

## GTPase Ran 及其生物学作用

曹允考<sup>1,2</sup>, 张贵学<sup>2</sup>, 陈大元<sup>1</sup>, 孙青原<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>中国科学院动物研究所, 计划生育生殖生物学国家重点实验室, 北京 100080;

<sup>2</sup>东北农业大学, 哈尔滨 150030)

**摘要:** GTPase Ran 能连接并水解 GTP, 是许多代谢途径的重要调节物。GTPase Ran 在真核细胞中一系列的生物过程, 如 DNA 复制、RNA 的转录和加工(或修饰)、核质转运、有丝分裂和减数分裂的开始和结束的控制、及其间纺锤体的组装、染色体的正确分配、核膜破裂和重组中, 都起重要的作用。

**关键词:** Ran; DNA; RNA; 纺锤体; 核膜

**中图分类号:** Q492, Q526 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-9977(2004)03-241-06

Ran(Ras-related nuclear)<sup>[1,2]</sup>也称为 TC4, 最初是作为人类 cDNA 的一个可译框而被发现, 并首先从人类畸胎瘤细胞系中分离纯化得到的一种蛋白质, 根据其大小(216 个氨基酸残基)及其规范的序列基元 DTAGQE 而被确认为 Ras 相关的 GTPase, 分子量是 24kDa, 在真核生物从酵母到人都高度保守<sup>[3,4]</sup>。在 HeLa 细胞中, Ran 是 Ras 家族中表达最丰富的成员, 占细胞蛋白总量的 0.4%<sup>[2]</sup>。与 Ras 家族的其他成员相比, 其 C 末端缺乏一个作为翻译后异戊二烯化受体位点的半胱氨酸残基, 而拥有一个酸性 C 末端序列 DEDDDL, 这是 Ran 的作用基础<sup>[5,6]</sup>。

Ran 和 Ras 一样, 有活性的 RanGTP 和无活性 RanGDP 的浓度受 Ran 的调节物 GEF(guanine nucleotide exchange factor)和 RanGAP(RanGTPase activating protein)精密调控。GEF、RCC1(regulator of chromosome condensation 1)可增加与 Ran 相连的 GDP 转化成 GTP, RCC1 通过组蛋白 H2A/2B 和染色体紧密连接, 当有游离的 GTP 存在时, 它在染色体的周围产生较高浓度的 RanGTP<sup>[2]</sup>。Ran 本身的 GTPase 活性较低, 但可被位于核孔胞质面的 RanGAP1 激活, 使 GTPase 活性增加 10 倍<sup>[7]</sup>。RanBP1(Ran binding protein 1)是一种分子量为 23kDa 的蛋白质, 本身没有 GAP 活性, 但它可以作为 GEF 抑制剂降低 RCC1 的活性, 从而间接提高 GDP 和 GTP 的比值<sup>[8]</sup>(图 1B)。

Ran 在真核细胞的一系列生物过程中, 如 DNA 复制、RNA 的转录和加工、RNA 和蛋白质从核孔

复合物的转运、有丝分裂和减数分裂的控制, 尤其是纺锤体的组装、染色体的正确分配、核膜破裂和重组等方面, 都有一定的作用。

### 1 Ran 在核质转运过程中的作用

真核细胞中的离子和分子量小于 40~60kDa 的物质能够通过核孔复合体(nuclear pore complex, NPC)的水溶性通道被动扩散, 而大多数大于 40~60kDa 的大分子蛋白则以主动运输的形式穿过 NPC。实验证明, 蛋白质和 RNA 的内输和外运分别由核定位信号(nuclear localization signal, NLS)和核外输信号(nuclear export signal, NES)的短氨基酸片段所介导。

内输蛋白  $\beta$ (importin  $\beta$ )家族成员在蛋白质或 RNA 的内输/外运过程中作为受体。内输蛋白  $\alpha$ (importin  $\alpha$ )能够识别富含赖氨酸的 NLS, 并能通过其 N 末端序列连接到 importin  $\beta$  上的 I $\beta$ B(importin  $\beta$  binding)区, 即在核内输过程中 importin  $\alpha$  识别并连接带有核定位信号的底物蛋白, 然后再连接 importin  $\beta$  形成三聚体复合物。在胞质中 RanGTP 直接和 importin  $\beta$  连接, 并通过与 RanBP1 相互作用而保持稳定, 位于 NPC 胞质面的 RanGAP1 水解 RanGTP, 破坏 RanGTP/importin  $\beta$ /RanBP1 复合体, 释放出 RanBP1, 从而促进 RanGDP、importin  $\beta$  和

收稿日期: 2003-09-22; 修回日期: 2003-12-15

973项目(No.G199055902); 中国科学院创新工程项目(No. KSCX2-SW-303)和国家杰出青年基金(No.30225010)资助

\* 通讯作者, E-mail: sunqyl@yahoo.com, sunqy@panda.ioz.ac.cn

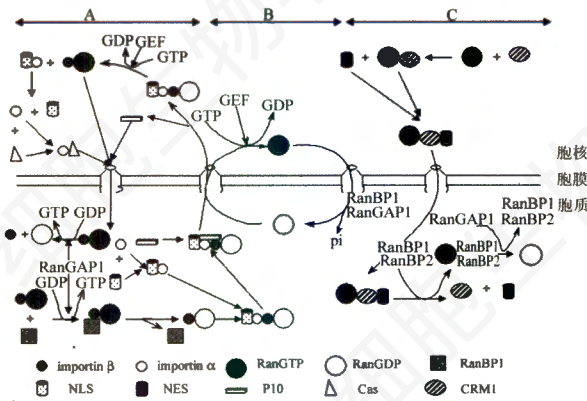


图1 Ran在核内输(A)外运(C)中的作用及 RanGTP/GDP 循环(B)

importin  $\alpha$ /含 NLS 的运输物及 P10 一起装配成内输复合体。复合体通过 importin  $\beta$  和 NPC 蛋白的相互作用停靠在 NPC 上,接着通过 NPC 运输入核。在核内高浓度的 RanGTP 环境中,importin  $\beta$  结合 RanGTP,使 importin  $\beta$  从复合体上分离,触发 importin  $\alpha$  与内输物质分开<sup>[9]</sup>,然后 importin  $\alpha$  与 importin  $\beta$  超家族中的 Cas 蛋白作用,重新回到胞质,RanGTP/importin  $\beta$  复合体也从核转运到胞质,在内输循环过程中被重复利用(见图 1A)。相反,核内富含亮氨酸的 NES 物质在高浓度 RanGTP 中被 importin  $\beta$  家族中的 CRM1 识别,在核内形成 NES/CRM1/RanGTP 三聚复合体,从 NPC 转运到胞质,这个过程不需要 GTP 水解,到细胞质内在 RanGAP1 和 RanBP1/RanBP2 的作用下水解 GTP,导致三聚体解聚,释放外输物质<sup>[10,11]</sup>(见图 1C)。

核内外较高的 RanGTP 浓度梯度是决定核质转运方向所必需的。线虫的免疫荧光检测<sup>[12]</sup>蛙卵提取物内形成的间期核用计算机模拟和芽殖酵母蛋白 Yrb1P 制成的传感器 YRC(yellow fluorescent protein-Yrb1p-cyan fluorescent protein)检测<sup>[13]</sup>以及诺丹明标记的 Ran 注射果蝇胚胎<sup>[14]</sup>等方法都证明 RanGTP 的浓度核内高于核外。我们用激光共聚焦显示大、小鼠卵生发泡中的 Ran 浓度比胞质中高很多(待发资料)。

RanT24N(24 位的苏氨酸被天门冬氨酸取代)不连接 GTP,对 GDP 的亲合力也较低,它和 importin $\beta$  结合后很少与 importin  $\alpha$  和 P10 相作用,在含有核定位信号的蛋白内输中不起作用,甚至还可能通过结合 importin  $\beta$  而部分抑制内源 Ran 介导的内输过程。RanT24N 还与 RCC1 形成稳定的复合物,抑制其转换活性,阻止 NLS-运输物质在核质内的释放和核外输需要的核内高 RanGTP 浓度的产生,破坏

外输过程中所需因子,包括内输蛋白的循环。如果在核组装的早期加入 RanT24N,会阻止核膜组装完成后的核质转运。RanQ69L(69 位谷氨酸被亮氨酸取代,不能进行 GTP 水解)完全抑制 NLS 介导的核蛋白内输<sup>[15]</sup>。这说明核、质转运过程中 RanGTP/RanGDP 的变换活性是必需的。

所以 RanGTP 和 RanGDP 在细胞中正确的空间定位及其正常的活性变换是确保运输因子携带运输的底物在核质间单向运输所需要的,Ran 是核质转运过程中重要的可溶性转运因子之一。

## 2 Ran 在纺锤体组装中的作用

对许多有机体来说,在有丝分裂开始的时候核膜破裂,胞质和核质的内容物混合,使间期 Ran 系统形成的空间结构消失。在整个有丝分裂过程中 RCC1 连接在染色体上,作为 Ran 的核苷酸互换因子,使染色体周围产生高浓度的 RanGTP。RanGTP 与染色体以依赖于和不依赖于 RCC1 两种形式直接连接,在纺锤体的组装中起重要作用<sup>[14,16,17]</sup>。研究证明,在缺少染色体或中心体的情况下,RanGTP 在减数分裂期的爪蟾卵提取物中也能刺激形成纺锤体样结构<sup>[14,18]</sup>。

通过 RNA 干涉(RNAi)去除线虫二到四细胞胚胎中的 Ran,不能形成正常的纺锤体,85% 的胚胎染色体定位错误,分裂后两个子细胞间经常出现染色体数目的改变,说明着丝粒与有丝分裂纺锤体微管连接错误,使染色体不能平均分配,而中心体的位置和数量正常,星体微管也看不出任何异常。用同样方法抑制 RCC1 的产生,胚胎染色体定位错误,分裂后子细胞染色体数目不相同;使胚胎的 RanGAP 缺失,第一次细胞分裂就出现染色体不正确分配,结果一团没完全解聚的染色体分布在细胞外周。说明 RanGTP/RanGDP 转换对正常纺锤体形成和功能发挥具有决定作用<sup>[12,14]</sup>。

在体外,RanGTP 首先激发微管星体产生,紧接着纺锤体从星体产生,RanGTP 利用某种机制确保染色体定位于纺锤体中心,通过 RCC1 连接到纺锤体微管上,确保染色体的平均分配。在爪蟾卵提取物中加入精子,提供一个微管星体形成和 M 后期核膜组装的模型来研究 Ran 在这一变化过程中的作用。加入 RanQ69L,或通过特异性 RCC1 产生 RanGTP,结果精子中心体形成大微管星体,阻止 NuMA 蛋白从星体到核的重新分布,还阻止染色体

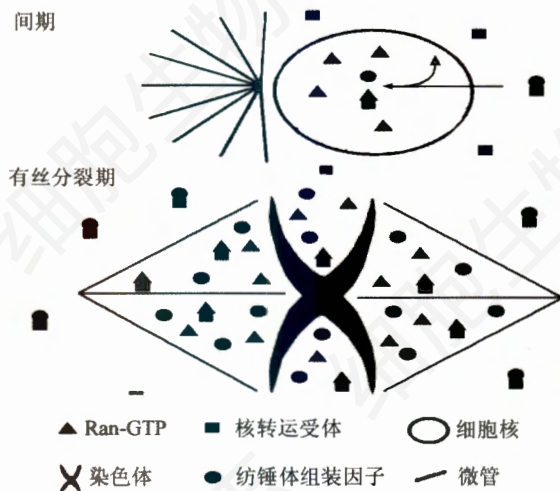


图2 Ran在细胞间期和分裂期对微管的调节<sup>[32]</sup>

解聚。相反,加入RanT24N或用RanBP1对抗RCC1的作用,微管不稳定,星体消失后核不能重建。这说明Ran在控制微管稳定性方面有特殊功能,RanGTP/GDP转换在有丝分裂期向间期转变时微管结构与核组装二者协调变化中可能起一定作用<sup>[19]</sup>。

但RanGTP在提纯的微管蛋白亚基中不能刺激微管聚合,必须有其他更能直接影响微管聚合的因子存在<sup>[20]</sup>。体外实验证明,Ran通过调节核运输受体和核内纺锤体组装因子间的作用来调节纺锤体的组装,importin  $\beta$ 在间期主要位于核膜,当核膜破裂后在细胞内均匀分布,因此认为:importin  $\beta$ 和Ran一起建立一个纺锤体组装的空间信号,在远离染色体没有RanGTP的地方,importin  $\beta$ 能与纺锤体组装因子结合,抑制其纺锤体组装活性,在染色体周围RanGTP与importin  $\beta$ 结合,游离出纺锤体组装因子,被调节的因子包括MAP (microtubule-associated proteins)、TPX2和NuMA,它们能够稳定微管,刺激纺锤体组装<sup>[14,21]</sup>(见图2)。在哺乳动物细胞中Ran相关因子RanBPM在中心体和RanGTP间起连接作用,能在染色体周围刺激微管形成,然后其他细胞因子(如XKLP1)将新形成的微管正末端连接到染色体上,最后由胞质内的动力蛋白、动力蛋白激活蛋白和NuMA组成的复合体将这些连接在染色体上的微管组装成纺锤体<sup>[22-24]</sup>。

因此,RanGTP/GDP在有丝分裂和减数分裂过程中正确的空间分布及其功能转换是纺锤体正确组装及其功能发挥所必须的。

### 3 Ran在核膜破裂和重组中的作用

核膜破裂和重组都是高度复杂的过程,包括染色体、膜、核质和胞质结构的重建。最近认为核膜破裂是由动力蛋白将由G<sub>2</sub>期进入前期的核膜和中心体微管连接,靠动力蛋白的作用使核膜向微管包裹,对面的核膜则由于张力而出现裂孔,造成核膜崩解。在这个过程中,核膜是在一种主动的力量作用下破裂的,这种力量来源于动力蛋白作用的微管,Ran在微管动力活性平衡中起作用,在核膜破裂过程中是否以同样的机制起作用还有待研究<sup>[21,25]</sup>。

关于核组装的分子机制,尤其是核膜囊泡融合目前还了解不够。在线虫胚胎中用双链RNA干涉除去Ran,就不能组装核膜。从爪蟾卵提取物中去掉RCC1或Ran,会完全抑制膜囊泡连接到染色体上以后的所有核膜组装事件。这证明Ran及其GTP/GDP连接形式的转换在核膜囊泡融合过程中是必需的,或者是介导染色体使染色体刺激已连接上的囊泡融合所必需的<sup>[21,26]</sup>。

在爪蟾卵提取物中加入包被了RanGTP的小珠,发现在小珠周围有带NPC的核膜装配,并可对核蛋白进行主动运输,限制右旋糖苷等大分子物质通过。换成野生型RanGDP也形成带有NPC的双层膜样结构,发生蛋白(如纤层蛋白B3)的主动输入,并形成核纤层。添加RCC1能加快核膜形成,而加入RanBP1则抑制核膜囊泡融合,由于该提取物中存在RanGTP/GDP互换因子,可调节不同连接物间的互换,这和上面的结果其实是一致的。RCC1在伪核内高度浓缩,包被了RanQ69L的小珠,连接很少的RCC1,而包被了RanT24N的小珠与RCC1形成稳定的复合物,几乎与野生型Ran一样积聚RCC1,可是两种突变体都不能形成完整的核膜。这说明RCC1是被RanGDP连接到小珠上的,RCC1转换功能的发挥是囊泡融合需要的。而包有谷光苷肽-S-转移酶(GST)或相关GTPase Ras或Rab5的小珠不会吸引任何脂类囊泡<sup>[26,27]</sup>。

在核组装过程中还包括核蛋白与染色质及膜之间的相互作用,其中Ran和RCC1在染色体上的定位,决定核膜以及NPC在染色体表面形成,RanGTP通过将一种核蛋白亚基集中到染色体上,促进核蛋白间的连接,从而使NPC嵌入膜内。RanGTPase循环还是核膜组装过程中构成NPC的蛋白组装NPC所需的<sup>[28]</sup>。

因此,核组装过程是RanGDP首先在染色质的表面浓集,促进核膜囊泡的连接,局部RCC1刺激

产生 RanGTP, 接着 RanGTP 水解导致囊泡融合, 形成带有核孔复合物的核膜。这样的核膜可进行核蛋白等核内外物质的主动转运, 虽然 Ran 小于 40kDa, 可以通过简单的自由扩散进入细胞核, 但实际上 Ran 向细胞核内的运输是依赖于载体 NTF2 (P10)的, 这一核运输因子在细胞质内与 RanGDP 形成复合体, 使 NTF2 与 NPC 的亲合力增加而粘附到 NPC 的胞质面, 然后复合体通过 NPC 转运到细胞核内, 在细胞核内 RCC1 的作用下, RanGDP 变成 RanGTP, 使复合体解聚, 释放出 Ran, 而 Ran 在细胞核内的富集要求核内有大量的连接位点, 很明显, 这主要来源于 importin  $\beta$  家族的转运受体。这样, 细胞核内外就形成很高的 RanGTP 浓度梯度, 确保核质间物质交换能正常进行<sup>[29]</sup>。

#### 4 Ran 在 DNA 复制方面的作用

在去膜精子头加入爪蟾卵提取物的核组装实验中, 精子加入后 40min, DNA 开始复制, 这时加入野生型 Ran(或只有缓冲液), 40min 后可形成带有 DNA 聚合酶辅助因子 PCNA 和生物素-dUTP 的完整核纤层, 表明 S 期正在进行。在精子加入 40min 时再加入等量的 RanQ69L 或 RanT24N, 核蛋白内输会受到抑制, 但 DNA 仍继续复制。加入 $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{dCTP}$ 可进一步定量测定 DNA 的合成。RanQ69L 和 RanT24N 分别在核组装反应开始时加入, 都没有 DNA 复制, 加入野生型 Ran 只有很小的促进作用。如果分别在组装后 40min 加入, 虽然都有部分抑制作用, 但 DNA 复制仍继续进行, 这说明它们只是对核复制启动后的某些方面有影响。因此指出, 在 DNA 复制开始后破坏 RanGTP/GDP 的正常变换, 会减慢或部分抑制 DNA 复制。为了进一步研究 Ran 在核组装和 DNA 复制中的作用, 在爪蟾提取物中加入抗 Ran 的抗体后 4 $^{\circ}\text{C}$ 培养 1h, 用以破坏其中的内源 Ran 蛋白, 这样处理后加入精子头, 形成小的长形核, 只有很弱的纤层蛋白和 PCNA 染色, 没有 DNA 复制。抗 Ran 的抗体产生的影响在加入 RanGDP 后完全恢复, 而加入 RanGTP 则恢复较少, 表明 RanGDP 是有 DNA 复制能力的核组装特殊需要的<sup>[15]</sup>。

在所有真核细胞中, 染色体的复制和分裂受严格控制, 在每一个细胞周期中 DNA 只能进行一次复制。细胞通过调节复制复合体前体(prereplication complexes, pre-RCs)的组装来对其控制, 在 G<sub>1</sub> 期,

ORC、Cdc6 和 Cdt1 按先后顺序连接到染色质上形成 pre-RC, 接着 Cdc6 和 Cdt1 将 MCM 解旋酶(一种基本的 DNA 复制启动因子)连接到 pre-RC 上, 依赖于周期蛋白的激酶2(cyclin-dependent kinases 2, cdk2)活性在 G<sub>1</sub>-S 期转变过程中通过 pre-RC 启动 DNA 复制, 还阻止过多 pre-RC 的形成, 从而保证在每个周期只进行一次 DNA 复制, RanGTP 参与 MCM 到 pre-RCs 的连接过程, 调节 DNA 的复制过程。当胞质中 RanGTP 浓度升高 ORC 和 Cdc6 与染色质正常连接, 但 MCM 到 pre-RCs 的连接受强烈抑制。在细胞核或高度浓缩的核提取物中, 当 RanGTP 的总浓度下降 MCM 很快被连接到 pre-RCs, 在这种条件下, DNA 会进行多次复制。因此可以推断, 在核组装前较低的 RanGTP 浓度使 pre-RCs 在染色质上形成, 而细胞核形成后, 核内较高的 RanGTP 浓度阻止 pre-RCs 的形成, 抑制 DNA 的再复制<sup>[30]</sup>。在爪蟾卵周期变化过程中, 证明高 RanGTP 浓度和 cdk2 激酶活性促进 DNA 复制启动因子-MCM 解旋酶与 exportin-1/Crm1 形成复合体而失去活性。在较低 RanGTP 浓度下, 游离的 MCM 能与 S 期染色体结合, 启动 DNA 复制。这样, 细胞周期中 RanGTP 浓度变化对确保每一周期只进行一次 DNA 复制起重要作用<sup>[31]</sup>。Cdk2 激酶活性对 RanGTP 抑制过程起重要的调节作用, 当 Cdk2 的活性被抑制, 在胞质中高浓度的 RanGTP 不再阻止 MCM 到 pre-RCs 的连接, 同样, 如果 Cdk2 激酶无活性, 在细胞核内 MCM 也可以被连接到 pre-RCs。这证明 RanGTP 浓度变化不足以阻止 MCM 连接到 pre-RCs, 而是受 Cdk2 活性调节的, 当 Cdk2 有活性, RanGTP 有作用; Cdk2 无活性, RanGTP 就不再起作用<sup>[30]</sup>。在正常的细胞周期中 Pre-RCs 只在有丝分裂的晚期和 G<sub>1</sub> 期的早期当 Cdk2 活性低时形成, 当细胞核中 Cdk2 被激活后它的形成则受到抑制<sup>[31]</sup>。

#### 5 Ran 在 RNA 的转录、加工和运输中的作用

几乎所有 RNA 在核内产生, 并且必须外运到细胞质, 才能在细胞新陈代谢中起作用。Xpo-t 和 CRM1 都是 importin- $\beta$  转运受体的大家族成员。Xpo-T 直接与它外运的 tRNA 连接, 特殊的蛋白连接物 CRM1 连接到象 snRNA、特定的细胞 mRNA、未被剪接的 HIV-1 的逆转录 mRNA 和 rRNA 上, 介导被运输物质与核孔复合物间的相互作用。另一种不同

类型的 RNA 外输受体 TAP(或 NXF1)与它的底物连接不直接需要 RanGTP, 在大多数 mRNA 外输中起作用。和其他被 CRM1 外运的蛋白质一样, 这些 RNA 外输连接物有特殊的核外输信号。许多在核加工过程中与 RNA 连接的蛋白质与 RNA 一起离开核, 而且必须重新输入核内, 被循环应用。这些穿梭着的转运因子的内输通常也需要 importin- $\beta$  样内输受体。因此, RanGTP 在 RNA 外输中直接或间接地起作用。

酵母的 tRNA 除位于反密码子环内的核苷酸修饰和 3' 端 CCA 核苷酸修复之外, 所有的 tRNA 的修饰和加工发生在核内, 所以说要产生有活性的 tRNA 必须向核内输入很多的加工和修饰酶类, 这些酶的核内输就可能依赖于 RanGTP 剃度。缺乏 Ran 通路的细胞中会出现带有内含子, 但 5' 和 3' 端成熟, 所有需要修饰的核苷酸都经过修饰的 tRNA 前体增加的情况, 这可能是由于除起剪接作用的核酸内切酶外, 在缺乏蛋白内输的情况下核内能提供足够的酶使 tRNA 持续产生; 也可能是除起剪接作用的核酸内切酶外, tRNA 加工酶的核内输不依赖 Ran。

酵母中核糖体蛋白进入细胞核内与 rRNA 前体组成核糖体前体, 然后以核糖体蛋白复合物(RNP)的形式携带 rRNA 进入细胞质, 因此, rRNA 的形成需要蛋白质不断地向核内运输。酵母细胞每分钟产生约 2000 个核糖体, 不考虑将编码核糖体蛋白的 mRNA 转移到细胞质以及 rRNA 前体和核糖体蛋白 mRNA 转录需要的 RNA 聚合酶 I、II、III 在核中定位时 Ran 的作用, RanGTP 和 RanGDP 之间的循环变换次数需要每分钟多于  $10^5$ 。

Ran 及其调节物在 mRNA 中的作用不仅是将 RNA 外输入细胞质, 在酵母 RanGAP 和 RanGEF 发生突变时 mRNA 的代谢过程出现许多加工缺陷, 反映出 mRNA 加工对 Ran 途径的内输过程的需要<sup>[32]</sup>。

### 参 考 文 献

- [1] BISCHOFF F R, PONSTINGL H. Catalysis of guanine nucleotide exchange on Ran by the mitotic regulator RCC1 [J]. *Nature*, 1991a, **354**(6348): 80 - 82.
- [2] BISCHOFF F R. Mitotic regulator protein RCC1 is complexed with a nuclear ras-related polypeptide [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1991b, **88**(23): 10830 - 10834.
- [3] DRIVAS G T, SHIH A, COUTAVAS E, *et al.* Characterization of four novel ras-like genes expressed in a human teratocarcinoma cell line [J]. *Mol Cell Biol*, 1990, **10**(4): 1793 - 1798.
- [4] MATSUMOTO T, BEACH D. Premature initiation of mitosis in yeast lacking RCC1 or an interacting GTPase [J]. *Cell*, 1991, **66**(2): 347 - 360.
- [5] LOUNSBURY K M, BEDDOW A L, MACARA I G. A family of proteins that stabilize the Ran/TC4 GTPase in its GTP-bound conformation [J]. *J Biol Chem*, 1994, **269**(15): 11285 - 11290.
- [6] REN M, COUTAVAS E, D'EUSTACHIO P, *et al.* Effects of mutant Ran/TC4 proteins on cell cycle progression [J]. *Mol Cell Biol*, 1994, **14**(6): 4216 - 4224.
- [7] KLEBE C, BISCHOFF F R, PONSTINGL H, *et al.* Interaction of the nuclear GTP-binding protein Ran with its regulatory proteins RCC1 and RanGAP1 [J]. *Biochemistry*, 1995, **34**(2): 639 - 647.
- [8] BISCHOFF F R, KREBBER H, SMIRNOVA E, DONG W, *et al.* Co-activation of RanGTPase and inhibition of GTP dissociation by Ran-GTP binding protein RanBP1 [J]. *EMBO J*, 1995, **14**(4): 705 - 715.
- [9] REXACH R, BLOBEL G. Protein import into nuclei: association and dissociation reactions involving transport substrate, transport factors, and nucleoporins [J]. *Cell*, 1995, **83**(5): 683 - 692.
- [10] MELCHIOR F, GUAN T, YOKOYAMA N, *et al.* GTP hydrolysis by Ran occurs at the nuclear pore complex in an early step of protein import [J]. *J Cell Biol*, 1995, **131**(3): 571 - 581.
- [11] YONEDA Y, HIEDA M, NAGOSHI E, *et al.* Nucleocytoplasmic protein transport and recycling of Ran [J]. *Cell Struct Funct*, 1999, **24**(6): 425 - 433.
- [12] BAMBA C, BOBINNEC Y, *et al.* The GTPase Ran regulates chromosome positioning and nuclear envelope assembly *in vivo* [J]. *Curr Biol*, 2002, **12**(6): 503 - 507.
- [13] MACARA I G. Why FRET about Ran? [J]. *Dev Cell*, 2002, **2**(4): 379 - 380.
- [14] TRIESELNANN N, WILDE A. Ran localizes around the microtubule spindle *in vivo* during mitosis in *Drosophila* embryos [J]. *Curr Biol*, 2002, **12**(13): 1124 - 1129.
- [15] HUGHES M, ZHANG C, AVIS J M, *et al.* The role of the ran GTPase in nuclear assembly and DNA replication: characterisation of the effects of Ran mutants [J]. *J Cell Sci*, 1998, ( Pt 20): 3017 - 3026.
- [16] BILBAO-CORTES D, HETZER M, LANGST G, *et al.* Ran binds to chromatin by two distinct mechanisms [J]. *Curr Biol*, 2002, **12**(13): 1151 - 1156.
- [17] KAHANA J A, CLEVELAND D W. Beyond nuclear transport. Ran-GTP as a determinant of spindle assembly [J]. *J Cell Biol*, 1999, **146**(6): 1205 - 1210.
- [18] CARAZO-SALAS R E, GUARGUAGLINI G, GRUSS O J, *et al.* Generation of GTP-bound Ran by RCC1 is required for chromatin-induced mitotic spindle formation [J]. *Nature*, 1999, **400**(6740): 178 - 181.
- [19] ZHANG C, HUGHES M, CLARKE P R. Ran-GTP stabilises microtubule asters and inhibits nuclear assembly in *Xenopus* egg extracts [J]. *J Cell Sci*, 1999, **112**( Pt 14): 2453 - 2461.
- [20] WILDE A, ZHENG Y. Stimulation of microtubule aster formation and spindle assembly by the small GTPase Ran

- [J]. *Science*, 1999, **284**(5418): 1359 — 1362.
- [21] HETZER M, GRUSS O J, MATTAJ I W. The Ran GTPase as a marker of chromosome position in spindle formation and nuclear envelope assembly [J]. *Nat Cell Biol*, 2002, **4**(7): E177 — 184.
- [22] NAKAMURA M, MASUDA H, HORII J, *et al.* When overexpressed, a novel centrosomal protein, RanBPM, causes ectopic microtubule nucleation similar to gamma-tubulin [J]. *J Cell Biol*, 1998, **143**(4): 1041 — 1052.
- [23] VERMOS I, RAATS J, HIRANO T, *et al.* Xklp1, a chromosomal *Xenopus* kinesin-like protein essential for spindle organization and chromosome positioning [J]. *Cell*, 1995, **81**(1): 117 — 127.
- [24] KAHANA J A, CLEVELAND D W. Beyond nuclear transport. Ran-GTP as a determinant of spindle assembly [J]. *J Cell Biol*, 1999, **146**(6): 1205 — 1210.
- [25] AITCHISON J D, ROUT M P. A tense time for the nuclear envelope [J]. *Cell*, 2002, **108**(3): 301 — 304.
- [26] ZHANG C, CLARK P R. Chromatin-independent nuclear envelope assembly induced by Ran GTPase in *Xenopus* egg extracts [J]. *Science*, 2000, **288**(5470): 1429 — 1432.
- [27] RYAN K J, MCCAFFERY J M, *et al.* The Ran GTPase cycle is required for yeast nuclear pore complex assembly [J]. *J Cell Biol*, 2003, **160**(7): 1041 — 1053.
- [28] WALTHER T C, ASKJAER P, *et al.* RanGTP mediates nuclear pore complex assembly [J]. *Nature*, 2003, **424**(6949): 689 — 694.
- [29] RIBBECK K, LIPOWSKY G, KENT H M, *et al.* NTF2 mediates nuclear import of Ran [J]. *EMBO J*, 1998, **17**(22): 6587 — 6598.
- [30] BLOW J J. A new role for Ran in ensuring precise duplication of chromosomal DNA [J]. *Cell*, 2003, **113**(1): 2 — 4.
- [31] YAMAGUCHI R, NEWPORT J. A role for Ran-GTP and Crm1 in blocking re-replication. *Cell*, 2003, **113**(1): 115 — 125.
- [32] HOPPER A K, 3. Role of Ran GTPase in RNA processing and Export of RNA from the Nucleus to the cytosol: Insights from Budding Yeast [M]// LUND E, DAHLBERG JE. Direct and indirect Roles of RanGTP in Nuclear Export of RNAs in Higher Eukaryotes [M]// Rush M, D'Eustachio P. The small GTPase Ran, Kluwer Academic Publishers, Boston Hardbound. ISBN 0-7923-7510-6, 2001:33-83 and 97.

## GTPase Ran and Its Biological Function

CAO Yun Kao<sup>1,2</sup>, ZHANG Gui Xue<sup>2</sup>, CHEN Da Yuan<sup>1</sup>, SUN Qing Yuan<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>State Key Laboratory of Reproductive Biology, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China;

<sup>2</sup>North-Eastern Agricultural University, Haerbin 100030, China )

**Abstract:** GTPase Ran, which binds to and hydrolyzes GTP, is a critical regulator of many metabolic pathways. It plays roles in many biological aspects of eukaryotes, such as DNA replication, RNA transcription and processing/modification, nucleocytoplasmic transport of RNA and proteins, the entry into and out of mitosis or meiosis, the spindle assembly, the correct chromosome segregation, the nuclear envelope breakdown and re-assembly during the mitosis and meiosis.

**Key words:** Ran; DNA; RNA; spindle nuclear envelope

This work was supported by grants from the Special Funds for Major State Basic Research Project of China (No.G199055902), Knowledge Innovation Project of the Chinese Academy of Sciences (No.KSCX2-SW-303), and the Outstanding Young Scientists from the National Natural Science Foundation of China (No.30225010)

\*Corresponding author, E-mail: sunqyl@yahoo.com, sunqy@panda.ioz.ac.cn