

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2009.00982

ARF-GEF 基因家族的研究进展

刘士平^{1,2}, 王璐¹, 薛艳红^{1,2}, 寿惠霞¹

1. 浙江大学生命科学学院植物生理学与生物化学国家重点实验室, 杭州 310058;
2. 三峡大学化学与生命科学学院, 宜昌 443002

摘要: ARF-GEFs 是小 G 蛋白 ADP 核糖基化因子(ADP-ribosylation factor, ARF)的鸟苷酸交换因子(Guanine-nucleotide exchange factor, GEF), 在所有真核生物中, 大型 ARF-GEF 都是高度保守的。它在生物体的膜泡分拣和蛋白运输中发挥着重要作用, 近年来关于 ARF-GEFs 的蛋白结构、亚细胞定位和相关功能的报道很多, 它已成为细胞生物学领域的一大研究热点。文章主要介绍了大型 ARF-GEF 的蛋白结构和在不同物种中的分布, 阐述了该基因家族在酵母、人和拟南芥中的相关进展, 并对其调控机理进行了小结。

关键词: ARF-GEF; 蛋白分拣; 小泡运输; 高尔基体; 发育

Research progress in ARF-GEF gene family

LIU Shi-Ping^{1,2}, WANG Lu¹, XUE Yan-Hong^{1,2}, SHOU Hui-Xia¹

1. State Key Laboratory of Plant Physiology and Biochemistry, College of Life Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China;
2. College of Chemistry and Life Science, Three Gorges University, Yichang 443002, China

Abstract: ARF-GEFs are a family of guanine-nucleotide exchange factors catalyzing the exchange of GDP for GTP on ADP-ribosylation factor. Large ARF-GEFs are highly conserved in all eukaryotes. It is an important regulator in both membrane dynamics and protein trafficking. Significant progress has been made in elucidating the structure, subcellular localization, and physiological functions of ARF-GEFs as a hot topic of cell biology recently. In this review, the characteristics and distribution of ARF-GEFs in different species, and recent research progress of ARF-GEFs and their regulation system are summarized.

Keywords: ARF-GEF; protein sorting; vesicle trafficking; Golgi apparatus; development

小 G 蛋白(Small GTPase)在真核生物的生命活动中发挥着极其重要的作用, 其超家族成员(Ras、Rab、Rho、ARF 和 Ran 家族)可作为一种“分子开关”(Molecular switch)调控着生物体的多种信号通路^[1~3]。除了影响细胞骨架的组装和参与多种胁迫反应外, 小 G 蛋白还通过调控核孔运输和蛋白质的小泡运输影响着生物体的生长和发育^[3]。小 G 蛋白存

在一种精确的调控机制, 不停地在活化态(与 GTP 结合态)和失活态(与 GDP 结合态)之间循环。活化态的小 G 蛋白发挥功能后将 GTP 水解为 GDP 后, 成为失活态; 失活态的小 G 蛋白在鸟苷酸交换因子(Guanine-nucleotide exchange factors, GEFs)的催化下将 GDP 解离并改变小 G 蛋白的构象, 重新与 GTP 重新结合而恢复活性^[2, 3]。

收稿日期: 2009-03-30; 修回日期: 2009-05-20

基金项目: 国家重点基础研究发展基金(973 计划)项目(编号: 2005CB20900)和国家博士点专项基金项目(编号: 20070335081)资助

作者简介: 刘士平(1974-), 男, 博士, 副教授, 专业方向: 植物分子生物学。E-mail: shipingliu@zju.edu.cn

通讯作者: 寿惠霞(1965-), 女, 教授, 研究方向: 植物生理与分子生物学。Tel: 0571-88206146; E-mail: huixia@zju.edu.cn

ADP 核糖基化因子 (ADP-ribosylation factor, ARF) 是最先报道的一种小 G 蛋白, 它在细胞骨架的装配和蛋白质的小泡运输中起着重要的作用^[3, 4]。与其他的小 G 蛋白相比, ARF 有一段很长的脂肪烃链, 因此活化态的 ARF 与生物体的膜系统紧密相连; 相应地, ARF 的鸟苷酸交换因子 (ARF-GEF) 也位于靶膜区调控着 ARF 的活性^[1, 4]。

近年来, 来自于不同领域的科学家陆续报道了 ARF-GEF 的结构和相关功能, 人们发现不管是在高等真核生物如动植物、人体中, 还是在低等真核生物酵母中, 都存在许多 ARF-GEFs, 分布在包括高尔基体在内的各种膜系统中, 影响着细胞的小泡运输和蛋白分泌机制, 并对生物体的生长、发育、繁殖、抗病性等有重大影响。本文就 ARF-GEFs 的结构和在酵母、人、拟南芥这 3 种模式生物中的分布及相关功能进行了综述, 并对近年来报道的与 ARF-GEFs 相互作用的蛋白及上下游调控方式进行了小结。

1 ARF-GEFs 的蛋白结构

所有的 ARF-GEFs 都有一种叫“SEC7”的结构域 (图 1), 负责行使催化功能, 即将 ARF-GDP 转换成活化态的 ARF-GTP, 它是 ARF-GEF 的核心结构域^[1, 2, 5]。SEC7 结构域最初是在酵母的 ARF-GEF Sec7p 蛋白中发现的^[1, 2], 后来人们发现该结构域在酵母、动植物和人类中都是高度保守的^[5]。



图 1 大型 ARF-GEF 的保守结构域

根据其蛋白质分子量的大小可以把 ARF-GEF 分为大型、中型和小型 3 类, 大型 ARF-GEFs 的分子量大小约为 170~200 kDa, 中型和小型的 ARF-GEFs 的分子量大小分别为 100~150 kDa 和 40~80 kDa^[5]。在酵母和人类中, 上述 3 类的 ARF-GEF 都存在, 但在植物中人们只发现了大型的 ARF-GEF 家族^[1]。研究表明只有大型的 ARF-GEFs 才是所有真核生物共有的, 其结构高度保守, 它与小 G 蛋白一起在生物体的膜泡分拣和蛋白质靶向运输中发挥着重要作用^[1]。下文将主要介绍大型的 ARF-GEFs 的相关功能及进展。

除了具有催化活性的 SEC7 结构域外, 大型 ARF-GEF 还有一些其他高度保守的结构域 (图 1), 包括位于氨基端的 DCB 结构域 (Dimerization and cyclophilin binding)、中间的 HUS 结构域 (Homology upstream of Sec7) 和 3 个下游的 HDS 结构域 (Homology downstream of Sec7), 即 HDS1-3^[2]。

SEC7 都有一个保守的“谷氨酸指”的结构^[5]。当胞液中无活性的 ARF-GDP 与特异靶膜上的 GEF 结合后, 形成一种瞬时复合物, SEC7 中的保守谷氨酸指立即占据小 G 蛋白的镁离子结合位点和磷酸基结合位点, 进而将 GDP 剥离并引入 GTP, 一旦 GTP 结合到 ARF 上, ARF 的长烃链马上突出并指导 ARF 与膜融合, ARF 的活性得以恢复^[4, 6]。

除了 SEC7 结构域外, 其他无催化活性结构域的功能还不很清楚, 它们可能参与着蛋白质的亚细胞定位或与膜的结合有关, 也有可能感受某些信号物质从而调节着 ARF 的活性和细胞的小泡运输途径^[4, 5]。拟南芥 GNOM (植物中最先报道的 ARF-GEF) 的酵母双杂交实验结果表明, 其 DCB 结构域与蛋白质的二聚化及蛋白复合物的形成有关^[7, 8], 此外人们还在人类和拟南芥中发现 DCB 可以与亲免素 (Immunophilin, 行使肽基脯氨酸顺反异构酶和蛋白折叠的功能) 家族成员互作, 表明 DCB 极有可能参与着 ARF-GEFs 的功能调节^[7, 8]。

对于 HUS 和 HDS 结构域的功能了解甚少。酵母中高度保守的 HUS 结构域发生突变后将严重影响个体存活, 相比较而言拟南芥的 3 个 HDS 结构域若发生突变影响则轻微得多^[1]。

2 ARF-GEF 在不同物种中的分布

ARF-GEF 基因家族分布非常广泛, 在所有已完成测序的真核生物基因组中, 都发现有编码 SEC7 结构域基因存在。在酵母中共发现有 3 个大型的 ARF-GEFs 蛋白, 分别是 Sec7p、Gea1p 和 Gea2p, 另外还有两个中型的 ARF-GEFs 即 Syt1p 和 Yell1p。在人类中公认的大型 ARF-GEFs 蛋白也有 3 个, 分别是 GBF1、BIG1 和 BIG2, 此外, 还有十多个中型和小型的 ARF-GEFs, 如 CYHs、BRAGs 和 EFA6s 等亚家族^[1]。巧合的是在低等植物藻类中同样具有 3 个大型的 ARF-GEFs, 可高等植物拟南芥却有 8 个 ARF-GEFs, 分别是 BIG1-5、GNOM 和 GNL1-2 (表

1, 图 2)。这些 ARF-GEFs 在不同物种中的数量差异, 有学者认为这与某些物种中 ARF-GEFs 特化出一些新功能有关, 或者由于不同物种对小泡分拣的要求不一造成的^[1]。

2.1 酵母中大型的 ARF-GEFs

酵母的基因组共编码 3 个 ARF 型的小 G 蛋白 (ARF1-3) 和 3 个大型 ARF-GEFs (Sec7p、Gea1p 和 Gea2p), 但这 3 个大型 ARF-GEFs 都可以恢复 ARF1 和 ARF2 的活性^[11, 12], 此外 Gea1p 和 Gea2p 还可以激活 ARF3^[9, 10]。

Sec7p 是生物体中首次详细鉴定的大型 ARF-

GEF^[11]。sec7p 突变体的营养生长异常, 细胞膜系统遭到部分破坏, 蛋白分泌系统紊乱。该蛋白主要位于反面高尔基体中, 参与 COP (Coatmer protein, 型包被蛋白) 介导的蛋白运输 (即从反面高尔基体穿越高尔基体片层结构到达顺面高尔基体, 然后再将蛋白运输到内质网中)。此外, Sec7p 还可在 TGN (反面高尔基体管网结构) 中与一种叫 Exomer 的包被蛋白结合, 促进蛋白质向胞膜运输。即 Sec7p 有促进蛋白质双向运输的功能: (1) 从高尔基体到内质网; (2) 从高尔基体到胞膜^[12]。除 Sec7p 外, 酵母还有两种大型 ARF-GEFs: Gea1p 和 Gea2p, 它们在功能上存在部分冗余, 如 Gea1p 和 Gea2p 对底物 ARF1

表 1 ARF-GEF 在酵母、人和拟南芥中的分布^[1]

物种	名称	登录号	氨基酸个数	类型	BFA 反应	细胞位置
酵母	Gea1p	NP_012565	1408	大型	敏感	VTC, Golgi
	Gea2p	NP_010892	1459	大型	敏感	VTC, Golgi
	Sec7p	P11075	2009	大型	敏感	TGN, trans-Golgi
	Syt1p	Q06836	1226	中型	敏感	—
	Yel1p	P34225	687	中型	不敏感	—
人	BIG1	NP_006412	1849	大型	敏感	TGN
	BIG2	NP_006411	1785	大型	敏感	TGN, endosomes
	GBF1	NP_004184	1859	大型	敏感	VTC, cis-Golgi
	BRAG1	NP_055890	949	中型	不敏感	—
	BRAG2	NP_055684	963	中型	不敏感	—
	BRAG3	EAW88981	865	中型	不敏感	—
	CYH1	NP_004753	398	小型	不敏感	—
	CYH2	NP_059431	400	小型	不敏感	—
	CYH3	NP_004218	399	小型	不敏感	—
	CYH4	NP_037517	394	小型	不敏感	—
	EFA6A	NP_002770	1024	中型	不敏感	—
	EFA6B	CAD30842	1056	中型	不敏感	—
	EFA6C	NP_115665	771	中型	不敏感	—
	EFA6D	NP_056125	1047	中型	不敏感	—
	FBX8	NP_036312	319	小型	不敏感	—
拟南芥	BIG1	At4g38200	1698	大型	敏感?	—
	BIG2	At3g60860	1793	大型	敏感?	—
	BIG3	At1g01960	1750	大型	不敏感	—
	BIG4	At4g35380	1706	大型	敏感?	—
	BIG5	At3g43300	1756	大型	敏感?	—
	GNL1	At5g39500	1443	大型	不敏感	Golgi
	GNL2	At5g19610	1375	大型	敏感?	—
	GNOM	At1g13980	1451	大型	敏感	endosomes

注: “敏感?”表示通过生物信息学进行预测的对 BFA (Brefeldin A) 敏感; VTC: 球状小泡; Golgi: 高尔基体; TGN: 反面高尔基体管网结构; endosome: 内体; cis-Golgi: 顺面高尔基体; —表示未知。

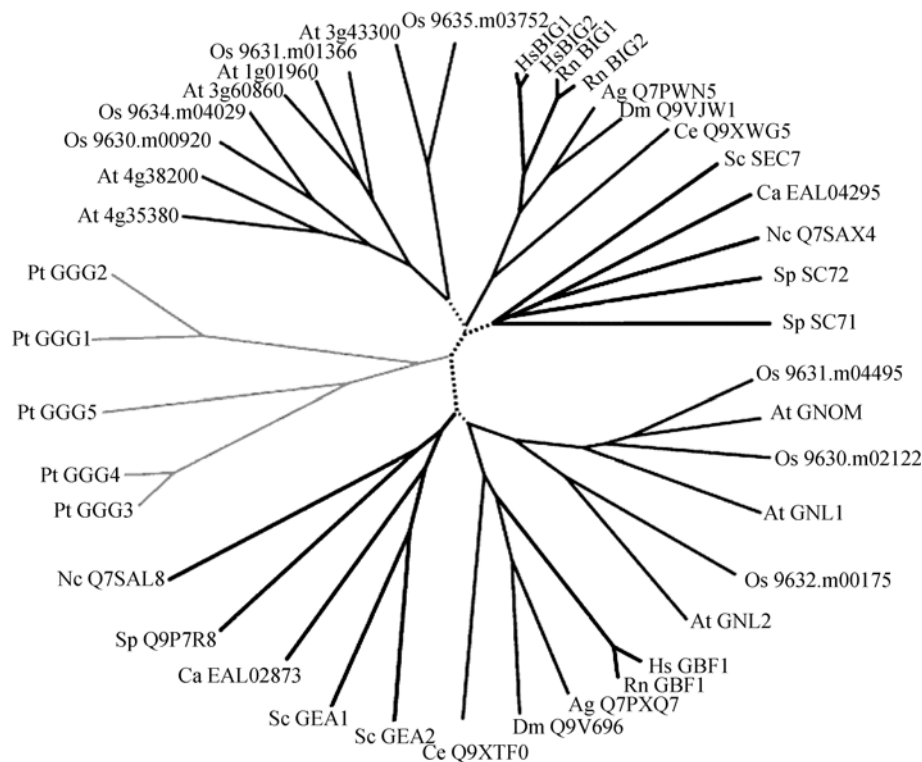


图 2 不同生物中大型 ARF-GEF 的亲缘关系^[12]

At: 拟南芥; Os: 水稻; Hs: 人; Rn: 家鼠; Ag: 疟蚊; Ce: 线虫; Sc: 酵母; Ca: 白色念珠菌; Sp: 裂殖酵母; Nc: 粗糙脉孢菌; Pt: 草履虫; Dm: 果蝇。物种后是大型 ARF-GEF 的蛋白名称或登录号, 如 Sc GEA2 指酵母的 GEA2 蛋白(即前文的 Gea2p)。

作用不相同, 但对 ARF2 有相同的激活作用^[13, 14]。而且单突变都不会影响酵母的存活, 但双突变会致死。进一步研究表明两个蛋白质都在细胞的球状小泡(Vesicular-tubular compartment, VTC)和高尔基体中分布, 促进蛋白质由内质网向高尔基体转运和高尔基体片层间的运输^[15]。

2.2 人类的大型 ARF-GEFs 及功能

人类的基因组中也只有 3 个大型的 ARF-GEFs, 但有些存在不同的剪切方式。哺乳动物的 GBF1 与酵母的 Gea1p 和 Gea2p 同源, 主要存在于球状小泡、顺面高尔基体(*cis*-Golgi)和内质网-高尔基体中间区(ER-Golgi intermediate compartment, ERGIC)中, 调节 COP 型的小泡运输^[16, 17]。利用 RNA 干涉技术将该基因下调表达后, 会导致细胞死亡, 部分蛋白不能正常折叠, 显示 GBF1 在蛋白质的早期分拣过程中起着重要的作用^[18]。但是, 近年来也有报道认为 GBF1 可在膜上与 GGA (Golgi-localizing adaptin ear homology domain ARF-binding)结合, 从而调控网格蛋白介导的小泡运输^[19, 20]。BIG1 和 BIG2 在细

胞内的分布有部分重叠, 两者都分布在 TGN 中, 且在该区域存在功能冗余现象: 均可与衔接蛋白(Adaptor proteins)结合, 从而促进网格蛋白介导的小泡运输。但是, BIG1 和 BIG2 并不是完全冗余的, 它们各自还有一些特殊的功能^[21, 22]。BIG1 对维持高尔基体的完整性和整合素 $\beta 1$ (Integrin $\beta 1$)的正确糖基化至关重要。BIG2 可以与膜上的 GGA 结合, 而且在不断循环的内体中也检测到 BIG2 的表达, 它可促进肿瘤坏死因子受体和转铁蛋白受体正确转运到胞膜^[23, 24]; 另外 BIG2 还调节着人体神经细胞的分裂与运动, 突变后会造成大脑皮层畸形(一种称为 ARPHM 的遗传病)^[25, 26]。

哺乳动物的大型 ARF-GEFs 与病原反应相关。病毒可将其作为攻击的靶蛋白, 通过改变寄主胞膜的分拣运输机制来创造利于自己生存和繁殖的环境。有些肠道病毒可产生 3A 膜蛋白, 它可抑制 COPI 介导的蛋白运输(从内质网到高尔基体), 从而削弱了寄主细胞的抗病毒能力。近年来的研究表明 3A 蛋白二聚化后可以与 GBF1 的 DCB 和 HUS 结构域互作, 将其一直固定在膜上而无法正常运转, 从而抑

制 ARF1 的激活^[27, 28]。相似的是肠道病毒的膜蛋白 3CD 可以将 BIG1 和 BIG2 固定到膜上。此外, 细菌性病原体也可通过影响 ARF-GEFs 的功能来调节宿主细胞的膜泡运输机制。病原菌 *Leginella pneumophila* 和 *Rickettsie prowazekii* 表达一种含 Sec7 的毒性蛋白 RalF, 可阻止哺乳动物的小泡分拣机制, 并形成一种稳定的用于自身繁殖的空泡^[29, 30]。

由于体内实验和体外实验的结果不一致, 人类的大型 ARF-GEFs 蛋白的底物特异性还不是很清楚。如 GBF1 在体外催化 ARF5 的鸟苷酸交换反应, 但在体内却催化 ARF1 和 ARF4; BIG1 和 BIG2 在体外可催化 ARF1、ARF3、ARF5 和 ARF6, 可在体内却只能催化 ARF1 和 ARF3^[31~33]。

2.3 拟南芥中大型 ARF-GEFs 的研究

首次从拟南芥中分离的 ARF-GEF 叫 GNOM, 它是 GBF1/Gea1/2p 的同源蛋白。最先报道的 *gnom* 突变体发育存在严重缺陷, 胚胎畸形, 下胚轴缺失, 一般在幼苗早期便会死亡^[34~36]。胚胎顶底轴形成模式发生改变, 表明 GNOM 对胚胎发育是至关重要的。*gnom* 突变体有畸形的细胞壁^[37], 但其原生质培养体系却可正常建立, 表明 GNOM 蛋白对细胞的存亡并不是必不可少的, 但对植物个体的发育却至关重要^[38, 39]。随后的研究还发现 *gnom* 突变体在胚轴上丧失了细胞与细胞的附着能力, 导致缺乏胚根, 子叶和下胚轴要么融合在一起, 要么缺失^[40, 41]。随后不同实验室又发现了一系列等位的突变体, 有些等位突变体不会致死, 但它们的共同特点是根系发育异常, 侧根显著减少, 而且根的向地性出现部分缺失^[42~44]。进一步研究表明 GNOM 位于内体中, 介导着生长素输出载体元件 PIN1 向胞膜的运输^[38, 39, 41]。在 *gnom* 突变体中, 不管是在胚胎还是在根部, 生长素输出载体 PIN1 的细胞极性定位丧失, 表明 GNOM 对植物的发育和生长素的正常运输密不可分^[42, 43]。本实验室在研究水稻的不定根发育的过程中, 从不同的遗传背景中筛选到 4 个不定根缺失的致死突变体, 图位克隆结果表明这是由于 *OsGNOM1* 发生了突变。突变体还表现出侧根减少、向地性部分缺失, 对生长素极性运输的抑制剂敏感性增强, 表明在禾本科单子叶植物中, ARF-GEF 同样影响着生长素的极性运输。进一步研究还发现 OsPIN1 蛋白的

极性分布也发生变化(尚未发表, 私人联系)。

人们利用拟南芥不同的 *gnom* 等位突变体杂交, 发现有些组合其后代可以恢复表型, 即存在某种基因内的互作。进一步的研究表明这种基因内的互作与蛋白质中的 DCB 结构域的功能密不可分, 有学者认为 DCB 结构域介导着 GNOM 蛋白自身的二聚化。后来这种猜测被酵母双杂交实验所证实, 同时 DCB 结构域还可以与一种亲免疫素(Cyclophilin 5)结合, 从而调控 GNOM 的活性^[7]。

GNOM 与 BFA(布雷菲尔德菌素 A, 下文详述)的关系近年来也有很多相关的报道。但有研究指出将其催化区域 SEC7 结构域的第 696 位的甲硫氨酸人工改造成亮氨酸后, 使得本来对 BFA 敏感的 GNOM 转变成为抗性的, 说明对 BFA 的响应是由一些保守的氨基酸决定的^[39, 44, 45]。

GNL1(GNOM-like 1)是拟南芥中与 GNOM 最近的同源蛋白, 它突变后会导致拟南芥的发育出现轻微异常。亚定位结果显示它分布在高尔基体中, 在内质网与高尔基体之间的蛋白运输中发挥作用。GNOM 在高尔基体中可替代 GNL1 行使功能, 一旦将 GNL1 和 GNOM 双敲除会带来致死表型, 表明这两个基因在早期的蛋白分拣中其功能存在冗余。此外, GNL1 还与某些特异性蛋白的内吞作用有关。值得注意的是, GNL1 是少数的几个对 BFA 不敏感的 ARF-GEFs 之一, 然而最近报道的来自于烟草的 NtGNL1 却是对 BFA 敏感的, 也许 GNL1 反映了不同物种蛋白分拣机制的差异^[46~48]。

目前对拟南芥中另外的大型 ARF-GEFs 的功能了解极其有限, 还不清楚它们在细胞中的精确位置。GNL2 仅限于在雄配子体中表达, 预测与花粉特异性有关; 而 BIG3 与雌配子体发育有关^[1]。BIG5 介导着植物的病原反应, 植物病原细菌 *Pseudomonas syringae* 的毒性蛋白 HopM1 可引导 BIG5 进入泛素化降解途径^[1], 从而抑制了寄主的小泡分拣路径。体外实验证实了拟南芥的 BIG3 可以催化 ARF1 发生鸟苷酸交换^[1], 但对拟南芥其他大型 ARF-GEFs 的底物特异性研究还有待深入研究。

3 大型 ARF-GEFs 的功能调节

3.1 BFA 对 ARF-GEFs 的影响

布雷菲尔德菌素 A(Brefeldin A, BFA)是一些真

菌在侵染植物的过程中产生的一种毒素,它可以特异地抑制生物体的小泡运输,是细胞生物学研究的一种强有力的工具^[49, 50]。无论是烟草细胞、人体细胞还是能透过 BFA 的酵母突变体,外源添加 BFA 后都会显著地抑制细胞的小泡运输(图 3):被 ARF 招募的小泡包被蛋白(如 COP I、网格蛋白和 GGA 蛋白)将被快速释放到胞液中;亚细胞区室结构将遭到破坏;高尔基体上的膜蛋白将被重新分布到内质网上;TGN 和内体区室将相互聚集且发生融合;虽然质膜和内体的循环正常,但内体到溶酶体的运输受阻。进一步的分析表明 BFA 可以结合到 ARF-GDP-SEC7 复合物的表面,并将这个大的蛋白复合体引到膜上,从而阻断 SEC7 交换反应的起始,使得 ARF 的活性无法正常恢复^[51~53]。

值得一提的是并不是所有的生物和细胞都具有这些典型的 BFA 效应。如在拟南芥和 MDCK (Mardin-darby canine kidney)细胞中加入 BFA 后,位于高尔基体上的膜蛋白并不会再回到内质网中^[54],说明这些细胞在高尔基体中存在一种 BFA 的抗性机制。有学者认为大型 ARF-GEFs 是 BFA 作用的主要靶点,细胞或组织对 BFA 反应的差异是由于这些细胞或组织中存在不同的 ARF-GEFs,即有的 ARF-GEFs 对 BFA 敏感,而有的不敏感。亦有学者认为凡是参与小泡分拣的 ARF-GEFs 都对 BFA 敏感^[55~57]。

精细的生化分析也支持大型 ARF-GEFs 是 BFA 作用的主要靶点这一说法。当 ARF-GDP 与敏感型的 SEC7 结合时,预留了一个专与 BFA 结合的口袋;而与不敏感型的 SEC7 结合时,就不存在这一口袋。根据这个口袋的有无便可以预测这些大型的 ARF-GEFs 对 BFA 是否敏感。在人类和酵母中,除了 Syt1p 外所有的中小型 ARF-GEF 都是对 BFA 不敏感

的,而所有大型 ARF-GEF 都是敏感的;在拟南芥中虽然只有大型的 ARF-GEF,但既有敏感型的,也有不敏感型的(表 1)。遗传分析表明当 GEF 发生突变后可以改变 ARF-GDP-SEC7 复合物对 BFA 的敏感性,有时即使是一个氨基酸的改变也可能将敏感型 ARF-GEFs 转变成不敏感型 ARF-GEFs^[39, 58, 59]。

3.2 ARF-GEFs 的磷酸化调节

目前人们虽然不能确定大型 ARF-GEFs 发生磷酸化的保守位点,但可以肯定的是磷酸化影响着大型 ARF-GEFs 的活性。在葡萄糖缺乏时,AMP 激活的蛋白激酶通过磷酸化调节着 GBF1 的活性;而在血清饥饿时,蛋白激酶 A(PKA)介导的 BIG1 的磷酸化将 BIG1 转运到核上,并与其他核蛋白结合(虽然还不清楚这些 ARF-GEFs 在细胞核上的功能)^[60, 61]。

进一步研究表明 BIG1 和 BIG2 都可与 PKA 结合,也可以与磷酸酯酶 1 γ (PP1 γ)发生作用。表 2 列出了与 GNOM 不同结构域结合的蛋白质。其中 PKA 催化的磷酸化降低了大型 ARF-GEFs 的鸟苷酸交换能力,而 PP1 γ 正好相反,证实了蛋白质的磷酸化调节着 ARF-GEFs 的功能。而且 PKA 还可以诱导 ARF1 复合体在膜上的组装,也有可能是 ARF-GEFs 发生磷酸化后介导着这一组装过程^[62, 63]。另外,胞液中大部分都是这种低活性的磷酸化形式,而膜上大部分是高活性的去磷酸化形式,因此有科学家推测磷酸化调控着 ARF-GEFs 与膜的可逆结合^[19, 64, 65]。

3.3 ARF-GEFs 的膜定位调节

大型 ARF-GEFs 都是在靶膜上发挥功能的。它与靶膜是一种可逆结合,处于不断的结合和解离的

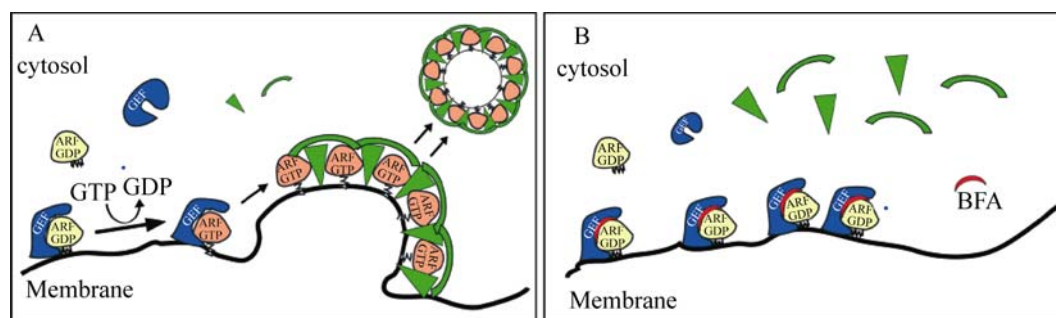


图 3 ARF 的功能激活及对 BFA 的反应^[1]

A: 正常条件下 GEF 对 ARF 的催化和小泡的装配; B: BFA 条件下小泡不能正常装配。

表 2 可能与大型 ARF-GEFs 互作的蛋白质

蛋白名称	物种	名称	互作结构域	参考文献
AMY-1	<i>Hs</i>	BIG1/2	DCB	[19]
AtCyp19-4	<i>At</i>	GNOM	DCB	[7]
Drs2p	<i>Sc</i>	Gea2p	Sec7	[66]
Exo70	<i>Hs</i>	BIG2	DCB, HUS	[26]
FKBP13	<i>Hs</i>	BIG1/2	DCB	[77]
GABA receptor	<i>Rn</i>	BIG2	C-末端	[25]
GGA	<i>Hs</i>	GBF1	DCB, HUS	[20]
Gmh1p	<i>Sc</i>	Gea1/2p	HDS1-3	[68]
MyosinIXb	<i>Hs</i>	BIG1	HDS3, C-末端	[69]
Nucleoporin	<i>Hs</i>	BIG1	未知	[62]
p115	<i>Hs</i>	GBF1	C-末端	[70]
p90	<i>Sc</i>	Sec7p	未知	[71]
PKA	<i>Hs</i>	BIG2	DCB, HUS	[72]
PP1 γ	<i>Hs</i>	BIG1/2	未知	[61]
Rab1b	<i>Hs</i>	GBF1	DCB	[73]
Sec21p	<i>Sc</i>	Sec7p	HUS, Sec7, HDS1	[10]
Sec24p	<i>Sc</i>	Sec7p	HDS1-3, C-末端	[10]
TNFR1	<i>Hs</i>	BIG2	未知	[24]

注: 物种拉丁学名注释同图 1。

循环过程中。但出人意料的是这些大型 ARF-GEFs 没有一个特定的行使与膜结合的结构域, 而中小型 ARF-GEFs 一般都通过一个“PH”结构域(Pleckstrin homology)来结合膜上的脂质和 ARF, 从而达到与膜结合的功能^[5,28,38]。那么大型的 ARF-GEFs 到底是通过什么机制与靶膜结合的呢?

有科学家预测与之结合的一些膜蛋白(表 2)可能介导着这一过程。如 Gea1p 和 Gea2p 可以与高尔基体的膜蛋白 Gmh1P 发生作用, GBF1 可与蛋白 115p 结合, Gea2P 与磷脂酰丝氨酸翻转酶(Drs2P)结合(表 2 列出了部分与 ARF-GEFs 结合的蛋白质)。但费解的是这些膜蛋白发生功能缺失后, 大型 ARF-GEFs 照样可以与膜结合^[66, 68]。

另外, 其自身的 DCB 结构域及其他结构域也可能具有引导大型 ARF-GEFs 正确进行膜定位和功能发挥的作用^[8, 74]。Rab1b 可以与 DCB 结构域互作^[73], 且 Rab1b 发生突变或 RNA 干涉后, GBF1 及 COPI 膜蛋白复合体的组装都不能正常进行^[73]。酵母中的 Ypt/rabs 也影响着 Sec7p 和 Gea1/2p 的组装, 同时还抑制着小泡的出芽生殖^[75, 76]。此外, 拟南芥 GNOM 的 DCB 结构域发生突变后, 降低了 GNOM 与膜结

合的能力, 这表明 DCB 结构域是 ARF-GEF 与膜结合的必要条件^[73, 75]。

进一步研究表明 DCB 结构域可以与其下游的 HUS 结构域和 SEC7 结构域进行分子内或分子间互作, 因此大型 ARF-GEFs 不光可能形成二聚体, 还可能形成四聚体^[74]。另外, 病原菌的毒性蛋白 RalF(也含 SEC7 结构域)也存在一种分子内互作, 其羧基末端结构域可与 Sec7 互作后影响与 ARF 的结合, 且 RalF 的催化活性增强, 说明有些 ARF-GEFs 激活时离不开结构域的重新组装^[76, 77]。

3.4 ARF-GEFs 对下游基因的调控

传统观念认为 ARF-GEFs 的功能就是激活 ARF 小 G 蛋白, 通过 ARF 来影响小泡形成的起始和细胞骨架的组装。但是最近的一些研究结果显示 ARF-GEFs 并不仅仅局限于在 ARF 的级联信号体系中。ARF-GEFs 还可调控其他小 G 蛋白的活性。Gea1/2p 激活 ARF3 后在促进细胞骨架组装的同时, 也会影响小 G 蛋白 Rho 的活性^[16]。人类的 BIG1 与肌球蛋白 IXb(一种小 G 蛋白激活蛋白, Rho-GAP)结合后将抑制 IXb 的 GAP(GTP 酶激活蛋白)的活性,

可能 BIG1 与 Rho 竞争结合其 GAP 位点, 即 BIG1 可以间接调控 Rho 的活性^[69]。

另外, ARF-GEFs 可直接与一些小泡包被蛋白结合, 可能参与小泡包被蛋白的选择和蛋白质的特异性分拣(表 2)。体外结合实验表明 Sce7p 中的 HUS-Sec7-HDS1 区域可与 COPI 互作, 而 Sce7p 的羧基端及 HDS1-3 却可以和 COPII 互作。免疫共沉淀实验揭示出 GBF1 与 GGA 存在互作, 进一步的酵母双杂实验表明 GBF1 的 DCB 和 HUS 结构域介导着这种互作^[20]。此外, 在小鼠中 BIG2 的羧基端可与 GABA 受体直接互作^[25]; 在拟南芥中 GNOM 可以特异性的抑制生长素极性运输载体 PIN1 的亚细胞分布^[38], 表明 BIG2 和 GNOM 可能与分拣蛋白的特异性有关, 但其他的大型 ARF-GEFs 是否也与蛋白的特异性分拣有关还有待进一步研究。

4 展 望

真核细胞的蛋白质在代谢过程中必须进行精确的分拣和转运, 才可以在正确位置发挥生理功能。实验表明这些大型的 ARF-GEFs 调控着以高尔基体为中心的囊泡运输, 从而控制着真核细胞的蛋白分拣和转运。但是它们的通用功能和特异功能均远未研究清楚, 如无催化活性的结构域需要进行功能鉴定, 与之结合的其他蛋白对于其功能到底有何种影响, 对小泡分拣的上游和下游机制有何种作用等。未来的研究还需阐明 ARF-GEFs 是如何在膜上形成复合体的, 以及一系列调控因子信号是如何完成整合和转换的。此外, 大型的 ARF-GEFs 还有可能参与除了小泡分拣之外的其他功能, 如细胞骨架的装配, 尽管目前对这一领域所知甚少, 但对这些小泡分拣之外的功能研究将有助于揭示细胞内的这些生化过程是如何调节与协作的。

参考文献(References):

- [1] Anders N, Jurgens G. Large ARF guanine nucleotide exchange factors in membrane trafficking. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65(21): 3433–3445.
- [2] Mouratou B, Biou V, Joubert A, Cohen J, Shields DJ, Geldner N, Jurgens G, Melancon P, Cherfils J. The domain architecture of large guanine nucleotide exchange factors for the small GTP-binding protein Arf. *BMC Genomics*, 2005, 6(1): 20.
- [3] Gillingham AK, Munro S. The small G proteins of the Arf family and their regulators. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2007, 23: 579–611.
- [4] Mossessova E, Corpina RA, Goldberg J. Crystal structure of ARF1*Sec7 complexed with Brefeldin A and its implications for the guanine nucleotide exchange mechanism. *Mol Cell*, 2003, 12(6): 1403–1411.
- [5] Casanova JE. Regulation of Arf activation: the Sec7 family of guanine nucleotide exchange factors. *Traffic*, 2007, 8(11): 1476–1485.
- [6] Beraud-Dufour S, Paris S, Chabre M, Antonny B. Dual interaction of ADP ribosylation factor 1 with Sec7 domain and with lipid membranes during catalysis of guanine nucleotide exchange. *J Biol Chem*, 1999, 274(53): 37629–37636.
- [7] Grebe M, Gadea J, Steinmann T, Kientz M, Rahfeld JU, Salchert K, Koncz C, Jurgens G. A conserved domain of the Arabidopsis GNOM protein mediates subunit interaction and cyclophilin 5 binding. *Plant Cell*, 2000, 12(3): 343–356.
- [8] Anders N, Nielsen M, Keicher J, Stierhof YD, Furutani M, Tasaka M, Skriver K, Jurgens G. Membrane association of the Arabidopsis ARF exchange factor GNOM involves interaction of conserved domains. *Plant Cell*, 2008, 20(1): 142–151.
- [9] Achstetter T, Franzusoff A, Field C, Schekman R. SEC7 encodes an unusual, high molecular weight protein required for membrane traffic from the yeast Golgi apparatus. *J Biol Chem*, 1988, 263(24): 11711–11717.
- [10] Deitz S B, Rambourg A, Kepes F, Franzusoff A. Sec7p directs the transitions required for yeast Golgi biogenesis. *Traffic*, 2000, 1(2): 172–183.
- [11] Franzusoff A, Redding K, Crosby J, Fuller RS, Schekman R. Localization of components involved in protein transport and processing through the yeast Golgi apparatus. *J Cell Biol*, 1991, 112(1): 27–37.
- [12] Wang CW, Hamamoto S, Orci L, Schekman R. Exomer: A coat complex for transport of select membrane proteins from the trans-Golgi network to the plasma membrane in yeast. *J Cell Biol*, 2006, 174(4): 973–983.
- [13] Peyroche A, Paris S, Jackson CL. Nucleotide exchange on ARF mediated by yeast Gea1 protein. *Nature*, 1996, 384(6608): 479–481.
- [14] Peyroche A, Courbeyrette R, Rambourg A, Jackson CL. The ARF exchange factors Gea1p and Gea2p regulate Golgi structure and function in yeast. *J Cell Sci*, 2001, 114(12): 2241–2253.

- [15] Sata M, Donaldson JG, Moss J, Vaughan M. Brefeldin A-inhibited guanine nucleotide-exchange activity of Sec7 domain from yeast Sec7 with yeast and mammalian ADP ribosylation factors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(8): 4204–4208.
- [16] Kawamoto K, Yoshida Y, Tamaki H, Torii S, Shinotsuka C, Yamashina S, Nakayama K. GBF1, a guanine nucleotide exchange factor for ADP-ribosylation factors, is localized to the cis-Golgi and involved in membrane association of the COPI coat. *Traffic*, 2002, 3(7): 483–495.
- [17] Zhao X, Lasell TK, Melancon P. Localization of large ADP-ribosylation factor-guanine nucleotide exchange factors to different Golgi compartments: evidence for distinct functions in protein traffic. *Mol Biol Cell*, 2002, 13(1): 119–133.
- [18] Shinotsuka C, Waguri S, Wakasugi M, Uchiyama Y, Nakayama K. Dominant-negative mutant of BIG2, an ARF-guanine nucleotide exchange factor, specifically affects membrane trafficking from the trans-Golgi network through inhibiting membrane association of AP-1 and GGA coat proteins. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 294(2): 254–260.
- [19] Ishizaki R, Shin HW, Iguchi-Arigo SM, Ariga H, Nakayama K. AMY-1 (associate of Myc-1) localization to the trans-Golgi network through interacting with BIG2, a guanine-nucleotide exchange factor for ADP-ribosylation factors. *Genes Cells*, 2006, 11(8): 949–959.
- [20] Lefrancois S, McCormick PJ. The Arf GEF GBF1 is required for GGA recruitment to Golgi membranes. *Traffic*, 2007, 8(10): 1440–1451.
- [21] Shinotsuka C, Yoshida Y, Kawamoto K, Takatsu H, Nakayama K. Overexpression of an ADP-ribosylation factor-guanine nucleotide exchange factor, BIG2, uncouples brefeldin A-induced adaptor protein-1 coat dissociation and membrane tubulation. *J Biol Chem*, 2002, 277(11): 9468–9473.
- [22] Sheen VL, Ganesh VS, Topcu M, Sebire G, Bodell A, Hill RS, Grant PE, Shugart YY, Imitola J, Khoury SJ, Guerrini R, Walsh CA. Mutations in ARFGEF2 implicate vesicle trafficking in neural progenitor proliferation and migration in the human cerebral cortex. *Nat Genet*, 2004, 36(1): 69–76.
- [23] Shen X, Xu KF, Fan Q, Pacheco-Rodriguez G, Moss J, Vaughan M. Association of brefeldin A-inhibited guanine nucleotide-exchange protein 2 (BIG2) with recycling endosomes during transferrin uptake. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(8): 2635–2640.
- [24] Islam A, Shen X, Hiroi T, Moss J, Vaughan M, Levine SJ. The brefeldin A-inhibited guanine nucleotide-exchange protein, BIG2, regulates the constitutive release of TNFR1 exosome-like vesicles. *J Biol Chem*, 2007, 282(13): 9591–9599.
- [25] Charych EI, Yu W, Miralles CP, Serwanski DR, Li X, Rubio M, de Blas AL. The brefeldin A-inhibited GDP/GTP exchange factor 2, a protein involved in vesicular trafficking, interacts with the beta subunits of the GABA receptors. *J Neurochem*, 2004, 90(1): 173–189.
- [26] Xu KF, Shen X, Li H, Pacheco-Rodriguez G, Moss J, Vaughan M. Interaction of BIG2, a brefeldin A-inhibited guanine nucleotide-exchange protein, with exocyst protein Exo70. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(8): 2784–2789.
- [27] Claude A, Zhao BP, Kuziemycki CE, Dahan S, Berger SJ, Yan JP, Arnold AD, Sullivan EM, Melancon P. GBF1: A novel Golgi-associated BFA-resistant guanine nucleotide exchange factor that displays specificity for ADP-ribosylation factor 5. *J Cell Biol*, 1999, 146(1): 71–84.
- [28] Niu TK, Pfeifer AC, Lippincott-Schwartz J, Jackson CL. Dynamics of GBF1, a Brefeldin A-sensitive Arf1 exchange factor at the Golgi. *Mol Biol Cell*, 2005, 16(3): 1213–1222.
- [29] Togawa A, Morinaga N, Ogasawara M, Moss J, Vaughan M. Purification and cloning of a brefeldin A-inhibited guanine nucleotide-exchange protein for ADP-ribosylation factors. *J Biol Chem*, 1999, 274(18): 12308–12315.
- [30] Szul T, Grabski R, Lyons S, Morohashi Y, Shestopal S, Lowe M, Sztul E. Dissecting the role of the ARF guanine nucleotide exchange factor GBF1 in Golgi biogenesis and protein trafficking. *J Cell Sci*, 2007, 120(22): 3929–3240.
- [31] Morinaga N, Adamik R, Moss J, Vaughan M. Brefeldin A inhibited activity of the sec7 domain of p200, a mammalian guanine nucleotide-exchange protein for ADP-ribosylation factors. *J Biol Chem*, 1999, 274(25): 17417–17423.
- [32] Mansour SJ, Skaug J, Zhao XH, Giordano J, Scherer SW, Melancon P. p200 ARF-GEP1: a Golgilocalized guanine nucleotide exchange protein whose Sec7 domain is targeted by the drug brefeldin A. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(14): 7968–7973.
- [33] Shin HW, Morinaga N, Noda M, Nakayama K. BIG2, a guanine nucleotide exchange factor for ADP-ribosylation factors: its localization to recycling endosomes and implication in the endosome integrity. *Mol Biol Cell*, 2004, 15(12): 5283–5294.
- [34] Mayer U, Torres Ruiz RA, Berleth T, Misera S, Jurgens G.

- Mutations affecting body organization in the *Arabidopsis* embryo. *Nature*, 1991, 353: 402–407.
- [35] Shevell DE, Leu WM, Gillmor CS, Xia G, Feldmann KA, Chua NH. EMB30 is essential for normal cell division, cell expansion, and cell adhesion in *Arabidopsis* and encodes a protein that has similarity to Sec7. *Cell*, 1994, 77(7): 1051–1062.
- [36] Busch M, Mayer U, Jurgens G. Molecular analysis of the *Arabidopsis* pattern-formation gene *GNOM*: gene structure and intragenic complementation. *Mol Gen Genet*, 1996, 250(6): 681–691.
- [37] Shevell DE, Kunkel T, Chua NH. Cell wall alterations in the *Arabidopsis emb30* mutant. *Plant Cell*, 2000, 12(11): 2047–2060.
- [38] Steinmann T, Geldner N, Grebe M, Mangold S, Jackson CL, Paris S, Galweiler L, Palme K, Jurgens G. Coordinated polar localization of auxin efflux carrier PIN1 by GNOM ARF GEF. *Science*, 1999, 286(5438): 316–318.
- [39] Geldner N, Anders N, Wolters H, Keicher J, Kornberger W, Muller P, Delbarre A, Ueda T, Nakano A, Jurgens G. The *Arabidopsis* GNOM ARF-GEF mediates endosomal recycling, auxin transport, and auxin-dependent plant growth. *Cell*, 2003, 112(2): 219–230.
- [40] Mayer U, Buttner G, Jurgens G. Apical-basal pattern formation in the *Arabidopsis* embryo: studies on the role of the *gnom* gene. *Development*, 1993, 117(1): 149–162.
- [41] Geldner N, Richter S, Vieten A, Marquardt S, Torres-Ruiz RA, Mayer U, Jurgens G. Partial loss-of-function alleles reveal a role for *GNOM* in auxin transport-related, post-embryonic development of *Arabidopsis*. *Development*, 2004, 131(2): 389–400.
- [42] Geldner N, Friml J, Stierhof Y, Jurgens G, Palme K. Auxin transport inhibitors block PIN1 cycling and vesicle trafficking. *Nature*, 2001, 413(6854): 425–428.
- [43] Friml J, Vieten A, Sauer M, Weijers D, Schwarz H, Hamann T, Offringa R, Jurgens G. Efflux-dependent auxin gradients establish the apical-basal axis of *Arabidopsis*. *Nature*, 2003, 426(6963): 147–153.
- [44] Blilou I, Xu J, Wildwater M, Willemsen V, Paponov I, Friml J, Heidstra R, Aida M, Palme K, Scheres B. The PIN auxin efflux facilitator network controls growth and patterning in *Arabidopsis* roots. *Nature*, 2005, 433(7021): 39–44.
- [45] Muday GK, Peer WA, Murphy AS. Vesicular cycling mechanisms that control auxin transport polarity. *Trends Plant Sci*, 2003, 8(7): 301–304.
- [46] Richter S, Geldner N, Schrader J, Wolters H, Stierhof YD, Rios G, Koncz C, Robinson DG, Jurgens G. Functional diversification of closely related ARF-GEFs in protein secretion and recycling. *Nature*, 2007, 448(7152): 488–492.
- [47] Teh OK, Moore I. An ARF-GEF acting at the Golgi and in selective endocytosis in polarized plant cells. *Nature*, 2007, 448(7152): 493–496.
- [48] Wang L, Liao FL, Zhu L, Peng XB, Sun MX. NtGNL1 is involved in embryonic cell division patterning, root elongation, and pollen tube growth in tobacco. *New Phytol*, 2008, 179(1): 81–93.
- [49] Lippincott-Schwartz J, Yuan LC, Bonifacino JS, Klausner RD. Rapid redistribution of Golgi proteins into the ER in cells treated with brefeldin A: evidence for membrane cycling from Golgi to ER. *Cell*, 1989, 56(5): 801–813.
- [50] Lippincott-Schwartz J, Donaldson JG, Schweizer A, Berger EG, Hauri HP, Yuan LC, Klausner RD. Microtubule-dependent retrograde transport of proteins into the ER in the presence of brefeldin A suggests an ER recycling pathway. *Cell*, 1990, 60(5): 821–836.
- [51] Doms RW, Russ G, Yewdell JW. Brefeldin A redistributes resident and itinerant Golgi proteins to the endoplasmic reticulum. *J Cell Biol*, 1989, 109(1): 61–72.
- [52] Lippincott-Schwartz J, Yuan L, Tipper C, Amherdt M, Orci L, Klausner RD. Brefeldin A's effects on endosomes, lysosomes, and the TGN suggest a general mechanism for regulating organelle structure and membrane traffic. *Cell*, 1991, 67(3): 601–616.
- [53] Wood SA, Park JE, Brown WJ. Brefeldin A causes a microtubule-mediated fusion of the trans-Golgi network and early endosomes. *Cell*, 1991, 67(3): 591–600.
- [54] Hunziker W, Whitney JA, Mellman I. Selective inhibition of transcytosis by brefeldin A in MDCK cells. *Cell*, 1991, 67(3): 617–627.
- [55] Vogel JP, Lee JN, Kirsch DR, Rose MD, Sztul ES. Brefeldin A causes a defect in secretion in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem*, 1993, 268(5): 3040–3043.
- [56] Ritzenthaler C, Nebenfuhr A, Movafeghi A, Stussi-Garaud C, Behnia L, Pimpl P, Staehelin LA, Robinson DG. Re-evaluation of the effects of brefeldin A on plant cells using tobacco Bright Yellow 2 cells expressing Golgi-targeted green fluorescent protein and COPI antisera. *Plant Cell*, 2002, 14(1): 237–261.
- [57] Tse YC, Lo SW, Hillmer S, Dupree P, Jiang L. Dynamic response of prevacuolar compartments to brefeldin A in plant cells. *Plant Physiol*, 2006, 142(4): 1442–1459.
- [58] Graham TR, Scott PA, Emr SD. Brefeldin A reversibly blocks early but not late protein transport steps in the

- yeast secretory pathway. *EMBO J*, 1993, 12(3): 869–877.
- [59] Rambourg A, Clermont Y, Jackson CL, Kepes F. Effects of brefeldin A on the three-dimensional structure of the Golgi apparatus in a sensitive strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *Anat Rec*, 1995, 241(1): 1–9.
- [60] Franzusoff A, Lauze E, Howell KE. Immuno-isolation of Sec7p-coated transport vesicles from the yeast secretory pathway. *Nature*, 1992, 355(6356): 173–175.
- [61] Kuroda F, Moss J, Vaughan M. Regulation of brefeldin A-inhibited guanine nucleotide-exchange protein 1 (BIG1) and BIG2 activity via PKA and protein phosphatase 1gamma. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(9): 3201–3206.
- [62] Padilla PI, Pacheco-Rodriguez G, Moss J, Vaughan M. Nuclear localization and molecular partners of BIG1, a brefeldin A-inhibited guanine nucleotide-exchange protein for ADP-ribosylation factors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(9): 2752–2757.
- [63] Citterio C, Jones HD, Pacheco-Rodriguez G, Islam A, Moss J, Vaughan M. Effect of protein kinase A on accumulation of brefeldin A-inhibited guanine nucleotide-exchange protein 1 (BIG1) in HepG2 cell nuclei. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(8): 2683–2688.
- [64] Martin ME, Hidalgo J, Rosa JL, Crottet P, Velasco A. Effect of protein kinase A activity on the association of ADP-ribosylation factor 1 to golgi membranes. *J Biol Chem*, 2000, 275(25): 19050–19059.
- [65] Miyamoto T, Oshiro N, Yoshino K, Nakashima A, Eguchi S, Takahashi M, Ono Y, Kikkawa U, Yonezawa K. AMP-activated protein kinase phosphorylates Golgi-specific brefeldin A resistance factor 1 at Thr1337 to induce disassembly of Golgi apparatus. *J Biol Chem*, 2008, 283(7): 4430–4438.
- [66] Chantalat S, Park SK, Hua Z, Liu K, Gobin R, Peyroche A, Rambourg A, Graham TR, Jackson CL. The Arf activator Gea2p and the P-type ATPase Drs2p interact at the Golgi in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Cell Sci*, 2004, 117(5): 711–722.
- [67] Padilla PI, Chang MJ, Pacheco-Rodriguez G, Adamik R, Moss J, Vaughan M. Interaction of FK506-binding protein 13 with brefeldin A-inhibited guanine nucleotide-exchange protein 1 (BIG1): effects of FK506. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(5): 2322–2327.
- [68] Chantalat S, Courbeyrette R, Senic-Matuglia F, Jackson CL, Goud B, Peyroche A. A novel Golgi membrane protein is a partner of the ARF exchange factors Gea1p and Gea2p. *Mol Biol Cell*, 2003, 14(6): 2357–2371.
- [69] Saeki N, Tokuo H, Ikebe M. BIG1 is a binding partner of myosin IXb and regulates its Rho-GTPase activating protein activity. *J Biol Chem*, 2005, 280(11): 10128–10134.
- [70] Garcia-Mata R, Sztul E. The membrane-tethering protein p115 interacts with GBF1, an ARF guanine nucleotide-exchange factor. *EMBO Rep*, 2003, 4(3): 320–325.
- [71] Wolf JR, Lasher RS, Franzusoff A. The putative membrane anchor protein for yeast Sec7p recruitment. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, 224(1): 126–133.
- [72] Li H, Adamik R, Pacheco-Rodriguez G, Moss J, Vaughan M. Protein kinase A-anchoring (AKAP) domains in brefeldin A-inhibited guanine nucleotide-exchange protein 2 (BIG2). *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(4): 1627–1632.
- [73] Monetta P, Slavin I, Romero N, Alvarez C. Rab1b interacts with GBF1 and modulates both ARF1 dynamics and COPI association. *Mol Biol Cell*, 2007, 18(7): 2400–2410.
- [74] Ramaen O, Joubert A, Simister P, Belgareh-Touze N, Olivares-Sanchez MC, Zeeh JC, Chantalat S, Golinelli-Cohen MP, Jackson CL, Biou V, Cherfils J. Interactions between conserved domains within homodimers in the BIG1, BIG2, and GBF1 Arf guanine nucleotide exchange factors. *J Biol Chem*, 2007, 282(39): 28834–28842.
- [75] Alvarez C, Garcia-Mata R, Brandon E, Sztul E. COPI recruitment is modulated by a Rab1b-dependent mechanism. *Mol Biol Cell*, 2003, 14(5): 2116–21127.
- [76] Jones S, Jedd G, Kahn RA, Franzusoff A, Bartolini F, Segev N. Genetic interactions in yeast between Ypt GTPases and Arf guanine nucleotide exchangers. *Genetics*, 1999, 152(4): 1543–1556.
- [77] Grosshans BL, Ortiz D, Novick P. Rabs and their effectors: achieving specificity in membrane traffic. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(32): 11821–11827.