

DOI: 10.13376/j.cblls/2021045

文章编号: 1004-0374(2021)04-0407-12

病毒IRES的结构及IRES介导的蛋白质翻译研究进展

傅美贤, 龙健儿*

(复旦大学基础医学院病原生物学系, 医学分子病毒学教育部/卫生部重点实验室, 上海 200032)

摘要: 核糖体进入位点(internal ribosome entry sites, IRES)常见于许多正链RNA病毒基因组以及部分细胞基因。在营养缺乏、内质网应激、缺氧和病毒感染等不利条件下, 细胞翻译也能够从经典的帽子依赖型翻译转换为依赖于IRES的翻译机制。事实上, 自IRES被发现以来, 其相关的翻译机制调控被认为是病毒感染的关键步骤, 对病毒毒力、组织靶向性和致病性具有重要作用。因此, 研究IRES的结构及其功能有助于揭示病毒致病的机制, 对发展有效的病毒预防或控制策略具有重要意义。该文主要对RNA病毒中目前发现的IRES结构、类型及其相关的反式调控因子和作用机制作一综述。

关键词: IRES依赖型蛋白翻译; IRES结构; IRES反式调控因子

中图分类号: Q71; R373.2 **文献标志码:** A

Research progress on the structure of viral IRES and IRES-mediated protein translation

FU Mei-Xian, LONG Jian-Er*

(Key Laboratory of Medical Molecular Virology of Ministries of Education and Health, Department of Medical Microbiology and Parasitology, School of Basic Medical Sciences, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract: IRES (internal ribosome entry sites) is generally observed in many positive-strand RNA virus, and also identified in the cells involved in cellular stress response, cell cycle regulation, and apoptosis. The cellular canonical cap-dependent translation could be shifted to IRES-dependent translation under some disadvantageous conditions, including nutritional deficiencies, endoplasmic reticulum (ER) stress, hypoxia, and viral infection. By contrast, IRES-mediated translation shutoff of the cellular cap-dependent translation was considered to be a critical mechanism in some viral life cycle, and played an important role in the viral virulence, tissue tropism, and pathogenicity. This review will focus on the specific structures of different IRES type and how it works in the viral protein translation under the regulation of cis- or trans-acting factors. Research progress in the molecular mechanism of viral translation would benefit to understand the viral pathogenesis and shows great significance for the control of viral infections.

Key words: IRES-dependent translation; IRES structure; IRES trans-acting factor

1 真核细胞翻译起始模式

病毒的增殖与宿主细胞的翻译过程密切相关。由于病毒基因组编码能力的限制, 不同病毒进化出了多种“劫持”细胞基因表达关键步骤的方式, 其中劫持细胞翻译机器被认为是影响病毒传播的关键。蛋白质翻译起始的调控关键在于mRNA开放阅读框(open reading frame, ORF) 5'-端的起始位点处核

糖体复合物的组装。根据翻译起始方式的不同, 蛋白质起始翻译主要可分为帽结构依赖型翻译和IRES依赖型翻译两种模式。大多数细胞mRNA翻译通过5'-端帽结构依赖型翻译途径, 通过“扫描”起始密

收稿日期: 2020-06-22; 修回日期: 2020-07-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(32070184)

*通信作者: E-mail: longjianer@fudan.edu.cn

码子,并在十几种真核起始因子(eukaryotic initiation factor, eIF)的有序调控下进行翻译;而另一些mRNA翻译则依赖于IRES(internal ribosome entry site)结构, IRES通常位于相应mRNA起始密码子的上游。IRES介导的翻译起始通常是由内部序列驱动的,独立于帽结构或末端序列,往往仅需要较少的eIF^[1]。

但是,近年来,随着非帽结构依赖型相关翻译起始机制研究的深入,研究人员发现,除了已知的经典帽依赖型翻译和IRES介导的翻译起始机制之外,某些细胞mRNA能够借助不依赖帽结构的翻译增强子(cap-independent translational enhancers, CITE),利用自身特殊的RNA结构结合翻译起始因子,从而直接招募核糖体起始翻译。例如,5'-端含有N⁶-甲基腺苷(N⁶-methyladenosine, m⁶A)的mRNA能够通过结合eIF3复合物的方式,直接募集43S复合体从而启动特定起始密码子的翻译^[2]。有研究认为,eIF3d,即eIF3蛋白复合物d亚基,也能够作为备用的帽结合蛋白,在eIF4E缺失的条件下,与细胞mRNA的5'-端帽结构直接结合,从而起始帽依赖型翻译^[3-4]。研究和阐明这些非经典翻译机制不仅揭示了翻译调控的复杂性,同时也表明了它们有作为新型治疗靶标的潜力。

1.1 经典的帽结构依赖型翻译

无论是帽结构依赖型翻译还是IRES介导的翻译,真核细胞的翻译起始都需要经历三个步骤:(1)mRNA募集小核糖体亚基和起始tRNA;(2)识别正确阅读框中的起始密码子;(3)招募大核糖体亚基,形成具有延伸能力的80S核糖体。

真核生物的mRNA通常具有5'-端修饰的7-甲基鸟苷酸(7-methylguanosine, m7G)帽结构、5'-端非翻译区(untranslated regions, UTR)以及具有多聚腺苷酸化(PolyA)尾的3'-UTR^[1]。在真核生物经典的起始模型中,首先形成包含有甲硫氨酰-tRNA (Met-tRNA_i)、eIF2以及40S核糖体小亚基的三元复合物(ternary complex, TC)。其中,核糖体小亚基(40S)被募集到mRNA的5'-端帽结构处,在翻译起始因子eIF2的作用下,结合起始tRNA共同形成43S预启动复合物(pre-initiation complex, PIC)。然后,43S复合体以ATP依赖的方式沿5'-UTR的序列,从5'到3'的方向进行扫描,这一过程通常由帽结构和eIF4F复合物(由帽结合蛋白eIF4E、支架蛋白eIF4G和RNA解旋酶eIF4A组成)中的eIF4E帽结合蛋白相互作用介导。在Met-tRNA_i的反密码子与40S核糖体亚基的肽基-tRNA(P)位点的AUG进行碱基配对之后,会发生

一系列构象和组成的重排以触发形成48S PIC,接着是核糖体大亚基(60S)的连接以及翻译起始因子eIF的解离,从而进入蛋白质合成的延伸阶段。参与经典帽结构依赖型翻译的eIF多达十几种^[5],它们在调控真核细胞正常的翻译起始过程中发挥着关键作用,部分也参与IRES所介导的翻译起始过程,以促进病毒蛋白质表达。

1.2 IRES介导的蛋白质翻译

IRES最初在20世纪80年代后期,从脊髓灰质炎病毒(poliovirus, PV)和脑心肌炎病毒(encephalomyocarditis virus, EMCV)基因组的5'-UTR中被鉴定。这两种病毒都属于小RNA病毒(Picornaviridae)。目前研究人员已经证明, RNA病毒中至少含有四种不同类型的IRES,几种IRES的不同之处主要在于二级结构的差异,以及相关蛋白起始因子eIF和IRES反式作用因子(IRES trans-acting factors, ITAF)的不同^[6]。除RNA病毒外,其他病毒,如逆转录病毒和DNA病毒,以及细胞mRNA中,也被发现有IRES元件的存在^[7]。

IRES中包括带有茎环或发夹结构的复杂二级或三级结构,可通过多种RNA-RNA和/或RNA-蛋白质相互作用,进而作为核糖体结合位点而起始翻译。IRES常见于许多病毒RNA中,以及与应激反应、细胞周期调控或凋亡相关的细胞基因内。在营养缺乏、内质网应激、缺氧和病毒感染等不利条件下,细胞翻译能够从帽结构依赖型翻译转换为依赖于IRES的翻译。这种机制也被一些病毒用于抑制宿主细胞帽结构依赖型翻译机制,从而利于IRES驱动的翻译,来促进病毒自身蛋白质的合成。

IRES在结构上具有高度多样性,对于经典的翻译起始因子或特定刺激性IRES反式作用因子的需求也不同。研究表明, IRES特定的结构是影响翻译起始活性的关键^[7]。尽管单个IRES结构域或许不能脱离IRES核心区单独启动蛋白质翻译,但它们能够通过功能模块化积极地参与启动过程,类似于翻译起始因子在帽依赖型翻译启动时的引导作用。因此,它们也被视为mRNA翻译调控的顺式元件。

2 IRES的类型

目前, RNA病毒中已经发现的IRES主要有以下四种类型^[8]:小RNA病毒 I 型IRES (如enteroviruses, EVs和rhinoviruses, RVs)、小RNA病毒 II 型IRES (如cardiovirus和aphthovirus)、HCV (hepatitis C virus)样IRES (如HCV和classical swine fever virus, CSFV)

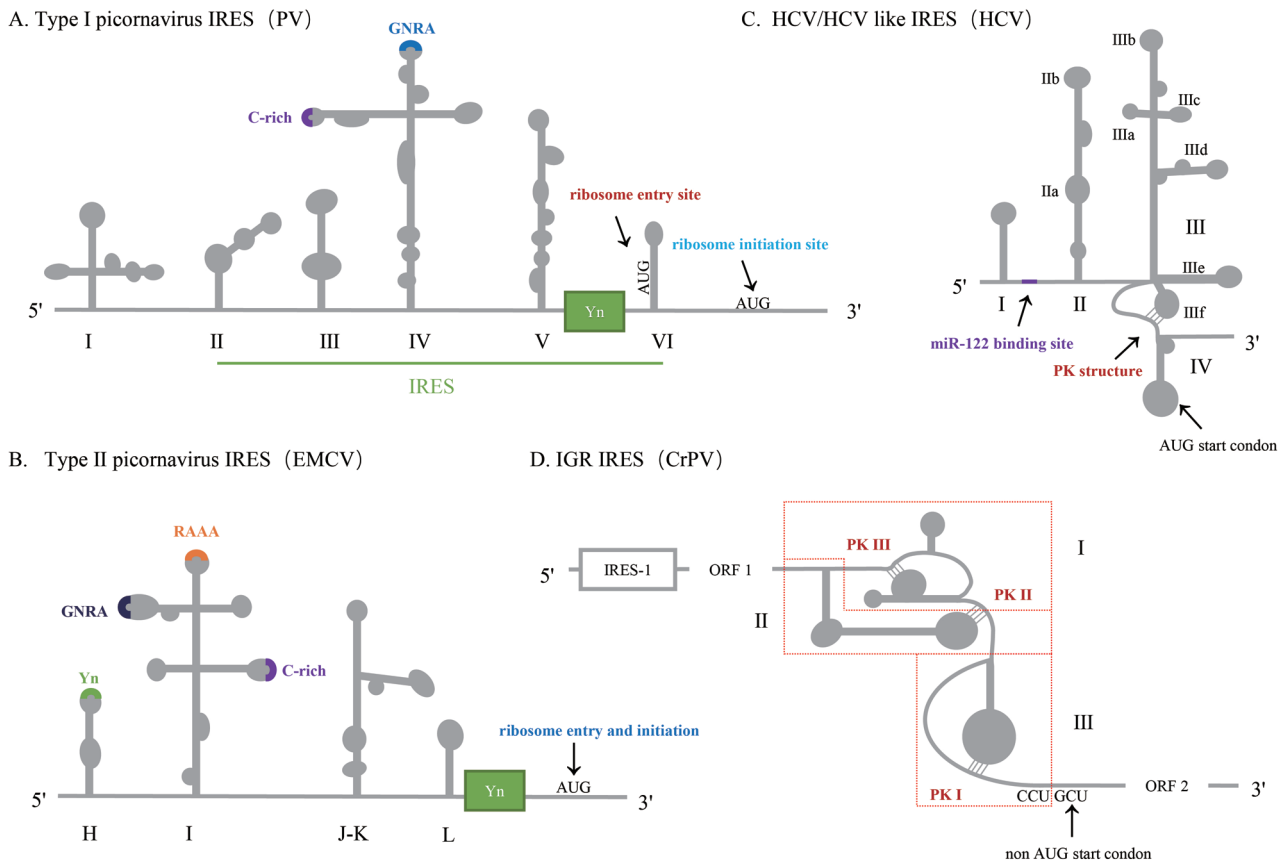
以及IGR (the intergenic region) IRES (如cricket paralysis virus, CrPV和taura syndrome virus, TSV)。其中, 小RNA病毒IRES结构较为灵活, 其活性很大程度上取决于ITAF的调节; 而HCV样IRES和IGR IRES相对较短, 能够通过形成稳定的结构直接对40S核糖体亚基进行“劫持”。下面将对不同类型IRES的相关结构, 及其在病毒复制过程中的作用展开说明。

2.1 I型小RNA病毒IRES

小RNA病毒的IRES基本都位于RNA的5'-端, 而I型小RNA病毒IRES仅存在于肠道病毒, 如PV、EV-A71 (enterovirus 71)、CVB3 (coxsackievirus B3)以及HRV (human rhinovirus)等。I型小RNA病毒IRES包含有六个结构域(茎环I~VI), 其中结构域II~VI是主要的翻译起始功能域, 结构域I形成独特的苜蓿叶形结构(图1A), 在正链和负链病毒RNA的复制过程中发挥重要作用^[10]。在IRES的3'-

端具有Yn-Xm-AUG-基序, 由8~10 nt的嘧啶区(Yn)、18~20 nt的间隔子(Xm)以及密码子AUG组成(图1A), 研究认为此结构并非为起始密码子, 而是起着核糖体进入位点的作用^[11]。除此以外, 结构域IV和I中分别还有一个GNRA基序和一个富C环(图1A)。在I型小RNA病毒IRES中, Yn-Xm-AUG基序能够作为调节序列选择位于30~160 nt下游的真实翻译起始位点, 同时也涉及eIF1和eIF1A介导的扫描^[12]。但也有研究认为, 天然沉默的AUG三联体在特定情况下可以开始启动而不扫描, 如包含更短的间隔区(在鼻病毒中约35 nt)的HRV2 IRES, 其下游的AUG也可以与结构域VI中隐含的AUG相互配对, 并且该背对背位置可以帮助核糖体从隐蔽的AUG直接转移至真正的AUG^[6]。

小RNA病毒IRES介导的翻译与病毒自身表达的2A^{pro}、3C^{pro}等蛋白酶存在密切关联。例如, 在EV-A71感染时, 2A^{pro}切割eIF4G, 3C^{pro}切割



A: I型IRES; B: II型IRES; C: III型IRES; D: IV型IRES。图中括号内为代表性病毒。病毒基因组以灰色线条表示; 灰色的长条及圆圈表示IRES中保守的茎环结构; 线条与圆圈的细条连接处表示IRES中已知的假结结构; 已知功能域标以不同颜色: C-rich: 富含胞嘧啶; GNRA: G为鸟嘌呤, N为任何核苷酸, R为嘌呤(A或G), A为腺嘌呤; Yn: 富含嘧啶的区域, 其中n约8~10 nt(改自参考文献[9])。

图1 RNA病毒IRES主要类型及其结构

eIF4A、eIF5B以及PABP, 导致宿主细胞翻译关闭。随后, eIF5B的裂解片段代替eIF2, 将Met-tRNA_i传递至40S核糖体亚基^[13]。而在PV感染时, 2A^{pro}会对eIF4G进行切割, 从而导致eIF4G N-端与eIF4E的结合域丧失, 但却并不影响与eIF3/eIF4A的结合^[14], 所以PV IRES可继续招募eIF4G C-端片段结合43S PIC, 从而将宿主细胞帽结构依赖的翻译转向IRES所介导的翻译。除了经典的eIF之外, I型IRES也可与polyC结合蛋白-2(poly(C)-binding protein 2, PCBP2)结合, 以稳定紧凑的三级结构, 而且PCBP2也与PV病毒感染期间, 病毒从复制到翻译的转换密切相关^[15]。此外, PV的IRES也与组织嗜性有关, 例如在Sabin疫苗株中, 结构域V中引入突变会削弱其与eIF4G的结合力, 并降低其神经毒性^[16]。

2.2 II型小RNA病毒IRES

II型IRES研究比较深入的主要有EMCV、FMDV (foot-and-mouth disease viruses)等。II型IRES主要由四个结构域(H、I、J-K和L)组成, 长度与I型IRES类似, 约为450 nt (图1B)。虽然II型IRES与I型IRES几乎没有同源性, 但II型IRES与肠道病毒IRES的5'-UTR相似, 上游区域参与病毒基因组的复制^[17], IRES的3'-端边界处也具有结构相似的Yn-Xm-AUG-基序(图1B), 并且都通过募集经典的eIF4G来构建翻译装置^[18]。结构域H可借Yn-Xm-AUG基序被eIF4B和PTB(polypyrimidine tract-binding protein)识别, PTB是目前研究较为深入的一种ITAF(其作用功能将在后文展开介绍)。结构域J-K能够形成eIF4G结合所需的Y形RNA, 该区域的晶体结构显示, J-K区域可以精细地预变构成与eIF4G HEAT-1结构域相适应的结构^[19]。随后, 在eIF4B的增强作用下, eIF4G和RNA解旋酶eIF4A诱导I型和II型IRES构象发生变化, 从而结合43S复合物, EMCV的IRES所介导的翻译起始即由此展开^[20]。而与肠道病毒不同的是, 在II型IRES介导的翻译起始过程中, eIF4G的切割是由FMDV编码的3C^{pro}和L^{pro}或EMCV编码的3C^{pro}完成。此外, GNRA、RAAA和结构域I中的富C环(图1B), 与II型小RNA病毒IRES的翻译起始活性也具有密切联系^[21]。

由于II型IRES长而灵活的特性, 许多ITAF也可以作为RNA伴侣分子起作用以维持核糖体组装形成适宜的IRES构象。例如, FMDV IRES能够与PTB特异性结合, 从而稳固三级结构, 但当IRES发生关键位点突变时, 其与PTB的结合能力随即减弱, 进

而引起温度依赖性翻译缺陷, 导致病毒自身毒力下降, 这一特点也被认为是开发FMDV减毒活疫苗的可行策略之一^[22]。

2.3 HCV及HCV样IRES

这类IRES通常存在于黄病毒科病毒, 如HCV和经典猪瘟病毒(classical swine fever virus, CSFV), 以及部分小RNA病毒, 如猪肠道病毒-8 (porcine enterovirus-8, PEV-8)和猿猴病毒2 (simian virus 2, SV2)等^[23-24]。与上述的I型和II型IRES不同, HCV或HCV样IRES长度较短, 整体结构较为紧凑, 更易于进行结构分析。

HCV的5'-UTR端IRES长约340 nt, 由独立的折叠结构域(II~IV)和亚结构域组成, 能够特异性结合40S核糖体亚基和eIF3复合物^[25]。其中, 结构域I和II参与病毒基因组的复制, 而结构域II~IV具有IRES活性^[24](图1C)。结构域I具有两个miR-122结合位点, miR-122是一种肝脏特异性miRNA, 可激活HCV复制^[26]。尽管结构域I对于IRES活性的影响较小, 但其在维持mRNA稳定性中起着重要作用^[25]。结构域II是一个长而不规则的茎环, 整体呈扭曲的L形, 可分为IIa和IIb两个子结构域, 其中结构域IIa含有多核苷酸凸起较链, IIb含有环E基序内环和顶端发夹结构^[27]。结构域II与结构域III由一个含有6 nt的短接头和一个含有9 nt的茎结构S1相互连接, 从而形成具有六个亚结构域(a~f)的细长分支结构。结构域IIIabc位于HCV IRES的顶端, 下方含有茎环结构域IIIId, 底部有一个不规则的四向连接点连接IIIe与IIIIf, 可与茎结构S2进行碱基配对, 以形成假结(pseudoknot, PK)结构^[28], 这种结构有利于病毒不通过40S核糖体亚基扫描而直接识别AUG^[29]。结构域IV仅存在于HCV的IRES, 而不存在于HCV样IRES中, 其茎环结构中含有起始密码子, 与核糖体结合后结构展开。

通常认为, HCV或HCV样IRES起始翻译需要eIF3、eIF2和eIF5参与, 主要分为三个步骤: 首先, 40S核糖体亚基与IRES二元复合物的形成; 然后, 二元复合物募集eIF3多亚基复合物和Met-tRNA_i^{Met}-eIF2-GTP三元复合物(eIF2-TC), 共同形成48S PIC; 最后, 通过eIF5使GTP酶活化, 进而使得eIF2-GTP中eIF2释放和GTP水解, 促进招募60S大亚基完成翻译的起始^[30-31]。但事实上, eIF2是否参与HCV mRNA翻译的启动目前仍然存在争议。在正常条件下, eIF2具有活性时, HCV mRNA的翻译起始过程如上所述。但在应激条件下, eIF2由于磷酸

化而失活后, 其递送Met-tRNA_i^{Met}的功能可被eIF2A或eIF5B所代替^[32]。

此外, 近来有研究表明, HCV IRES不仅能够利用游离的40S核糖体亚基进行翻译, 还可以与正在进行帽依赖型翻译的80S核糖体相结合, 从而起始自身翻译。待核糖体的帽依赖型翻译“工作”结束后, HCV IRES会保留所“劫持”的80S核糖体中的40S核糖体亚基, 利用其翻译下游病毒多肽。值得注意的是, 依赖HCV IRES的翻译并不因此受到抑制, 反而借助帽依赖型翻译而得到增强^[33]。

2.4 基因间隔区(intergenic region, IGR) IRES

IGR IRES最初发现自CrPV (cricket paralysis virus), 因其定位于两个病毒开放阅读框ORF1和ORF2之间而得名。后来发现该类IRES也存在于Dicistroviridae病毒家族PSIV (plautia stali intestine virus)、TSV (taura syndrome virus)和IAPV (israeli acute paralysis virus)中, 皆具有比较保守的二级或三级结构^[34-35]。

CrPV IRES有三个结构域, 每个结构域都含有IRES翻译活性必需的PK结构(图1D)。结构域I起始于IRES的5'-端, 具有一个带有内环和顶环的大茎环结构, 其中内环将茎结构分成独立的成对螺旋, 顶环内的核苷酸通过与单链区段下游的核苷酸碱基配对形成PK II^[36]。结构域II具有的内环结构与其上游核苷酸相互配对形成PK III。PK II和PK III的部分结构共同组成了IRES核糖体结合的核心区域^[37-38], 其中的辅助序列位于结构域表面, 有助于与40S/60S核糖体亚基相互作用^[37, 39]。IRES结构域III独立折叠, 包含有PK I和富含A的可变环^[34], 其中PK I独立折叠并且位于第一个密码子的上游。结构域III对于IRES与核糖体的结合并非必需^[40], 但在80S核糖体组装后发生的翻译起始中却发挥重要作用^[41]。

IGR IRES的翻译不是从经典的AUG起始密码子开始, 而是使用其他密码子, 例如编码Ala的GCU^[42], 即用Ala-tRNA而不是Met-tRNA_i进行翻译^[43]。在PK I与40S核糖体亚基的A位点结合后, eEF2触发PK I的第一次假转位到P位点, 留下空A位点, 随后延伸因子eEF1A将Ala-tRNA带到A位点, 由eEF2促进第二次假转位发生, 形成翻译延伸^[44], IGR IRES能够在延伸状态与核糖体结合, 且不需要任何经典的翻译起始因子协助, 这也是该类IRES与其他IRES的不同之处。

总体而言, HCV或HCV样IRES, 以及IGR IRES都是序列较短的IRES, 可以形成稳定结构直

接结合40S核糖体亚基, 并且RNA-RNA和RNA-蛋白质等相互作用也能够稳定IRES的核心结构。相比之下, I和II型IRES具有更灵活的结构, 并且这些IRES中是否存在特定的三级结构仍有待探究。值得注意的是, 相关调控因子对于病毒IRES的活性也具有非常重要的影响, 下面将对其展开简要介绍。

3 IRES依赖型翻译机制的相关调控因子

3.1 eIF与IRES依赖型翻译

与经典的帽结构依赖型翻译不同, IRES所介导的翻译有时并不需要通常翻译所需的全部eIF参与。虽然对于I、II型IRES来说, 除eIF4E和eIF4G的N-端外, 一般经典的起始因子都是必需的, 但在IGR IRES的翻译起始过程中, 则不需要eIF的协助^[45]。另外, HCV及HCV样IRES, 其所介导的翻译所需eIF主要是eIF3、eIF2、eIF1A、eIF5和eIF5B, 但在应激条件下, eIF2的亚基将被eIF2激酶磷酸化, 使eIF2失活, 此时eIF2D、eIF2A和eIF5B等翻译起始因子也可以替代eIF2, 以促使HCV翻译的顺利进行^[32]。事实上, 大多数IRES, 特别是细胞基因IRES的翻译起始, 不仅需要经典的eIF, 还需要很多ITAF的参与。

3.2 ITAF的类别及其相关特性

根据种类和特性的不同, 现已知的50多种ITAF可主要分为核蛋白、胞质蛋白和长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA)三大类(表1)。

核蛋白ITAF是数量最多的一类, 能够从细胞核穿梭到细胞质, 控制IRES依赖型翻译。许多异质核糖核蛋白(heterogeneous nuclear ribonucleoproteins, hnRNP), 如hnRNP L, 它既能够与HCV病毒的IRES相互作用, 起到有效促进HCV病毒复制的正向调节作用^[61], 也能够通过与FMDV病毒IRES结合而抑制FMDV病毒的增殖^[60]。另外, 核蛋白ITAF还包含其他如核仁蛋白HuR (human antigen R)、p54nrb (也称NONO, non-POU domain-containing octamer-binding protein)等。

至于胞质ITAF, 大多数是核糖体蛋白、核糖体相关蛋白以及翻译起始或延伸因子等与翻译机器密切相关的蛋白质。例如Rps25 (ribosomal protein subunit 25), 它不仅是双顺反病毒、黄病毒、小RNA病毒和逆转录病毒等病毒科IRES活性所必需的, 对于至少已知的10个细胞基因IRES也具有重要的调控作用^[72]。除此之外, 部分胞质及质膜相关蛋白, 它们虽然也具有ITAF功能, 对部分IRES的

表1 部分代表性ITAFs对病毒IRES介导的蛋白翻译调控

全名	缩写/别名	病毒	作用位点	调节IRES活性	相关修饰酶/机制	参考文献
类别 I: 核蛋白						
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D	hnRNP D、AUF1	PV、EV-A71、HRV2、HCV	茎环 II (EV-A71)	增强/抑制	NA	[46]
Poly(rC) binding protein 2	PCBP2	PV、CVB3、HAV、HRV、HCV	苜蓿叶结构域以及结构域 IV (PV); 茎环 I、茎环 IV (CVB3)	增强/抑制	3C ^{pro} (PV and HAV)	[47-48]
Heat shock protein 27	Hsp27	EV-A71	NA	增强	NA	[49]
Heat shock cognate protein 70	Hsc70、HSPA8	EV-A71	NA	增强	NA	[50]
The DEAD-Box RNA Helicase DDX3	DDX3	EV-A71	无 RNA 结合偏好	增强	NA	[51]
Polypyrimidine tract binding protein 1	PTB	PV、CVB3、EMCV、FMDV、HRV2、HAV	结构域 V (PV)	增强/抑制	3C ^{pro} (PV and HAV)	[52]
Far upstream element-binding protein 1	FUBP1、FBP1	EV-A71	间隔区	增强	2A ^{pro} (EV-A71)	[53]
Eukaryotic translation initiation factor 4 gamma 2	EIF4G2、DAP5	CVB3	NA	增强	2A ^{pro} (CVB3)	[54]
Human antigen R	HuR、ELAVL1	EV-A71	茎环 II	增强	NA	[55]
Argonaute 2, RISC catalytic component	AGO2	EV-A71	茎环 II	增强	NA	[55]
Poly(rC) binding protein 1	PCBP1	PV、HRV	结构域 IV (PV、HRV)	增强	NA	[56]
Sjogren syndrome antigen B	SSB、La	PV、CVB3、EMCV、HCV、HAV	NA	增强/抑制	3C ^{pro} (PV), NS3 ^{pro} (HCV)	[57]
Cold-shock domain containing E1	CSDE1、Unr	PV、HRV	NA	增强	NA	[58]
Glycyl-tRNA synthetase	GARS	PV	结构域 V	增强	NA	[59]
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L	hnRNP L	HCV、FMDV	结构域 I 与结构域 II 之间 (HCV)	增强/抑制	NA	[60-61]
KH RNA binding domain containing signal transduction associated 1	KHDRBS1、Sam68	PV、EV-A71、FMDV	结构域 III、结构域 IV (FMDV)	增强	3C ^{pro} (FMDV)	[62]
KH-type splicing regulatory protein	KHSRP、FBP2	EV-A71	茎环 I 至茎环 VI 以及间隔区	抑制	Host degradation machinery	[63]
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K	hnRNP K	EV-A71、HCV、FMDV	茎环 II 和茎环 IV (EV-A71); 茎环 II (HCV); 结构域 II、结构域 III、结构域 IV (FMDV)	增强/抑制	3C ^{pro}	[64-65]

表1 部分代表性ITAFs对病毒IRES介导的蛋白翻译调控(续表)

全名	缩写/别名	病毒	作用位点	调节IRES活性	相关修饰酶/机制	参考文献
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1	hnRNP A1	EV-A71、SV、HCV、HRV	茎环 II、茎环 VI(EV-A71)	增强	PRMTs methylation	[66]
Proliferation-associated 2G4	PA2G4、Ebp1、ITAF45	FMDV	结构域 II 至 V	增强	NA	[67]
G3BP stress granule assembly factor 1	G3BP1	CVB3	NA	抑制	3C ^{pro} (CVB3)	[68]
Virus-derived small RNA 1 类别 II: 胞质蛋白	vsRNA 1	EV-A71	茎环 II	抑制	Dicer	[69]
Ribosomal protein S25	Rps25	CrPV、HCV、PV	NA	增强	NA	[70]
Gem nuclear organelle associated protein 5	Gemin5	HCV、FMDV	结构域 V (FMDV)	抑制	L ^{pro} (FMDV)	[71]
Class III: 长链非编码RNA						
MicroRNA-122	miR-122	HCV	茎环 II	增强	NA	[26]

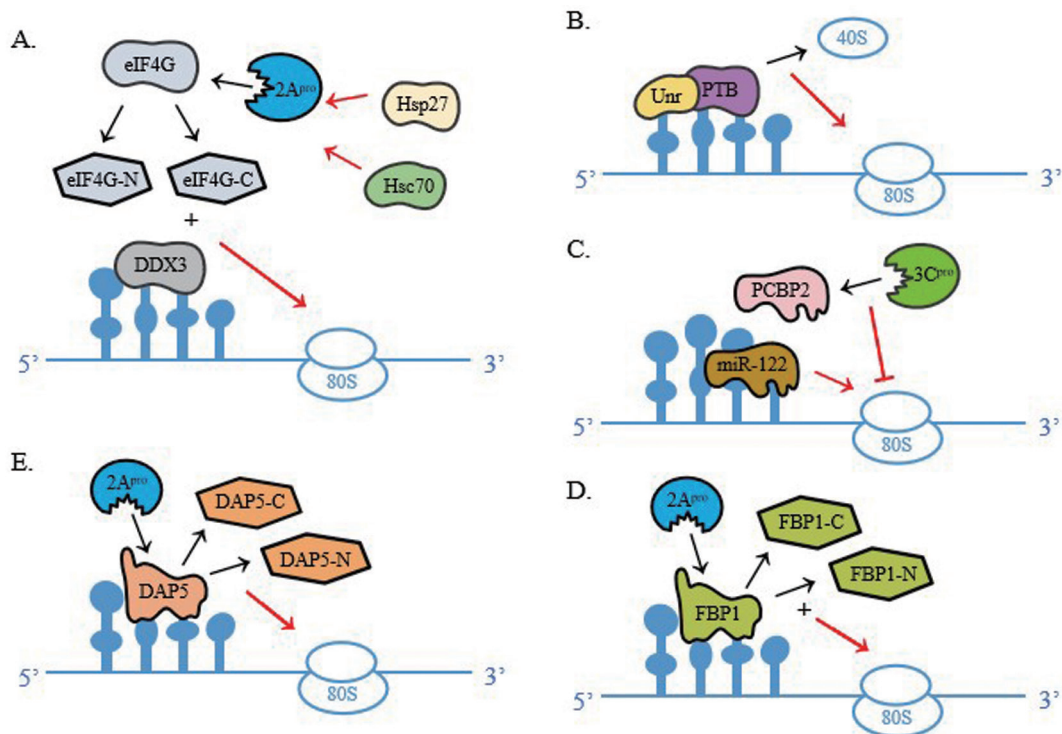
缩写: PV, 脊髓灰质炎病毒; CVB, 柯萨奇病毒B; FMDV, 手足口病相关病毒; HRV, 人类鼻病毒; EMCV, 脑心肌炎病毒; SV, 辛德毕斯病毒; EV-A71, 肠道病毒A 71; NA, 暂无研究数据。(改自参考文献[8])

活性产生影响,但并不直接参与翻译起始活动。如主要分泌在细胞质中的VASH-1 (Vasohibin-1),在被鉴定为ITAF之前,以其抗血管生成和抗应激功能而为人所知^[48]。

而具备ITAF功能的LncRNA,目前仅发现p27kip IRES的抑制剂TRMP (TP53-regulated modulator of p27),同时TRMP也是p53的直接转录调控靶标^[74]。另外,还有一些ncRNA (noncoding RNA),如作用于HCV IRES的miR-122,这种肝脏特异性的miRNA能够与PCBP2竞争性结合HCV 5'-UTR区。由于PCBP2通常起阻断翻译并促使病毒RNA更多地参与复制的作用,因此,miR-122的结合能够在一定程度上增强IRES的翻译活性^[47](图2C)。

在对ITAF的研究中发现,同一个IRES也可受

多个ITAF的调控,如EV-A71 IRES的活性即受到Hsp27、Hsc70和DDX3等10多种不同的ITAF的调控^[12]。Hsp27是热休克蛋白(HSP)家族的成员,其功能是防止热激过程中的蛋白质聚集,并保护细胞免受细胞应激(例如病原体入侵)的侵害。EV-A71的感染会导致Hsp27蛋白的表达上调,而Hsp27可以激活EV-A71 2A^{pro}裂解eIF4G,从而抑制帽结构依赖型翻译^[49](图2A)。细胞蛋白Hsc70则能够调节网格蛋白的内吞作用,进而能够调节EV-A71进入宿主细胞。EV-A71感染后,Hsc70也能够激活EV-A71 2A^{pro}裂解eIF4G,共同抑制宿主mRNA的帽结构依赖型翻译^[50](图2A)。另外,DEAD-box RNA解旋酶家族的成员DDX3不仅能够与eIF4G的C-端裂解段相互作用,还能够与EV-A71 IRES的结构域VI结合,协助解开RNA二级结构以促进核糖体进入,从而增



图中蓝色茎环及柱形组合图形表示IRES整体结构;蓝色核糖体结构表示翻译活性;红色箭头表示该过程增强活性;红色平箭头表示该过程抑制活性。(A) EV-A71感染导致Hsp27表达上调,并激活EV-A71 2A^{pro}裂解eIF4G,从而抑制帽结构依赖型翻译。同时,细胞Hsc70也能够激活EV-A71 2A^{pro}裂解eIF4G,抑制宿主mRNA的帽结构依赖型翻译。另外,DDX3不仅能与eIF4G的C-端裂解段相互作用,还能与EV-A71 IRES的结构域VI结合,协助解开RNA二级结构以促进核糖体进入,从而增强病毒IRES介导的翻译。(B) Unr结合IRES后使其结构发生变化,促使PTB与IRES结合并招募40S核糖体亚基。(C) PCBP2可被3C^{pro}裂解,导致PCBP2与茎环IV结合被破坏从而抑制翻译。在HCV IRES中,miR-122可与PCBP2竞争性结合HCV 5'-UTR区,在一定程度上增强IRES的翻译活性。(D) EV-A71 IRES的正调节因子FBP1可被2A^{pro}切割,产生N-端和C-端片段。N-端切割产物可与全长FBP1协作促进EV-A71 IRES活性。(E) DAP5可促进胞内IRES介导的翻译。病毒感染后,DAP5可被CVB3 2A^{pro}切割,产生DAP5-N和DAP5-C两个片段。在感染晚期,DAP5-N易位至细胞核,而DAP5-C保留在细胞质中并抑制细胞帽依赖型蛋白翻译。

图2 ITAFs与病毒蛋白酶相互作用影响病毒IRES起始蛋白翻译

强病毒IRES介导的翻译^[51](图2A)。与EV-A71 IRES类似, 许多IRES都受到多种而非单一的ITAF调控, 这种ITAF调控复合物共同构成类似组学的IRESome, 其具体作用往往取决于ITAF的组成和作用的特定IRES。此外, 研究也发现, 相同的ITAF可以调控不同病毒和细胞基因IRES活性, 根据IRES的不同, 能够起着正或负向调控作用。

3.3 ITAF调控IRES翻译起始的机制

由上可知, ITAF的活性受到不同参数的调节, 包括核质穿梭、与病毒RNA相互结合、翻译后修饰以及与不同eIF的相互作用等。下面将以研究较为清楚的一些例证予以说明。

PTB最初被鉴定为EMCV IRES的ITAF, 目前认为它能够调节12种已知的病毒IRES, 以及至少14种细胞基因IRES的翻译^[75]。PTB主要定位于细胞核, 通过核质穿梭实现相关的调节功能, 其含有4个RNA识别基序(RNA-recognition motif, RRM), 每个RRM能够识别特定的序列。研究人员通过束缚羟基自由基探测(tethered hydroxyl radical probing)和质谱分析的方法, 对PTB在I型和II型IRES上的结合位点进行了精确定位^[76], 其与IRES的特异性结合可以稳定IRES结构, 有利于eIF4G结合并激活IRES(图2B)。Xi等^[52]发现PTB利用其RRM1和RRM2识别并结合EV-A71 IRES后, 部分PTB能够从细胞核转移至细胞质中, 并进一步增强EV-A71 IRES的翻译活性, 从而促进病毒复制。

除此之外, PTB也可作为RNA分子伴侣起作用, 并与其他ITAF共同调节IRES活性^[77]。例如, 在对APAF1 IRES活性调节的过程中, Unr (upstream of N-ras)首先与IRES中的两个茎环结合, 使得IRES产生构象变化, 从而可被nPTB或PTB结合位点接近^[78], 即发生第二次构象变化, 进而为结合40S核糖体亚基提供正确的构象(图2B)。

另外, ITAF还能够在病毒蛋白酶水解加工后发挥作用。PCBP2具有三个KH域, 其中KH3能够促使PCBP2与PV IRES茎环IV结合形成复合物, 该复合物是病毒多聚蛋白翻译所必需^[79-80]。PCBP2还可与PV IRES上游的茎环结构I以及3C^{pro}形成三元复合物, 此复合物是负链RNA合成所需的启动子。在病毒RNA合成的高峰时期, 3C^{pro}裂解PCBP2, 破坏PCBP2与茎环IV的相互作用并抑制翻译(图2C)。被切割后的PCBP2仍然能够与茎环结构I结合并形成三元复合物, 并在RNA复制中保持活性^[48]。因此, PCBP2的切割被认为是病毒蛋白翻译向基因组复制

的转换调控方式。然而, ITAF的切割并不总是导致翻译终止。研究表明, EV-A71 IRES的正调节因子FBP1也可以在G371处被2A^{pro}切割, 产生N-端和C-端片段, FBP1的切割改变了其在间隔区中RNA的结合位点, 并且FBP1的N-端切割产物可与全长FBP1协作促进EV-A71 IRES的活性^[53](图2D)。

ITAF也可以通过与eIF相互作用影响IRES的活性。DAP5 (death-associated protein)是eIF4G蛋白家族成员, DAP5与eIF4G的同源性主要体现于其中心片段, 该片段包含eIF4A和eIF3结合区。质谱分析结果表明, DAP5也能够与新型帽结合蛋白eIF3d直接结合, 从而直接调控非经典的帽结构依赖型翻译^[81]。DAP5能够促进胞内mRNA通过IRES介导的翻译, 表达细胞凋亡相关蛋白, 如c-Myc、Bcl2、Apaf1、XIAP和c-IAP1/HIAP2等。值得注意的是, 在病毒感染过程中, DAP5也会被病毒蛋白酶水解。如CVB3感染后, DAP5被2A^{pro}切割后产生两个片段, DAP5-N和DAP5-C(图2E)。在感染晚期, DAP5-N易位至细胞核, 而DAP5-C保留在细胞质中并抑制细胞帽依赖型蛋白翻译, 而DAP5-N的过度表达及易位至核也在一定程度上提高了病毒蛋白的表达和p53的合成^[54]。

由此可见, 不同的ITAF以及相同ITAF利用不同机制, 共同构成了IRES活性调节的复杂网络。因此, 研究ITAF的调控机制不仅有利于深入了解IRES的功能特性, 更有助于发展新的抗病毒策略。

4 总结与展望

近年来, 随着翻译过程中核糖体与IRES相互作用的机制研究进一步深入, IRES在翻译调控中的作用也逐渐被人们所了解。除了上述所提到的IRES翻译调控机制, 研究人员还发现IRES不仅能够增强下游基因的表达, 对于其上游基因的表达也具有一定的调控作用^[82]。而ITAF与IRES的相互作用也会对IRES自身结构产生影响^[26]。这提示我们不能只将IRES单独地视为一个翻译调控元件, 而应当将IRES及相关的ITAF作为一种翻译调控系统来看待。

另外, 得益于单分子成像和分析技术的进步, 病毒IRES的复杂结构以及相关翻译复合物的形成机制也得到了进一步的揭示。近来, Neupane等^[83]借助冷冻电镜(cryo-EM)和重构翻译起始分析(reconstituted translation initiation assays), 发现CrPV病毒5'-端IRES能够借助其ORF1起始密码子前的

uAUG组装48S翻译复合物, 这进一步明确了IRES在招募核糖体中发挥作用的同时, 也表现出翻译起始过程的复杂性。事实上, 病毒IRES结构的多样性也使得关于IRES的研究面临着许多挑战。由于绝大多数IRES翻译调控机制涉及多种不同的ITAF的调节, 许多调控机制的细节也有待于进一步的探索。相信随着研究的深入和病毒翻译机制的揭示, 将对发展新型抗病毒药物具有重要的理论和实践意义。

[参 考 文 献]

- [1] Walsh D, Mohr I. Viral subversion of the host protein synthesis machinery. *Nat Rev Microbiol*, 2011, 9: 860-75
- [2] Meyer KD, Patil DP, Zhou J, et al. 5' UTR m(6)A promotes cap-independent translation. *Cell*, 2015, 163: 999-1010
- [3] Lee AS, Kranzusch PJ, Doudna JA, et al. eIF3d is an mRNA cap-binding protein that is required for specialized translation initiation. *Nature*, 2016, 536: 96-9
- [4] Guan BJ, van Hoef V, Jobava R, et al. A unique ISR program determines cellular responses to chronic stress. *Mol Cell*, 2017, 68: 885-900.e6
- [5] Andreev DE, Dmitriev SE, Loughran G, et al. Translation control of mRNAs encoding mammalian translation initiation factors. *Gene*, 2018, 651: 174-82
- [6] Lozano G, Martínez-Salas E. Structural insights into viral IRES-dependent translation mechanisms. *Curr Opin Virol*, 2015, 12: 113-20
- [7] Leppek K, Das R, Barna M. Functional 5' UTR mRNA structures in eukaryotic translation regulation and how to find them. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19: 158-74
- [8] Lee KM, Chen CJ, Shih SR. Regulation mechanisms of viral IRES-driven translation. *Trends Microbiol*, 2017, 25: 546-61
- [9] Andino R, Rieckhof GE, Achacoso PL, et al. Poliovirus RNA synthesis utilizes an RNP complex formed around the 5'-end of viral RNA. *EMBO J*, 1993, 12: 3587-98
- [10] Nicholson R, Pelletier J, Le SY, et al. Structural and functional analysis of the ribosome landing pad of poliovirus type 2: in vivo translation studies. *J Virol*, 1991, 65: 5886-94
- [11] Pestova TV, Shatsky IN, Hellen CU. Functional dissection of eukaryotic initiation factor 4F: the 4A subunit and the central domain of the 4G subunit are sufficient to mediate internal entry of 43S preinitiation complexes. *Mol Cell Biol*, 1996, 16: 6870-8
- [12] Lai MC, Chen HH, Xu P, et al. Translation control of Enterovirus A71 gene expression. *J Biomed Sci*, 2020, 27: 22-22
- [13] Lamphear BJ, Kirchweger R, Skern T, et al. Mapping of functional domains in eukaryotic protein synthesis initiation factor 4G (eIF4G) with picornaviral proteases. Implications for cap-dependent and cap-independent translational initiation. *J Biol Chem*, 1995, 270: 21975-83
- [14] Sawicka K, Bushell M, Spriggs KA, et al. Polypyrimidine-tract-binding protein: a multifunctional RNA-binding protein. *Biochem Soc Trans*, 2008, 36: 641-7
- [15] Arita M, Iwai-Itamochi M. Evaluation of antigenic differences between wild and Sabin vaccine strains of poliovirus using the pseudovirus neutralization test. *Sci Rep*, 2019, 9: 11970
- [16] Martinez SE, Francisco VR, Fernandez CJ, et al. Insights into structural and mechanistic features of viral IRES elements. *Front Microbiol*, 2018, 8: 2629-29
- [17] Gao Y, Sun SQ, Guo HC. Biological function of foot-and-mouth disease virus non-structural proteins and non-coding elements. *Virology*, 2016, 13: 107
- [18] de Breyne S, Yu Y, Unbehauen A, et al. Direct functional interaction of initiation factor eIF4G with type 1 internal ribosomal entry sites. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 9197-202
- [19] Imai S, Kumar P, Hellen CU, et al. An accurately preorganized IRES RNA structure enables eIF4G capture for initiation of viral translation. *Nat Struct Mol Biol*, 2016, 23: 859-64
- [20] Sweeney TR, Abaeva IS, Pestova TV, et al. The mechanism of translation initiation on type 1 picornavirus IRESs. *EMBO J*, 2014, 33: 76-92
- [21] Martinez SE, Francisco VR, Fernandez CJ, et al. Picornavirus IRES elements: RNA structure and host protein interactions. *Virus Res*, 2015, 206: 62-73
- [22] Yang D, Sun C, Gao R, et al. A temperature-dependent translation defect caused by IRES mutation attenuates foot-and-mouth disease virus: implications for rational vaccine design. *J Virol*, 2020, 94: e00990-20
- [23] Belsham GJ. Divergent picornavirus IRES elements. *Virus Res*, 2009, 139: 183-92
- [24] Khawaja A, Vopalensky V, Pospisek M. Understanding the potential of hepatitis C virus internal ribosome entry site domains to modulate translation initiation via their structure and function. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2015, 6: 211-24
- [25] Sagan SM, Chahal J, Sarnow P. cis-Acting RNA elements in the hepatitis C virus RNA genome. *Virus Res*, 2015, 206: 90-8
- [26] Chahal J, Gebert LFR, Gan HH, et al. miR-122 and Ago interactions with the HCV genome alter the structure of the viral 5' terminus. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47: 5307-24
- [27] Lukavsky PJ, Kim I, Otto GA, et al. Structure of HCV IRES domain II determined by NMR. *Nat Struct Biol*, 2003, 10: 1033-8
- [28] Johnson AG, Grosely R, Petrov AN, et al. Dynamics of IRES-mediated translation. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2017, 372: 20160177
- [29] Hashem Y, des Georges A, Dhote V, et al. Hepatitis-C-virus-like internal ribosome entry sites displace eIF3 to gain access to the 40S subunit. *Nature*, 2013, 503: 539-43
- [30] Otto GA, Puglisi JD. The pathway of HCV IRES-mediated translation initiation. *Cell*, 2004, 119: 369-80
- [31] Fraser CS, Doudna JA. Structural and mechanistic insights into hepatitis C viral translation initiation. *Nat Rev*

- Microbiol, 2007, 5: 29-38
- [32] Niepmann M, Gerresheim GK. Hepatitis C virus translation regulation. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 2328
- [33] Yokoyama T, Machida K, Iwasaki W, et al. HCV IRES captures an actively translating 80S ribosome. *Mol Cell*, 2019, 74: 1205-14 e8
- [34] Kanamori Y, Nakashima N. A tertiary structure model of the internal ribosome entry site (IRES) for methionine-independent initiation of translation. *RNA*, 2001, 7: 266-74
- [35] Pflingsten JS, Costantino DA, Kieft JS. Conservation and diversity among the three-dimensional folds of the Dicistroviridae intergenic region IRESes. *J Mol Biol*, 2007, 370: 856-69
- [36] Costantino D, Kieft JS. A preformed compact ribosome-binding domain in the cricket paralysis-like virus IRES RNAs. *RNA*, 2005, 11: 332-43
- [37] Schuler M, Connell SR, Lescoute A, et al. Structure of the ribosome-bound cricket paralysis virus IRES RNA. *Nat Struct Mol Biol*, 2006, 13: 1092-6
- [38] Pflingsten JS, Costantino DA, Kieft JS. Structural basis for ribosome recruitment and manipulation by a viral IRES RNA. *Science*, 2006, 314: 1450-4
- [39] Nishiyama T, Yamamoto H, Shibuya N, et al. Structural elements in the internal ribosome entry site of plautia stali intestine virus responsible for binding with ribosomes. *Nucleic Acids Res*, 2003, 31: 2434-42
- [40] Jan E, Sarnow P. Factorless ribosome assembly on the internal ribosome entry site of cricket paralysis virus. *J Mol Biol*, 2002, 324: 889-902
- [41] Au HH, Cornilescu G, Mouzakis KD, et al. Global shape mimicry of tRNA within a viral internal ribosome entry site mediates translational reading frame selection. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: E6446-E55
- [42] Yamamoto H, Unbehaun A, Spahn CMT. Ribosomal chamber music: toward an understanding of IRES mechanisms. *Trends Biochem Sci*, 2017, 42: 655-68
- [43] Wilson JE, Pestova TV, Hellen CU, et al. Initiation of protein synthesis from the A site of the ribosome. *Cell*, 2000, 102: 511-20
- [44] Fernandez IS, Bai XC, Murshudov G, et al. Initiation of translation by cricket paralysis virus IRES requires its translocation in the ribosome. *Cell*, 2014, 157: 823-31
- [45] Yang Y, Wang Z. IRES-mediated cap-independent translation, a path leading to hidden proteome. *J Mol Cell Biol*, 2019, 11: 911-9
- [46] Ullmer W, Semler BL. Direct and indirect effects on viral translation and RNA replication are required for AUF1 restriction of enterovirus infections in human cells. *mBio*, 2018, 9: e01669-18
- [47] Masaki T, Arend KC, Li Y, et al. miR-122 stimulates hepatitis C virus RNA synthesis by altering the balance of viral RNAs engaged in replication versus translation. *Cell Host Microbe*, 2015, 17: 217-28
- [48] Perera R, Daijogo S, Walter BL, et al. Cellular protein modification by poliovirus: the two faces of poly(rC)-binding protein. *J Virol*, 2007, 81: 8919-32
- [49] Dan X, Wan Q, Yi L, et al. Hsp27 responds to and facilitates Enterovirus A71 replication by enhancing viral internal ribosome entry site-mediated translation. *J Virol*, 2019, 93: e02322-18
- [50] Dong Q, Men R, Dan X, et al. Hsc70 regulates the IRES activity and serves as an antiviral target of enterovirus A71 infection. *Antiviral Res*, 2018, 150: 39-46
- [51] Su YS, Tsai AH, Ho YF, et al. Stimulation of the internal ribosome entry site (IRES)-dependent translation of Enterovirus 71 by DDX3X RNA helicase and viral 2A and 3C proteases. *Front Microbiol*, 2018, 9: 1324-24
- [52] Xi J, Ye F, Wang G, et al. Polypyrimidine tract-binding protein regulates Enterovirus 71 translation through interaction with the internal ribosomal entry site. *Virol Sin*, 2019, 34: 66-77
- [53] Hung CT, Kung YA, Li ML, et al. Additive promotion of viral internal ribosome entry site-mediated translation by far upstream element-binding protein 1 and an Enterovirus 71-induced cleavage product. *PLoS Pathog*, 2016, 12: e1005959
- [54] Hanson PJ, Ye X, Qiu Y, et al. Cleavage of DAP5 by coxsackievirus B3 2A protease facilitates viral replication and enhances apoptosis by altering translation of IRES-containing genes. *Cell Death Differ*, 2016, 23: 828-40
- [55] Lin JY, Brewer G, Li ML. HuR and Ago2 bind the internal ribosome entry site of Enterovirus 71 and promote virus translation and replication. *PLoS One*, 2015, 10: e0140291
- [56] Nazarov IB, Bakhmet EI, Tomilin AN. KH-domain poly(C)-binding proteins as versatile regulators of multiple biological processes. *Biochemistry (Mosc)*, 2019, 84: 205-19
- [57] Cho H, Lee W, Kim GW, et al. Regulation of La/SSB-dependent viral gene expression by pre-tRNA 3' trailer-derived tRNA fragments. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47: 9888-901
- [58] Wurth L, Papasaikas P, Olmeda D, et al. UNR/CSDE1 drives a post-transcriptional program to promote melanoma invasion and metastasis. *Cancer Cell*, 2016, 30: 694-707
- [59] Andreev DE, Hirnet J, Terenin IM, et al. Glycyl-tRNA synthetase specifically binds to the poliovirus IRES to activate translation initiation. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40: 5602-14
- [60] Sun C, Liu M, Chang J, et al. Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L negatively regulates foot-and-mouth disease virus replication through inhibition of viral RNA synthesis by interacting with the internal ribosome entry site in the 5' untranslated region. *J Virol*, 2020, 94: e00282-20
- [61] Li Y, Masaki T, Shimakami T, et al. hnRNP L and NF90 interact with hepatitis C virus 5'-terminal untranslated RNA and promote efficient replication. *J Virol*, 2014, 88: 7199-209
- [62] Zhang H, Song L, Cong H, et al. Nuclear protein Sam68 interacts with the Enterovirus 71 internal ribosome entry site and positively regulates viral protein translation. *J Virol*, 2015, 89: 10031-43
- [63] Kung YA, Hung CT, Chien KY, et al. Control of the

- negative IRES trans-acting factor KHSRP by ubiquitination. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45: 271-87
- [64] Fan B, Sutandy FX, Syu GD, et al. Heterogeneous ribonucleoprotein K (hnRNP K) binds miR-122, a mature liver-specific microRNA required for hepatitis C virus replication. *Mol Cell Proteomics*, 2015, 14: 2878-86
- [65] Liu W, Yang D, Sun C, et al. hnRNP K is a novel ITAF that negatively regulates foot-and-mouth disease virus translation and replication and is antagonized by viral 3C protease. *J Virol*, 2020, 94: e00803-20
- [66] Gao G, Dhar S, Bedford MT. PRMT5 regulates IRES-dependent translation via methylation of hnRNP A1. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45: 4359-69
- [67] Kanda T, Ozawa M, Tsukiyama-Kohara K. IRES-mediated translation of foot-and-mouth disease virus (FMDV) in cultured cells derived from FMDV-susceptible and -insusceptible animals. *BMC Vet Res*, 2016, 12: 66
- [68] Fung G, Ng CS, Zhang J, et al. Production of a dominant-negative fragment due to G3BP1 cleavage contributes to the disruption of mitochondria-associated protective stress granules during CVB3 infection. *PLoS One*, 2013, 8: e79546
- [69] Weng KF, Hung CT, Hsieh PT, et al. A cytoplasmic RNA virus generates functional viral small RNAs and regulates viral IRES activity in mammalian cells. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42: 12789-805
- [70] Hertz MI, Landry DM, Willis AE, et al. Ribosomal protein S25 dependency reveals a common mechanism for diverse internal ribosome entry sites and ribosome shunting. *Mol Cell Biol*, 2013, 33: 1016-26
- [71] Garcia-Moreno M, Noerenberg M, Ni S, et al. System-wide profiling of RNA-binding proteins uncovers key regulators of virus infection. *Mol Cell*, 2019, 74: 196-211. e11
- [72] Godet AC, David F, Hantelys F, et al. IRES trans-acting factors, key actors of the stress response. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 924
- [73] Hantelys F, Godet A-C, Tatin F, et al. Vasohibin1, a new IRES trans-acting factor for sequential induction of angiogenic factors in hypoxia. *bioRxiv*, 2018: 260364
- [74] Yang Y, Wang C, Zhao K, et al. TRMP, a p53-inducible long noncoding RNA, regulates G1/S cell cycle progression by modulating IRES-dependent p27 translation. *Cell Death Dis*, 2018, 9: 886
- [75] Romanelli MG, Diani E, Lievens PMJ. New insights into functional roles of the polypyrimidine tract-binding protein. *Int J Mol Sci*, 2013, 14: 22906-32
- [76] Kafasla P, Morgner N, Robinson CV, et al. Polypyrimidine tract-binding protein stimulates the poliovirus IRES by modulating eIF4G binding. *EMBO J*, 2010, 29: 3710-22
- [77] Andreev DE, Fernandez-Miragall O, Ramajo J, et al. Differential factor requirement to assemble translation initiation complexes at the alternative start codons of foot-and-mouth disease virus RNA. *RNA*, 2007, 13: 1366-74
- [78] Mitchell SA, Spriggs KA, Coldwell MJ, et al. The Apaf-1 internal ribosome entry segment attains the correct structural conformation for function via interactions with PTB and unr. *Mol Cell*, 2003, 11: 757-71
- [79] Fenn S, Du Z, Lee JK, et al. Crystal structure of the third KH domain of human poly(C)-binding protein-2 in complex with a C-rich strand of human telomeric DNA at 1.6 Å resolution. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35: 2651-60
- [80] Du Z, Fenn S, Tjhen R, et al. Structure of a construct of a human poly(C)-binding protein containing the first and second KH domains reveals insights into its regulatory mechanisms. *J Biol Chem*, 2008, 283: 28757-66
- [81] de la Parra C, Ernlund A, Alard A, et al. A widespread alternate form of cap-dependent mRNA translation initiation. *Nat Commun*, 2018, 9: 3068-68
- [82] Paek KY, Hong KY, Ryu I, et al. Translation initiation mediated by RNA looping. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: 1041-6
- [83] Neupane R, Pisareva VP, Rodriguez CF, et al. A complex IRES at the 5'-UTR of a viral mRNA assembles a functional 48S complex via an uAUG intermediate. *Elife*, 2020, 9: e54575