

# ADP 核糖基化因子的结构及其功能机制

王 磊 宿红艳\* 王昌留 穆春华<sup>1</sup>

(鲁东大学生命科学学院, 烟台 264025; <sup>1</sup> 国家玉米改良中心济南分中心, 济南 250100)

**摘要** ADP 核糖基化因子(ADP-ribosylation factor, ARF)是 Ras 基因超家族的成员, 它们是大小约 20 kDa 的鸟嘌呤核苷酸结合蛋白。ARF 最初发现作为霍乱毒素 ADP-核糖转移酶的辅助因子共同作用于 G 蛋白  $\alpha$  亚基, 促使其 ADP-核糖基化。近来人们发现 ARF 还参与囊泡运输、调节磷脂酶 D 的活性, 在细胞内物质运输和信号转导过程中具有更加重要的生理功能。现就 ARF 的发现、分类、结构和功能、表达以及生理功能作一综述。

**关键词** ADP 核糖基化因子; 结构; 功能

细胞内物质转运对细胞的生存和生长至关重要, 它能促进细胞膜、溶酶体等的形成, 使细胞能够分泌蛋白质、激素和神经递质并通过胞吞作用摄取外源分子。真核细胞大分子与颗粒性物质的跨膜运输是通过将它们包裹在脂双层膜围绕的囊泡中进行囊泡转运, 囊泡转运受多种调节分子控制, 其中就有 ADP 核糖基化因子(ADP-ribosylation factor, ARF)<sup>[1]</sup>。ARF 在

序列和结构上属于 Ras 基因超家族的成员。Ras 基因超家族十分庞大, 包含上百种大小为 20~30 kDa 的鸟嘌呤核苷酸结合蛋白, 虽然没有一致的分类方法, 通常 Ras 基因超家族分为 6 个基因家族, 它们分别是: Ras、Rho、Rab、Ran、Rad 和 ARF 家族(表 1)<sup>[2]</sup>。Ras 基因超家族成员参与许多细胞间的生理过程, 如信号转导和跨膜运输等<sup>[3]</sup>。本文就对 ARF 家族成员做一综述。

表 1 Ras 基因超家族<sup>[2]</sup>

家族	在人类中的成员数目	成员	功能
Ras	16	H-Ras, K-Ras, M-Ras, N-Ras, R-Ras, Rheb, RalA, RalB, Rap1, Rap2, TC21, Rin, Rit	控制细胞周期, 调节程序性死亡和胞外分泌
Rho	18	RhoA, RhoB, RhoC, RhoD, RhoE, RhoG, RhoH, Rac1, Rac2, Rac3, cdc42, Rnd1, Rnd2, RIF, CHP, WRCH1, TC10	控制细胞周期, 调节程序性死亡, 调节肌动蛋白细胞骨架重装
Rab	63	Rab1~Rab63	调节囊泡转运
Rad	6	Rad, Gem, Kir, Rem1, Rem2, Ges	尚不清楚
Ran	1	Ran	调节核内运输
ARF	6	ARF1, ARF2, ARF3, ARF4, ARF5, ARF6	调节囊泡转运

## 1 ARF 的发现

人们最初是通过霍乱毒素认识 ARF 的。上世纪 80 年代, 人们开始发现一些细胞内的因子可以增强霍乱毒素对 G<sub>s</sub> 蛋白  $\alpha$  亚基的 ADP-核糖基化作用(ADP-ribosylation)。Kahn 等<sup>[4]</sup>于 1984 年首先纯化出这种与细胞膜有关的蛋白质, 并将其命名为 ADP 核糖基化因子。ARF 是霍乱毒素的变构激活剂, 其结合 GTP 被激活成为活化态, 结合 GDP 成为失活态。后来人们在酵母和哺乳动物中发现 ARF 是构成高尔基体转运体系的组分, 认为它参与了囊泡转运过程<sup>[5]</sup>。上世纪 90 年代初期随着分子生物学的发展, ARF 各种基因和基因产物陆续被发现。值得提及的是, 从

酵母等简单的真核生物中克隆得到 ARF 基因, 这使原本在脊椎动物中较为复杂的信号转导和囊泡转运的研究变得简单和直观, 借助研究这些低等生物的缺陷突变体就可以深入了解 ARF 的作用机制。

## 2 ARF 的分类

ADP 核糖基化因子是一个多基因家族。在哺乳动物中至少有 6 种 ARF 基因, 根据 ARF 的大小、氨

收稿日期: 2007-04-10 接受日期: 2007-06-11

国家自然科学基金(No.2004AA626050)、鲁东大学校科研基金(No.20063301)资助项目

\* 通讯作者。Tel: 0535-6695961, E-mail: suhongyan66@126.com

氨基酸序列以及内含子/外显子的排列, ARFs 可以分为 3 类: 类别 I, 包括 ARF1、ARF2 和 ARF3, 由 181 个氨基酸组成, 它们之间的相似性大于 96%, 它们的基因组中内含子和外显子的排列方式是相同的, 都是由 4 个外显子和 3 个内含子组成的; 类别 II, 包括 ARF4 和 ARF5, 由 180 个氨基酸组成, 二者的相似性为 90%, 两种蛋白质相应的基因都是由 6 个外显子和 5 个内含子组成的; 类别 III, 只含 ARF6, 由 175 个氨基酸组成, 其氨基酸组成与其他的 ARF 差别很大, 只有 64%~69% 的相似性<sup>[6]</sup>。系统进化分析也支持该分类。原核表达的 6 种哺乳动物 ARF 都能促进霍乱毒素的 ADP-核糖基化作用, 但它们达到最大活性所需要的磷脂和 GTP 的浓度有所不同。人们在非哺乳动物中也发现了 ARF 的分类, 已经从酵母、线虫和果蝇中分离出了 3 种 ARF 分别属于 ARF 家族的 3 种类型。

除此之外, 还有一类与 ARF 亲缘关系稍远的成员, 它们是类 ARF 蛋白 (ARF-like protein, ARL)。ARL 在结构上同 ARF 相似, 但它们既不能象 ARF 一样催化霍乱毒素的活性, 也不能象 ARF 一样恢复酵母缺失

突变体活性; ARL 不同于 ARF 还在于 ARL 有较高的 ATP 酶活性<sup>[7]</sup>。

### 3 ARF 的结构与功能

#### 3.1 ARF 的结构

ARF 在生物的进化过程中是高度保守的, 在 N 末端第 2 位的甘氨酸作为十四烷基化位点在各 ARF 中是高度保守的。另外, GTP 结合和解离对 ARF 的活性起着决定性的作用, 所有的 ARF 都含有与 GTP 结合 (DVGG, NKQD 和 CAT) 和与 GTP 解离 (GXXXXGKT) 有关的特征序列<sup>[8]</sup> (图 1)。这些特征序列在哺乳动物的 ARF 中是一致的, 在低等真核生物酵母和 *Giardia* 的 ARF 中大部分是保守的, 只有一少部分发生替代。通过对 *ras* 致癌基因产物的突变体和晶体结构研究分析表明 GXXXXGKT 区域 (人 ARF1 的第 24~30 位氨基酸) 与 GTP 解离有关。在正常的 *ras* 基因中, 第 3 位上的甘氨酸对 GTP 解离有着重要的决定作用, 如果将其换成其他氨基酸将会极大地抑制 GTP 的解离。而在所有的 ARF 中, 该位置上的氨基酸为天冬氨酸, 这与 ARF 没有 GTP 酶活性相一致。DVGG 区

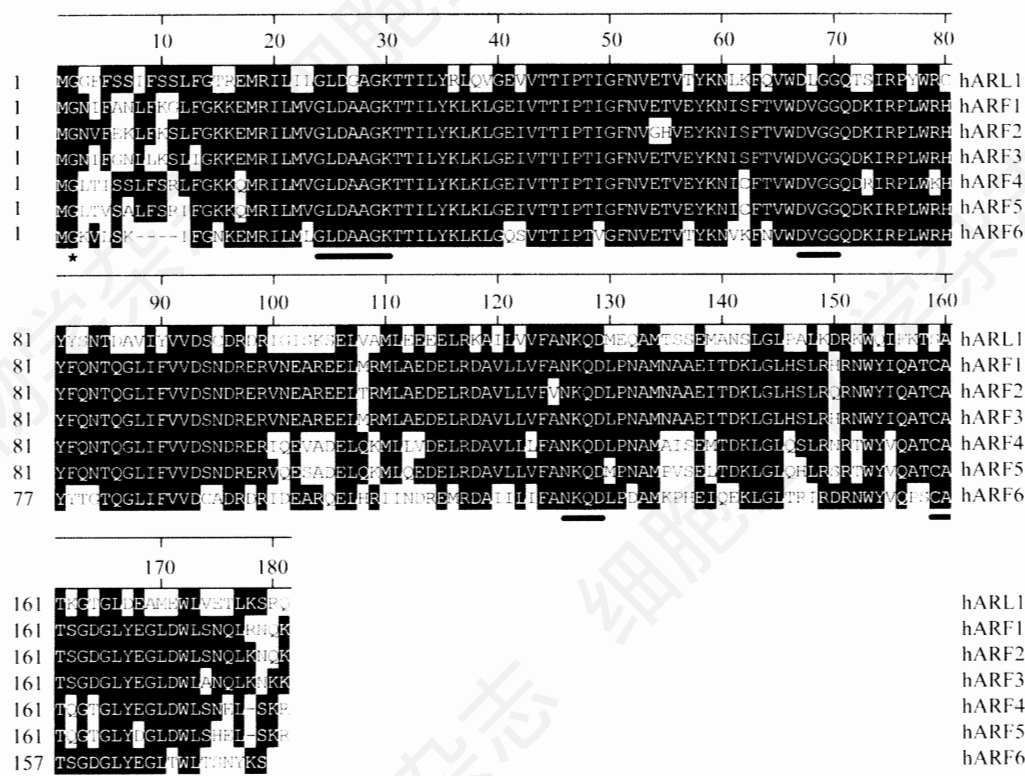


图1 人的 ARL1 和 6 种 ARF 的氨基酸序列结构<sup>[8]</sup>

氨基酸序号标于序列的上部, 一致的氨基酸位点用黑影表示, (—) 表示优化序列比对时在序列间引入的空隙。4 个被认为与鸟嘌呤结合 (DVGG, NKQD, CAT) 和解离 (GXXXXGKT) 有关的同源序列用下划线表示, 与 N 末端十四烷基化有关的保守位点 Gly-2 用星号表示。

域(在人 ARF1 中是 67~70 位氨基酸)被认为参与调节 GTP 结合  $Mg^{2+}$ , 异三聚体 G 蛋白的  $\alpha$  亚基上常存在该序列。NKQD 序列(人 ARF1 的第 126~129 位氨基酸)被认为参与结合鸟嘌呤环。靠近羧基端的 CAT (人 ARF1 的第 158~161 位氨基酸)也参与鸟嘌呤的结合, 与 DVGG 序列相同, 在 *ras* 基因超家族中, 更接近 G 蛋白的  $\alpha$  亚基。

以上的这些特征序列, 使 ARF 在结构上更接近于异三聚体 G 蛋白的  $\alpha$  亚基。并且由于 ARF 存在于最原始的真核生物 *Giardia lamblia* 中, 而在 *Giardia lamblia* 中显然不存在  $G_{\alpha}$  亚基, 因此人们推测 ARF 的出现早于 G 蛋白, ARF 可能是鸟嘌呤结合蛋白最原始的类型<sup>[9]</sup>。

ARF 的空间结构也是高度保守的, 有其突出的特征。所有的 ARF 的 N 末端有一个  $\alpha$  螺旋, 并且都具有两个相同的效应结构域(effector domain regions) Switch 1 和 Switch 2, 它们之间有两个  $\beta$  折叠结构连接, 我们称之为 interswitch。当 N 末端的  $\alpha$  螺旋发生延伸, interswitch 区域中两个氨基酸残基随之移动, 进而实现了 ARF 由非活性构象向活性构象的转换, 这两种不同的构象的转换可以使 ARF 分别与 GDP 和 GTP 结合(图 2)<sup>[10]</sup>。当 GTP 与 ARF 结合后, ARF 蛋白 N 末端的  $\alpha$  螺旋可以插入内质网膜内, GTP-ARF 复合体与内质网膜结合, 从而启动了外被蛋白的装配<sup>[11,12]</sup>。

### 3.2 ARF 结构和功能的研究

人们对 ARF 结构和功能的研究大部分是通过研究突变体实现的, 通过突变体和天然蛋白质之间的比较可以精确了解 ARF 结构和功能的关系, 其中最著名的是对酵母双突变体的研究。在酵母中 ARF 是一个重要的蛋白质, 被 *ARF1* 和 *ARF2* 两个基因编码。破坏 *ARF1* 会产生的 *arf1* 突变体有 3 种表型: 生成缓慢、对寒冷敏感和对氟化物的敏感度升高; 破坏 *ARF2* 产生的 *arf2* 突变体没有明显的表型; 而将两种基因同时突变产生的双突变体是致死的。*ARF1* 和 *ARF2* 两个基因突变体的表型的差异可能是由于两种基因表达水平的不同所致, *ARF1* 占酵母细胞中 ARF 总量的 90%, *ARF2* 仅占 10%。酵母 ARF 的过渡表达也能造成酵母细胞生成迟缓和停滞<sup>[13]</sup>。

Zhang 等<sup>[14]</sup>也曾在 GTP 结合和解离特征序列上引入突变, 以研究它们对 ARF 功能的影响。将 ARF1 第 71 位的谷氨酰胺替换成亮氨酸, 导致解离 GTP 功能的丧失, ARF 从而持续保持活性。ARF1 在老鼠肾

脏细胞中的过度表达抑制了高尔基体的运输和细胞的内存作用。而在组织培养的 HeLa 细胞中过度表达, 则抑制了内质网向高尔基体的转运<sup>[15]</sup>。这种 ARF 活性持续表达突变造成的抑制现象, 可能是由于无活性 ARF 产生受到抑制从而导致囊泡无法与细胞膜融合而逐渐累积造成的。

以往的研究表明 ARF N 末端的十四烷基化对 ARF 发挥作用是紧密联系的。如图 3 所示, 在细胞质中, GDP-ARF 复合体 N 末端的  $\alpha$  螺旋是隐藏在分子表面的疏水口袋中的, 十四烷基化便发生在 N 末端的  $\alpha$  螺旋上。当十四烷基插入细胞膜中, ARF 被鸟嘌呤核苷酸交换因子(guanine nucleotide exchange factor, GEF)激活, 结合的 GDP 转化为 GTP, ARF 的空间构象发生改变, 十四烷基化的  $\alpha$  螺旋转移到疏水口袋外, 并通过  $\alpha$  螺旋和十四烷基的疏水残基紧密的结合在细胞膜上。而 GTP 酶活化蛋白(GTPase activating protein, GAP)能逆转整个过程, 使 ARF 又回到细胞质中<sup>[16]</sup>。尽管在一些离体实验中 N 末端没有十四烷基化的 ARF 依然能被活化, 但研究表明十四烷基化对 ARF 的功能非常重要。最近, 人们将大肠杆菌的 ARF1 和酵母的 N-十四烷基转移酶进行重组产生了一个新类型 myr-rARF1, 用于评估十四烷基化的影响。将 rARF1(未十四烷基化的)同 myr-rARF1 进行比较发现, 改造过的 myr-rARF1 能极大的影响鸟嘌呤核苷酸的交换。人们还得出结论: myr-rARF1-GDP 复合体同磷脂的联系不象 myr-rARF1-GTP 复合体那么密切, 因为 myr-rARF1-GDP 复合体只需要通过十四烷基酯发挥作用, 而 myr-rARF1-GTP 除了依赖脂肪酸外还要依靠 N 端两亲性的螺旋结构<sup>[17]</sup>。因此, N 端的十四烷基化对 ARF-GTP 甚为重要。

ARF 家族之间序列的差别主要集中在 N 末端的区域, 而且哺乳动物各种类型的 ARF 在进行同源比对时 ARF6 产生的空隙也是在 N 末端(图 1)。Kahn 等<sup>[18]</sup>研究表明 ARF 的 N 末端序列对维持其活性至关重要。没有前 17 个氨基酸的 ARF1 的突变体不能激活霍乱毒素对  $G_{\alpha}$  亚基的 ADP-核糖基化作用, 也不能挽救酵母 *arf1 arf2* 致死双突变体, 在鸟苷酸交换的性质上也表现出与天然蛋白质的不同。ARL1 是 ARF 的类似物, 结构上同 ARF 很接近, 但只有 GTP 酶活性而没有 ARF 活性。然而, Kahn 等把人 ARF1 的前 18 个氨基酸和果蝇 ARL1 的 19~180 位的氨基酸重组产生了重组体 ARF18/ARL, 结果发现该

重组体可以激活霍乱毒素 ADP-核糖基转移酶的活性。

当人们发现 ARF 有活化磷脂酶 D(PLD)的性质之后<sup>[19]</sup>,关于其激活霍乱毒素和 PLD 的必需结构的研究也随之展开。该研究是建立在 ARF1 和 ARL1 融合蛋白基础之上的,将 ARF1 的前 73 个氨基酸和 ARL1 的前 73 个氨基酸互换产生了重组蛋白质 rF73/L 和 rL73/F,然后进行霍乱毒素和 PLD 体外活性实验。结果表明 ARF1 可以同时活化霍乱毒素和 PLD,而 ARL1 不激活霍乱毒素只轻微激活 PLD。ARL1 的前 73 个氨基酸换成 ARF 后产生的 rF73/L 重组体不能激活霍乱毒素,却可以象 ARF 一样激活 PLD;而 rL73/F 则可以轻微激活 PLD 与强烈激活霍乱毒素。因此,ARF 激活 PLD 和霍乱毒素的活性区域应分别在其 N 末端和 C 末端<sup>[20]</sup>。

## 4 ARF 的表达

### 4.1 ARF 在各组织中的表达

ARF 广泛存在于各类物种中,ARF 的基因已经从不、老鼠、鸡、果蝇、酵母以及植物中分离出来,基因的表达情况也随之展开。

人们利用哺乳动物 ARF1、ARF2、ARF3、ARF4、ARF5 和 ARF6 的特异探针同脑、心、肺、肝、脾、肾等组织及培养的细胞进行杂交,结果在所有被检测组织和细胞中都有强的杂交信号<sup>[21,22]</sup>。

Lee 等<sup>[23]</sup>研究了果蝇 ARF 的表达情况,结果表明果蝇的三类 ARF 基因 ARFI、ARFII 和 ARFIII 在果蝇的全身都表达,其中 ARFI mRNA 浓度在果蝇腿部较高一些,而 ARFIII 的 mRNA 浓度在果蝇头部较高一些。

Saitoh 等<sup>[8]</sup>用简并引物在真涡虫(planarians)中分离出一个新的 ARF 基因,其编码的氨基酸的 N 末端有独特的序列。Northern 杂交表明,在成虫和再生各发育阶段都有 ARF 的强烈表达,ARF 的 mRNA 水平没有明显变化。他们又采用整体原位杂交分析真涡虫的空间表达图式,发现 ARF 在真涡虫身体的各个部位都表达。

我们从头索动物文昌鱼这一重要的进化模式动物中分离到了 ARF 基因——AmphiARF,其推导的氨基酸序列中存在着与 GTP 结合和解离有关的保守序列等 ARF 家族成员的典型特征。然而,在 AmphiARF 的 C 末端有一个 46 个氨基酸的突出部分,这是所有已知 ARF 成员中所没有的。因此,AmphiARF 有可

能是 ARF 家族中的一个新成员,系统进化分析也证明了这一点。AmphiARF 的 C 端突出部分很可能是在头索动物和脊椎动物发生趋异进化之后加上去的。Northern 杂交结果都表明 AmphiARF 在被检测的肝盲囊、后肠、精巢、卵巢、鳃、肌肉和脊索中都表达,这与 ARF 参与体内囊泡转运等基本生物学过程相一致<sup>[24]</sup>。

由上述可见各类 ARF 无论在低等生物还是在高等生物中都是广泛表达的,证明了该基因家族保守的特性。

### 4.2 激素和发育时期对 ARF 的表达调控

尽管 ARF 基因在哺乳动物组织中是广泛表达的,但它们可以随发育时期变化并受激素诱导。Tsai 等<sup>[25]</sup>研究发现,在产后第 2 天的大鼠的脑中的 ARFI 与 ARFII 的浓度基本相同,到产后第 10 天 ARFII 的浓度比 ARFI 明显增多,在成体的脑中主要是 ARFII 表达。为了判断总 ARF 的活性在发育过程中是否有改变,将脑表层物质通过凝胶层析后进行霍乱毒素催化的 ADP-核糖基化实验,结果表明大鼠产后第 2 天到第 16 天,ARF 的活性极大增加。

ARF 活性和免疫原性的改变,同样也反映了 ARF mRNA 的改变。不同发育时期大鼠脑的 RNA 杂交结果表明,在产后第 2 天到第 27 天,ARF3 mRNA 的浓度呈上升趋势,而 ARF2 和 ARF4 mRNA 的浓度呈下降趋势,ARF1、ARF5 和 ARF6 无明显变化。免疫反应证明上述的 ARFI 是 ARF1 基因的产物;ARFII 是 ARF3 的产物,mRNA 的表达模式同其相应的翻译产物的表达模式是一致的<sup>[26]</sup>。

激素也影响 ARF 的表达。Duman 等<sup>[27]</sup>的研究结果表明肾上腺酮可以增加 ARF1 和 ARF3 的 mRNA 的水平,并能加强大鼠大脑皮层 ARF 的免疫原性。如果将鼠身体两侧的肾上腺切除,ARF1 和 ARF3 的 mRNA 水平随之下降,而给术后的大鼠补加肾上腺酮则消除上述的影响。

## 5 ARF 的生理功能

### 5.1 ARF 与核糖基化作用

在体外实验中,ARF 作为霍乱毒素 ADP 核糖基化转移酶的辅助因子共同作用与 G 蛋白的  $\alpha$  亚基,促使其核糖基化。

细菌毒素对 G 蛋白有修饰作用。霍乱毒素具有 ADP-核糖基转移酶活性,进入细胞在 ARF 的帮助下催化胞内  $\text{NAD}^+$  的 ADP 核糖基共价结合到  $G_s$  的  $\alpha$  亚基

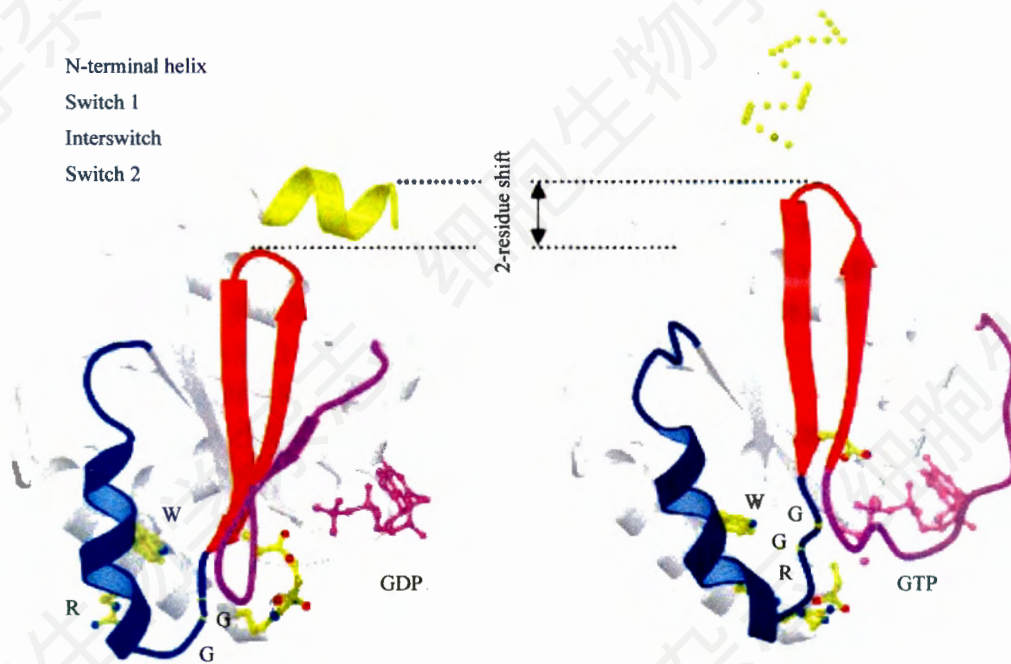


图2 ARF的三维结构<sup>[10]</sup>

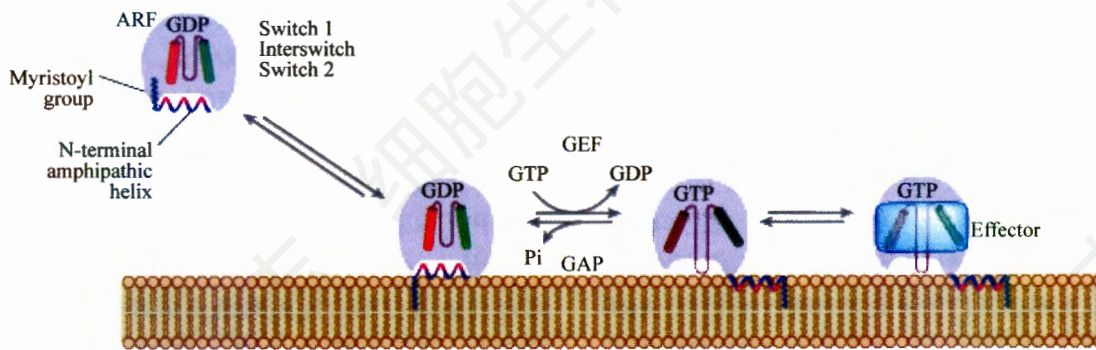


图3 ARF的活化与N端十四烷基化的关系<sup>[16]</sup>

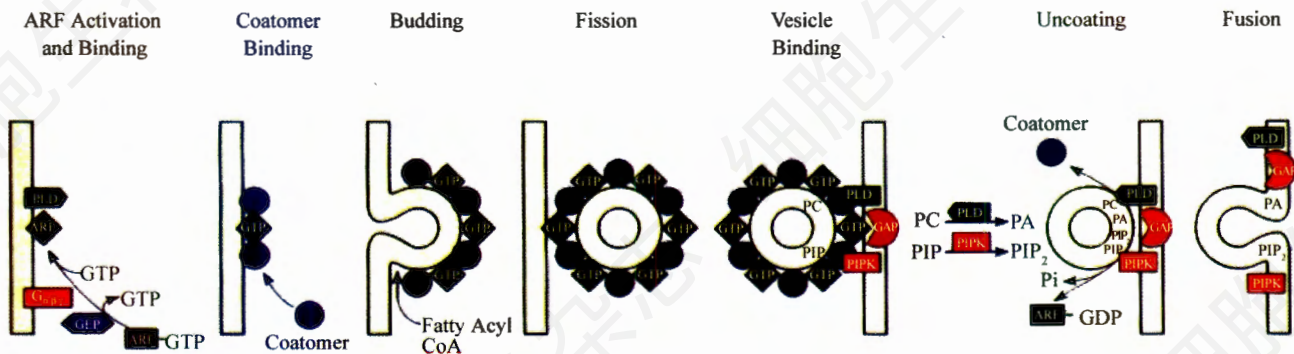


图4 ARF在囊泡转运中的作用<sup>[33]</sup>

PLD: 磷脂酶 D; PC: 卵磷脂; PIP: 4-磷酸磷脂酰肌醇; PIPK: 磷脂酰肌醇-4-磷酸-5-激酶; PA: 磷脂酸; GAP: GTP 酶活化蛋白。

上,致使 $\alpha$ 亚基丧失GTP酶的活性,与 $\alpha$ 亚基结合的GTP不能水解成GDP,导致GTP永远结合在 $G_s$ 的 $\alpha$ 亚基上,使 $\alpha$ 亚基处于持续活化状态,因而腺苷酸环化酶不可逆地永久活化。霍乱病患者的症状是恶性痢疾,其主要原因就是霍乱毒素催化 $G_s$ 的 $\alpha$ 亚基ADP核糖基化,从而使腺苷酸环化酶被“锁定”在活化状态,致使小肠上皮细胞中cAMP增加100倍以上,导致膜蛋白让大量钠离子和水持续外流,产生严重腹泻而脱水。

## 5.2 ARF与PLD

ARF是磷脂酶D(PLD)的激活剂。PLD是磷脂的水解酶,结合在膜上,有几种不同的亚类,可以将磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC)分解成磷脂酸(phatidic acid)和胆碱(choline), PLD还可以水解磷脂酰乙醇胺、磷脂酰甘油、磷脂酰丝氨酸等物质,它是某些生长因子的效应物,同时其降解产物还作为信号分子参与细胞的信号传递过程<sup>[28]</sup>。在体外,人们发现PLD的活性被GTP激活需要一种细胞因子参与,将该物质分离纯化后发现它就是ARF。Brown等<sup>[29]</sup>设计了PLD活性重建实验,底物磷脂酰胆碱与磷脂微团混合,通过逐步纯化,最终发现了由ARF1或ARF3激活的细胞膜PLD活性。该研究同时也证明了ARF的激活作用还需要有磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸(phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate, PIP<sub>2</sub>)。后来Massenburg等<sup>[30]</sup>发现哺乳动物ARF的3种类型都能提高PLD的活性。人们发现异三聚体G蛋白家族的某些成员对PLD的同工酶也有激活作用,ARF在结构上同G蛋白的 $\alpha$ 亚基和Ras很相似,ARF对PLD的激活作用的发现,使人们对ARF的认识不只停留在其为组成某些细胞器或运输小泡的结构蛋白,并对它在囊泡转运中的作用有了更深层的了解。

## 5.3 ARF在囊泡转运中的功能

人们最早在酵母中发现ARF有参与高尔基体的生理功能,ARF在细胞中控制高尔基体的囊泡形成,是囊泡转运途径的关键成分<sup>[31]</sup>。ARF主要参与内体(endosome)融合,核膜装配,以及被覆网格蛋白囊泡(clathrin-coated vesicle)的形成。在从内质网向高尔基体的囊泡转运过程中,ARF需要与另一类外被蛋白COP结合形成被覆COP的囊泡<sup>[32]</sup>。

ARF参与囊泡转运的具体过程可以概括如下(图4)<sup>[33]</sup>。(1)ARF与GTP结合后被激活,与形成囊泡的供体膜(高尔基体膜)上的受体结合。(2)外被体(coatomer)与ARF结合聚集在膜下一侧,逐渐形成直

径50~100 nm的脂膜凹陷,称为外被体被膜小窝(coatomer coated pit)。(3)外被体被膜小窝在脂酰CoA、GTP结合蛋白的帮助下最终脱离脂膜形成游离的囊泡,在胞浆中运动。(4)囊泡与靶膜结合。(5)靶膜上的磷脂酶D被激活,使GTP酶活化蛋白(GAP)将ARF·GTP转变成ARF·GDP,靶膜中磷脂酰肌醇-4-磷酸-5-激酶(PIP<sub>2</sub>)的活性提高,外被蛋白和ARF·GDP一起从囊泡上脱离下来。(6)转运囊泡膜与靶生物膜的融合,外被蛋白与ARF又回到供体膜上。

可见ARF在囊泡转运过程中发挥了两方面的作用。首先,在供体膜上ARF结合GTP变为活化态,ARF·GTP复合物结合到膜上,启动了外被蛋白的结合及被膜小窝的形成。其次是在受体膜上ARF活化了PLD,导致了囊泡与靶膜的融合。与靶膜的融合先要经过囊泡的脱衣作用,即在ARF·GTP复合物释放出来之后,包衣蛋白从囊泡上脱离下来。由于ARF没有GTP酶的活性,只有当ARF同靶膜上的GTP酶活化蛋白(GAP)作用才能使ARF·GTP转化为ARF·GDP。

根据PIP<sub>2</sub>可以激活PLD、磷脂酸可以激活PIP<sub>2</sub>的性质,Santarius等<sup>[34]</sup>认为这些成分可以引起正反馈,促使囊泡与靶膜的融合。这包括ARF·GTP复合物激活了磷脂酶D,膜内陷形成环状,导致膜内磷脂酸的升高,便于GTP酶活化蛋白(GAP)同ARF·GTP复合物的作用生成ARF·GDP,同时提高了靶膜中PIP<sub>2</sub>的活性。外被蛋白和ARF·GDP相继从囊泡上脱离,囊泡中PIP<sub>2</sub>和磷脂酸的增加促进了囊泡与靶膜的融合。

因此,ARF在囊泡转运过程中发挥的作用包括:通过外被蛋白结合起始囊泡形成和促进囊泡与靶膜的融合,这是ARF有两种不同的结构形式造成的。

综上所述,ARF广泛存在于各类生物中,在真核生物中其结构和功能高度保守,人和酵母这两种亲缘关系相差巨大的生物的ARF序列就有74%的一致性,该基因家族可以为进化生物学和生物信息学等研究领域提供理想的模型。同时ARF在生物体内广泛表达,在细胞内的物质运输和信号转导过程中发挥重要的作用,这表明ARF是生物体内一个必不可少的功能蛋白。近年来人们陆续发现ARF还有其他的功能,有关ARF的作用及其机制尚需做进一步大量的研究。

## 参考文献(References)

- [1] D'Souza-Schorey C *et al.* *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7: 347
- [2] Takai Y *et al.* *Physiol Rev*, 2001, 81: 153

- [3] Oxford G *et al. Cancer Lett*, 2003, **189**: 117  
[4] Kahn RA *et al. J Biol Chem*, 1984, **259**: 6228  
[5] Grovel JP *et al. Cell*, 1991, **64**: 915  
[6] Donaldson JG *et al. Biochem Soc Trans*, 2005, **33**: 639  
[7] Kahn RA *et al. J Cell Biol*, 2006, **172**: 64  
[8] Saitoh O *et al. Biochim Biophys Acta*, 1996, **1309**: 205  
[9] Botstein D *et al. Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 1988, **53**: 629  
[10] Pasqualato S *et al. EMBO Rep*, 2001, **2**: 234  
[11] Huang M *et al. J Cell Biol*, 2001, **155**: 937  
[12] Lee MC *et al. Cell*, 2005, **122**: 605  
[13] Stearns T *et al. Mol Cell Biol*, 1990, **10**: 6690  
[14] Zhang CJ *et al. J Cell Biol*, 1994, **124**: 289  
[15] Dascher C *et al. J Biol Chem*, 1994, **269**: 1437  
[16] Behnia R *et al. Nature*, 2005, **438**: 597  
[17] Franco M *et al. J Biol Chem*, 1995, **270**: 1337  
[18] Kahn RA *et al. J Biol Chem*, 1992, **267**: 13039  
[19] Cockcroft S *et al. Science*, 1994, **263**: 523  
[20] Zhang GF *et al. J Biol Chem*, 1995, **270**: 21  
[21] Bobak DA *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, **86**: 6101  
[22] Monaco L *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, **87**: 2206  
[23] Lee FJ *et al. J Biol Chem*, 1994, **269**: 21555  
[24] Wang L *et al. DNA Sequence*, 2005, **16**: 418  
[25] Tsai SC *et al. J Biol Chem*, 1991, **266**: 8213  
[26] Tsai SC *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, **89**: 9272  
[27] Duman R S *et al. J Neurochem*, 1990, **55**: 1813  
[28] Cazzolli R *et al. IUBMB Life*, 2006, **58**: 457  
[29] Brown HA *et al. Cell*, 1993, **75**: 1137  
[30] Massenburg D *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, **91**: 11718  
[31] Boman AL *et al. Mol Biol Cell*, 2000, **11**: 1241  
[32] Nie Z *et al. J Cell Sci*, 2006, **119**: 1203  
[33] Moss J *et al. J Biol Chem*, 1995, **270**: 12327  
[34] Santarius M *et al. Biochem J*, 2006, **398**: 1

## Structure and Functional Mechanism of the ADP-ribosylation Factor

Lei Wang, Hong-Yan Su\*, Chang-Liu Wang, Chun-Hua Mu<sup>1</sup>

(College of Life Sciences, Ludong University, Yantai 264025, China; <sup>1</sup>Jinan Subcenter of National Maize Improvement Center, Jinan 250100, China)

**Abstract** ADP-ribosylation factors (ARFs) are members of the Ras superfamily of ~20 kDa guanine nucleotide binding proteins that were initially identified by their ability to stimulate cholera toxin-catalyzed ADP-ribosyltransferase activity of the  $\alpha$ -subunit of G proteins. They have recently been implicated to function in vesicular trafficking and regulating the activation of phospholipase D, which play more important roles in cells to regulate membrane traffic and intracellular signal transduction system. Our topics range from the history of discovery to classification, gene structure and function, expression and physiological effects of this important protein.

**Key words** ADP-ribosylation factor (ARF); structure; function

Received: April 24, 2007 Accepted: June 11, 2007

\*Corresponding author. Tel: 86-535-6695961, E-mail: suhongyan66@126.com