켰을 때 *fun12* $\Delta$  strain의 slow growth phenotype을 회복하였으며, 또한 GST-hIF2 역시 *in vitro* translation assay에서 그 활성을 GST-yIF와 같이 거의 유사하게 보여주었다. 그러나 몇 종류의 GTP-binding domain mutation에서는 그 활성이 상실되었다(7).

### Ribosomal subunits joining에 작용하는 eIF5B

진핵세포에서 단백질 합성의 개시는 40S와 60S ribosomal subunit가 결합함으로써 시작된다. eIF3과 eIF2-GTP-initiator Met-tRNA<sup>Met</sup>가 처음에 40S subunit에 결합되고, 이렇게 형성

된 complex가 mRNA에 붙게되는데 이때 여러 단백질 개시인자 eIF1, eIF1A, eIF4A, eIF4B와 eIF4F가 필요하다. eIF5는 eIF2에 부착된 GTP의 가수분해를 촉진하여 결과적으로 eIF2를 개시코돈에 형성된 48S complex에서 떨어져나가게 한 다음에 60S ribosome이 결합되어 활성이 있는 80S ribosome을 형성한다. Pestova lab에서 48S complex와 60S subunits를 결합시키는 실험을 하던 중 eIF5만으로는 subunit 결합이 일어나지 않는 것을 발견하게 되었고 또 다른 단백질 인자로써 eIF5B를 Krebs-2 ascites의 ribosome salt wash(RSW)에서 순수분리하였다(9). eIF5B는 IF2의 mouse homologue로서 yeast에서의 *in vitro* translation assay에서 활성을 보였으며, 또한 hIF도 역시 mouse의 *in vitro* system에서 subunit joining에 같은 활성을 보였다. Reconstituted mammalian translation assay인 methionylpuromycin synthesis(first peptide bond 합성을 모방한 assay)를 통해 eIF5와 eIF5B의 활성을 검토해보았을 때 eIF1A와 eIF2가 포함된 minimal system은 eIF5나 eIF5B가 각각 활성이 있으나, 위 factors와 더불어 eIF1과 eIF3이 있을 때는(완전한 set의 factors 존재시) eIF5와 eIF5B가 상승적인 활성을 나타냈다. eIF5B는 GTP-binding protein의 특징적인 motif를 갖고 있는데, ribosome 존재에 관계없이 GTP와 결합할 수 있다. eIF5B는 그 자체의 GTPase 활성을 찾기가 어려웠지만 60S ribosome 존재 하에서 활성을 나타냈다. Ribosome joining reaction에서 GTP나 nonhydrolyzable GTP인 GMPPNP 존재 하에서 각각 활성을 가졌으나 methionylpuromycin synthesis assay에서는 GTP 존재 하에서만 활성을 보였다. 이러한 결과는 GTP의 가수분해가 ribosome joining에 필수적이지 않음을 보여준다. GMPPNP가 존재할 때는 stoichiometric한 양의 eIF5B가 요구되었다. 따라서 eIF5B는 GTP에 결합해야 만이 활성있는 형태로 바뀌지만, 부착된 GTP의 가수분해는 subunit의 결합에 필수적이지 않다. 그러면 GTP 가수분해는 어느 과정에 필요한 것인가? 이러한 의문점을 해결하기 위해 48S complex를 우선 만들고 다음에 GTP 및 GMPPNP를 사용하여 80S complex를 만들었다. 다음에 80S complex를 분리하여 metpuromycin synthesis assay를 하였는데 GMPPNP를 사용하여 만든 80S complex는 GTP를 사용하여 만든 complex와 다르게 활성을 보이지 않았으며 이 complex에 eIF5B가 부착되어 있는 것이 발견되었다. 따라서 GTP 가수분해는 eIF5B를 80S complex로부터 방출시켜주기 위한 것임을 알 수 있다. 이와 같은 결과는 원핵세포의 IF2에서도 관찰 되어서 진핵세포의 IF2 homologue인 eIF5B의 작용기작이 IF2와 상당히 유사함을 보여주고 있다. 마지막으로 한 가지 새로운 결과는 기존에 initiation 과정 중에 한 개의 GTP가 필요한 것으로 알려졌으나 실제로는 두 개의 GTP가 필요하다는 것이다. 하나는 eIF2가 ternary complex를 형성하는데 필요하며, 다른 하나는 eIF5B의 recycling에 필요한 GTP이다.

### 단백질 합성 초기단계에서 eIF5B와 eIF1A에 의한 molecular mimicry

eIF5B의 작용기작을 좀 더 연구하기 위해 기존에 작용기작이 비교적 잘 규명된 initiation factor들과 two-hybrid 분석에 의해 *in vivo* interaction 여부를 분석하였다. 검토된 eIF2, eIF5, eIF1A와, eIF3 subunits 중 eIF1A만이 eIF5B의 C-말단지역과 결합하였다. eIF1A에 상호접촉하는 eIF5B의 부위를 C-말단지역 (amino acid #850 - 1002)으로 좁힐 수 있었다. 이러한 결과는 순수 분리된 eIF1A와 eIF5B사이의 *in vitro* binding assay에서도 관찰되었다. Hemagglutinin tagged eIF1A나 flag tagged eIF5B를 이용한 coimmunoprecipitation 실험에서도 역시 두 factor들간의 상호접촉함을 관찰하였다. 이전에 ribosome 존재 하에 cross linking agent에 의해 IF1과 IF2간에 상호접촉이 일어난다고 보고되었다. 그러나, 위의 결

과에서는 ribosome이 두 factor들간의 상호접촉에 관여하지 않음을 보여준다. eIF1A의 과발현은 C-말단지역이 잘려진 eIF5B를 발현시킨 효모균주의 slow growth phenotype을 더 악화시키는 것으로 보아 eIF1A와 eIF5B의 상호접촉이 단백질 합성에 중요한 것 같다(4). 원핵세포의 IF1은 30S ribosomal subunit에 부착하며 elongation factor EF-Tu-GTP-aminoacyl-tRNA complex와 같은 ribosomal region (A site)을 보호한다. IF1의 eukaryotic homologue인 eIF1A는 ribosome subunit의 dissociation이나, Met-tRNA를 40S subunit에 결합하는 것을 촉진시키거나 안정화시키는 것으로 보고되었다. 또한 eIF1A는 48S preinitiation complex의 형성에 필요하며 mRNA를 따라 개시코돈인 AUG를 향해 ribosome이 진행하는데 작용하는 것이 ribosomal toe-printing assay에 의해 밝혀졌다. eIF5B는 ribosome dependent GTPase 활성을 갖으며 GTP 가수분해는 eIF5B를 80S complex에서 방출하는데 필요하므로, 이러한 과정이 eIF5B와 상호 접촉하는 eIF1A의 방출에도 관여할 가능성이 있다. 단백질 합성인자들의 구조에 대한 연구에서 공통적으로 관찰되는 현상은 tRNA의 mimicry이다. Elongation factor EF-Tu-GTP-Phe-tRNA ternary complex와 translocase EF-G-GDP binary complex의 crystal 구조가 결정되었고, 비교연구에 의해 EF-G의 domain III와 IV가 tRNA의 anticodon stem과 loop를 닮은 것이 규명되었다. 이러한 두 구조의 특징은 이들이 단백질 합성과정 중에 ribosomal A site에 위치한다는 것이다. 최근에 Brock등이 이러한 molecular mimicry hypothesis를 translation initiation으로 확장하였다(1). EF-G의 C-말단지역과 IF1, IF2의 아미노산염기서열의 유사성에 의거해서, IF1과 IF2 complex가 구조적으로 EF-G를 모방하여 ribosomal A site에 위치한다는 것이다. 이러한 모델에 의하면 IF1-IF2 complex에 의한 A site 결합은 입체적으로 이 site를 봉쇄하고 Met-tRNA<sup>Met</sup>을 P site에 결합하게 유도할 것이다. 따라서 IF1과 IF2의 orthologs인 eIF1A와 eIF5B의 complex가 구조적으로 기능적으로 이러한 모델에 적합한 것으로 보여진다. 그러나 원래 Brock이 제시한 모델에 의하면 IF1은 IF2의 domain III

에 붙을 것으로 추정하였으나, eIF1A는 eIF5B의 C-terminus 즉 IF2의 domain IV에 상응하는 부위와 접촉하는 결과를 보여주었다. 그러나 IF1은 ribosomal A site에 binding하고 IF2와 complex를 형성하는 것과 같이, 이들의 orthologs인 eIF1A와 eIF5B가 결합하여 형성된 eIF1A-eIF5B complex가 A site에 부착되어 Met-tRNA<sup>Met</sup>가 ribosomal P site에 정확하게 위치하는데 역할 할 것으로 사료된다.

### 결론

새로운 단백질 합성개시인자인 eIF5B의 규명은 처음에 효모에서 IF2의 homologue가 발견됨으로

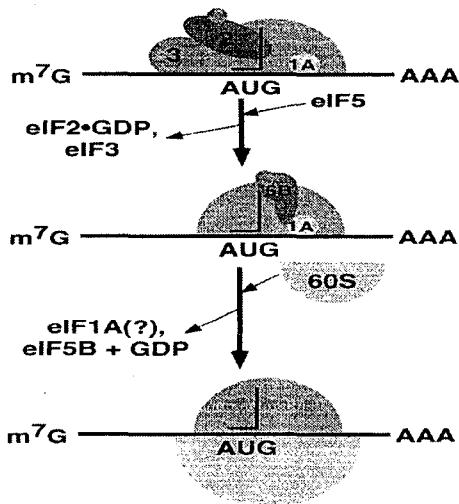


FIG. 4. Hypothetical model for eIF5B mediated ribosomal subunit joining, and stable or correct positioning of Met-tRNA<sup>Met</sup> to ribosomal A site.

써 가능하였다. Genetic system이 잘 확립된 효모를 이용하여, 그리고 생화학적인 방법을 이용하여 archaea, human, mouse등에서도 같은 factor가 발견되었다. eIF5B의 단백질 합성

과정중의 밝혀진 작용기작은, 48S initiation complex에서 eukaryotic eIF2가 개시코돈인 AUG에 전달해준 initiator Met-tRNA<sub>i</sub><sup>Met</sup>를 ribosome joining후에 eIF5B가 안정화시켜 주는 것으로 추정된다. Fig. 4에서 보여주듯이 Met-tRNA<sub>i</sub><sup>Met</sup>이 여러 factor들과 함께 개시코돈인 AUG에 48S initiation complex를 형성하고 eIF2에 부착된 GTP가 eIF5에 의해 가수분해되도록 유도되면서 이들 factor들이 떨어져 나간다. 다음에 eIF5B가 들어오면서 60S ribosome과 결합하게 될 때 eIF1A와 접촉이 이루어지면서 ribosomal P site에 있는 Met-tRNA<sub>i</sub><sup>Met</sup>을 안정화시킬 것으로 사료된다. 새로운 eIF5B의 기능에 대해서 다음과 같이 최근 보고되고있다. *Drosophila melanogaster*의 eIF5B는 *vasa*라는 유전자에 의해 코딩되는 DEAD box RNA helicase VAS와 서로 상호작용함이 보고되었다(2). VAS와 eIF5B와의 유전학적 상호작용은 이들 단백질 인자들이 기능적으로 접촉함을 보여주지만 그 접촉이 단백질합성에 어떤 역할을 하는지는 아직 밝혀진바 없다. HIV-1 matrix와 interaction하는 protein을 yeast two-hybrid 분석에 의해 조사했을 때 eIF5B가 발견되었다. eIF5B는 HIV-1 matrix의 Gag와 *in vitro*에서도 접촉하며, 또한 이러한 접촉은 *in vivo*에서 단백질합성을 저해하는 것으로 보고되었다(10). 이와 같이 새롭게 발견된 eIF5B는 유전자 발현에 필요한 매우 진화적으로 안정한 factor로 생각되며, 이 factor의 단백질 합성초기단계에서의 기능은 많은 organisms에서도 유사할 것으로 사료된다.

## 참고문헌

1. Brock, S., K. Szkaradkiewicz, and M. Sprinzl. 1998. Initiation factors of protein biosynthesis in bacteria and their structural relationship to elongation and termination factors. *Mol. Microbiol.* 29:409-417.
2. Carrera, P., O. Johnstone, A. Nakamura, J. Casanova, H. Jackle, and P. Lasko. 2000. VASA mediates translation through interaction with a *Drosophila* yIF2 homolog. *Mol. Cell* 5:181-187.
3. Choi, S. K., J. H. Lee, W. L. Zoll, W. C. Merrick, and T. E. Dever. 1998. Promotion of Met-tRNA<sub>i</sub><sup>Met</sup> binding to ribosomes by yIF2, a bacterial IF2 homolog in yeast. *Science* 280:1757-1760.
4. Choi, S. K., D. S. Olsen, A. Roll-Mecak, A. Martung, K. L. Remo, S. K. Burley, A. G. Hinnebusch, and T. E. Dever. 2000. Physical and functional interaction between the eukaryotic orthologs of prokaryotic translation initiation factors IF1 and IF2. *Mol Cell Biol* 2000. 20:7183-7191.
5. Gingras, A.C., B. Raught, and N. Sonenberg. 1999. eIF4 initiation factors: effectors of mRNA recruitment to ribosomes and regulators of translation. *Annu Rev Biochem.* 68:913-963.
6. Hinnebusch, A.G. 1994. Translational control of GCN4: an *in vivo* barometer of initiation-factor activity. *Trends Biochem Sci.* 19:409-414.
7. Lee, J. H., S. K. Choi, A. Roll-Mecak, S. K. Burley, and T. E. Dever. 1999. Universal conservation in translation initiation revealed by human and archaeal homologs of bacterial translation initiation factor IF2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96:4342-4347.
8. Merrick, W. C., and J. W. B. Hershey. 1996. The pathway and mechanism of

- eukaryotic protein synthesis, p. 31-69. In J. W. B. Hershey, M. B. Matthews, and N. Sonenberg (ed.), *Translational control*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.
9. Pestova, T. V., I. B. Lomakin, J. H. Lee, S. K. Choi, T. E. Dever, and C. U. T. Hellen. 2000. The joining of ribosomal subunits in eukaryotes requires eIF5B. *Nature* 403:332-335.
10. Wilson, S. A., C. Sieiro-Vazquez, N. J. Edwards, O. Iourin, E. D. Byles, E. Kotsopoulou, C. S. Adamson, S. M. Kingsman, A. J. Kingsman, and E. Martin-Rendon. 1999. Cloning and characterization of hIF2, a human homologue of bacterial translation initiation factor 2, and its interaction with HIV-1 matrix. *Biochem. J.* 342:97-103.