

Les protéines Ras et GAP, des relais sur la voie de transmission du signal passant par l'activation de tyrosine kinases

De nombreux facteurs de croissance et quelques hormones se lient à des récepteurs dont la partie carboxyterminale intracellulaire possède une activité de tyrosine kinase : c'est le cas des récepteurs de l'insuline, d'IGF1 (*insulin growth factor 1*), d'EGF (*epidermal growth factor*) de PDGF (*platelet-derived growth factor*), de CSF1 (*colony stimulating factor 1*), etc. De plus, existent également des tyrosine kinases sans domaine extracellulaire, dont des archétypes sont p60^{src} et p56^{lck}. Les uns et les autres sont impliqués dans des phénomènes de stimulation de la division cellulaire ou de différenciation, suivant les contextes. Par ailleurs, nombreux sont les gènes codant pour ces molécules qui sont les équivalents cellulaires d'oncogènes rétroviraux. Les oncogènes *ras* sont des petites protéines G appartenant à une grande famille multigénique codant pour des protéines aux fonctions multiples [1, 2]. Jusqu'à il y a peu, on ignorait complètement les liens précis unissant les proto-oncogènes *ras* aux différentes voies connues d'activation de la croissance cellulaire. En revanche, d'importants progrès avaient été faits concernant la régulation de l'activité des protéines Ras : Ras est inactive sous sa forme liée au GDP et active sous sa forme liée au GTP. Ras-GTP interagit avec des protéines GAP (*GTPase activating protein*) qui stimulent très fortement son activité GTPasique endogène, induisant donc l'inactivation de la protéine Ras. La transition Ras-GDP → Ras-GTP est catalysée par des facteurs d'échange, encore appelés GDS (*GDP dissociation stimulating protein*) et pourrait être inhibée par des protéines de type GDI (*GDP dissociation inhibiting protein*), à vrai dire beaucoup moins bien connues, voire incertaines

pour ce qui est des protéines p21^{ras}. Chez la levure, deux gènes, *CDC25* et *SDC25* semblent être des facteurs d'échange agissant sur les gènes *RAS* de ce micro-organisme (*m/s* n° 7, vol. 6, p. 703).

Très récemment, nous avons rapporté les expériences du groupe de McCormick concluant que la protéine p120-GAP se comportait, sur certains systèmes, non seulement comme un inhibiteur de Ras, mais aussi comme un relais indispensable à son action sur des cibles situées plus en aval (*m/s* n° 4, vol. 8, p. 388).

Ras et tyrosine kinases (figure 1)

• La cascade *bos/sevenless* chez la drosophile

Toute une série de résultats a maintenant démontré que la voie de signalisation passant par les tyrosine kinases nécessitait l'intervention du système Ras/GAP. Les travaux les plus démonstratifs sont probablement ceux portant sur le contrôle génétique des cascades d'événements intervenant au cours du développement. Chez la drosophile, le gène *sevenless* est indispensable à la différenciation d'un type de photorécepteurs de l'œil, les cellules R7. La protéine Sevenless est un récepteur transmembranaire de type tyrosine kinase. Il est stimulé par le produit du gène *bos* (*bride of sevenless*), une protéine transmembranaire synthétisée dans les cellules R8 qui sont ainsi indispensables à la différenciation de la population de neurones R7. Début 1992, deux nouveaux gènes codant pour des protéines situées en aval de cette voie de signalisation étaient détectées : tout d'abord le gène *Sos* (*son of sevenless*) dont la séquence révéla qu'il codait pour une protéine similaire à CDC 25 de *Saccharomyces cerevisiae*, c'est-

à-dire probablement pour un facteur d'échange GDS. Des mutants avec perte de fonction du gène *Sos* ont de très importants troubles du développement, dépassant la non-différenciation des neurones R7 [3]. On découvrit ensuite que la différenciation des cellules R7 à la suite de la stimulation de la protéine Sevenless nécessitait, en aval, un gène *Ras-1*. L'introduction d'un gène *Ras-1* activé par une mutation portant sur le codon 12, ce qui lui fait perdre son activité GTPasique, est capable de compenser des mutations avec perte de fonction des gènes *bos* et *sevenless* [4]. Puis, étaient décrits des mutants *Gap-1* mimant l'activation constitutive du récepteur Sevenless ou la transformation par un gène *Ras-1* activé. *Gap-1* code pour une protéine de type GAP [5]. Cette remarquable série de travaux définissait donc une hiérarchie *bos* → *sevenless* → *Sos* → *Ras-1* → *Gap-1* qui peut s'écrire également facteur de croissance et de différenciation → récepteur tyrosine kinase → facteur d'échange → protéine Ras → protéine GAP. A noter que dans l'exemple signalé ci-dessus, la protéine Gap-1 se comporte uniquement comme un régulateur négatif de Ras-1 puisque sa perte de fonction équivaut à une activation constitutive de Sevenless ou de Ras-1. Toute cette cascade d'activation pourrait aboutir au produit du gène *sina* (*seven in absentia*), une protéine impliquée dans la différenciation des photorécepteurs R7 [6]. Quoique de phénotype différent de *sevenless*, les mutants *Roughened* présentent eux aussi des malformations oculaires et sont une illustration supplémentaire du rôle de Ras dans des processus de différenciation. Le gène *Roughened*, constitutivement activé chez les mutants, code en effet pour un équivalent

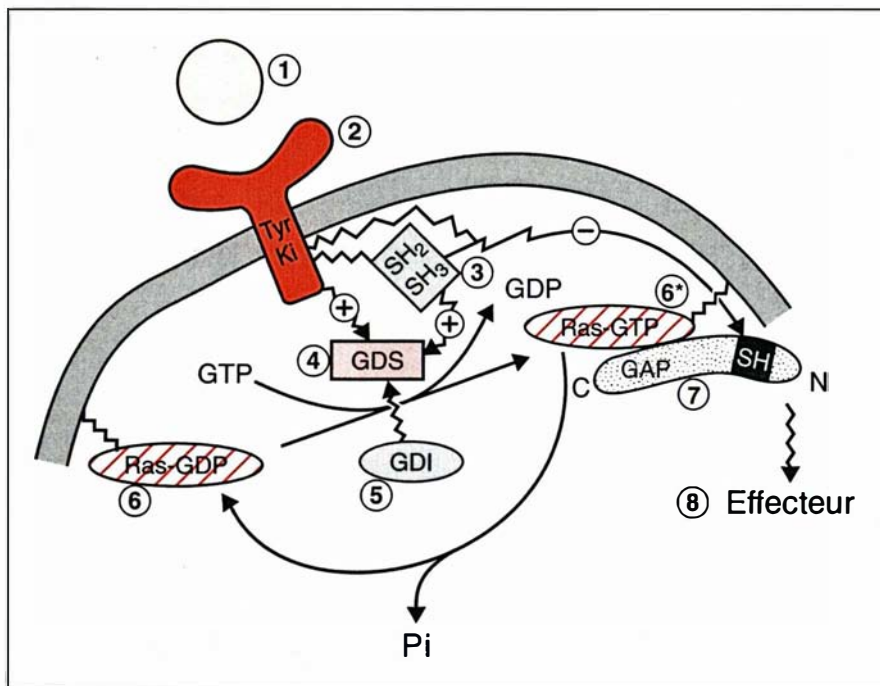


Figure 1. **Schéma de différentes étapes de voies de signalisation empruntant des récepteurs à activité tyrosine kinase.** Ce schéma représente les facteurs de croissance ou morphogènes (par exemple Bos) reconnaissant un récepteur tyrosine kinase (par exemple, Sevenless, Torso, let-23, récepteur de l'insuline, etc.). Dans certains cas, l'autophosphorylation sur les tyrosines induites par l'occupation du récepteur pourrait faciliter l'interaction avec une protéine intermédiaire à domaines SH2 et SH3 (par exemple sem-5) qui serait elle-même reliée à des étapes situées plus en aval. Celles-ci pourraient être le facteur d'échange GDS (par exemple Sos ou CDC 25), qui serait activé, ou bien des protéines GAP qui seraient inactivées. Le facteur inhibant l'échange, GDI, n'est correctement caractérisé ni sur le plan fonctionnel, ni sur le plan moléculaire. L'activation des facteurs d'échanges ou l'inactivation de la GTPase activating protein provoquerait l'accumulation de la forme active de Ras liée au GTP qui interagirait avec certaines protéines GAP. Cette interaction transmettrait plus en aval un signal vers les cibles de cette voie d'induction de la prolifération qui serait rétrocontrôlée grâce à l'activation de la dégradation du GTP en GDP. Certaines protéines GAP pourraient jouer uniquement ce dernier rôle de régulateur négatif et ne pas intervenir dans la transmission du signal. Des facteurs transcriptionnels tels que, probablement, le produit du gène *sina* ou le complexe AP1 pourraient constituer les cibles finales couplant la mise en jeu d'un programme de croissance ou de différenciation à la modification de l'expression des gènes nécessaire à l'exécution de ce programme. ① ligand ; facteur de croissance ; hormone morphogène (Bos). ② récepteur tyrosine kinase (Sevenless, Torso, Let 23). ③ protéines intermédiaires, Sem 5, p95^{vav}. ④ facteur d'échange ; GDS, SOS, CDC25. ⑤ facteur inhibant l'échange ; GDI. ⑥ petite protéine G Ras inactive et activée*, Let 60. Les protéines G sont fixées à la membrane par un résidu farnésyl. ⑦ protéine GAP, NF1. ⑧ cibles effectrices ultimes, probablement facteurs de transcription (*Sina*, AP1).

valent de Rap-1/Krev-1, un antagoniste supposé de p21^{ras} [7] (*m/s* n° 4, vol. 5, p. 260).

• **La cascade let-23/let-60 chez *Caenorhabditis elegans***

Chez le nématode *Caenorhabditis elegans* existe une voie de signalisation similaire, dont les différentes étapes sont

commandées par les produits de gènes agissant en cascade : il s'agit du contrôle du développement des structures vulvaires et, notamment, de la migration des myoblastes vulvaires. En 1990, était décrit le gène *let-23*, codant pour un récepteur de type tyrosine kinase et nécessaire à l'induction de la différenciation vulvaire [8]. Peu après, au

cours de la même année, le gène *let-60* dont l'activité est indispensable à l'activation de *let-23* était cloné. *let-60* code pour une protéine de type Ras et comporte des mutations avec perte ou gain de fonction, ces dernières entraînant un phénotype « multivulvaire » [9]. Enfin, très récemment, a été caractérisé le gène *sem-5* dont l'intégrité est également indispensable à la différenciation via le récepteur *let 23*. La séquence de ce gène montre qu'il code pour une protéine uniquement constituée de domaines de type SH2 et SH3 [10]. SH signifie *sarc homology* et se retrouve dans toute une famille de protéines interagissant avec des phosphotyrosines et des protéines du cytosquelette. SH2 se lie fortement à des phosphotyrosines faisant partie de séquences peptidiques très spécifiques alors que SH3 interagirait avec des protéines du cytosquelette. De tels domaines SH2 et SH3 sont retrouvés au niveau de diverses protéines capables de s'associer à des récepteurs tyrosine du type du récepteur de l'EGF : tel est le cas de la phospholipase C γ , d'une sous-unité de la phosphatidylinositol 3-kinase et de la protéine Raf, une sérine-thréonine kinase [11]. Raf-1 est hyperphosphorylée sur des sérines et des thréonines lors de la stimulation de nombre de récepteurs à activité de tyrosine kinase. Sans que l'on connaisse les mécanismes de cette phosphorylation, des travaux publiés en mars 1992 montrent que, au moins dans les cellules à différenciation neuronale PC12, la fixation du NGF (*nerve growth factor*) par son récepteur (le produit du proto-oncogène *trk*) (*m/s* n° 6, vol. 7, p. 620) entraîne une phosphorylation de Raf-1 relayée par Ras : en effet, un mutant transdominant de Ras (une molécule Ras dont la sérine 17 a été remplacée par une asparagine et qui fixerait le facteur d'échange GDS avec une forte affinité) bloque l'effet de NGF sur la phosphorylation de Raf-1 [12]. Pour en revenir au gène *sem 5*, on peut supposer qu'il est un relais entre différentes molécules de la voie de signalisation commandée par *let 23*. Il pourrait, par exemple, coupler l'autophosphorylation du récepteur tyrosine kinase, produit de *let 23*, à un effecteur plus aval, par exemple une molécule de type GDS qui serait activée ou une *GTPase activating protein* qui

serait inhibée (figure 1). Ce rôle présumptif de *sem 5* chez *C. elegans* rappelle celui proposé il y a peu pour l'oncogène *vav* chez les mammifères : son produit, la protéine p95^{vav}, contient en effet des domaines SH2 et SH3 et, après stimulation, s'associe à des récepteurs de facteur de croissance, au TcR (*T cell receptor*) et au récepteur des IgE sur les basophiles. La phosphorylation de p95^{vav} sur des résidus tyrosine ainsi induite lui permettrait de transmettre le signal à d'autres cibles [13, 14]. L'existence dans cet oncogène de domaines de type HLH (*helix-loop-helix*), *leucine zipper* et de séquences rappelant des motifs de localisation nucléaire a fait supposer un couplage direct avec des facteurs transcriptionnels. En fait, la délétion du domaine HLH, bien loin d'inactiver p95^{vav}, lui confère un plein pouvoir oncogénique [13], si bien que le rôle réel de ces éléments et la réalité du couplage à des facteurs de transcription restent incertains.

• Ras, un relais universel des tyrosine kinases

L'intervention de la protéine Ras dans des voies de signalisation dépendant de récepteurs tyrosine kinases a été étendue à d'autres systèmes que ceux détaillés ci-dessus : chez la drosophile, le gène *torso*, qui code lui aussi pour un récepteur tyrosine kinase, est couplé, en aval, au produit des gènes *Sos* et au gène *Ras* avec intervention d'une protéine de type Raf-1 [15]. L'insuline, activant l'autophosphorylation sur des tyrosines du récepteur auquel elle est liée, semble nécessiter, pour agir, la présence d'une protéine Ras fonctionnelle [16]. La différenciation de fibroblastes 3T3-L1 en adipocytes peut être provoquée par traitement à l'insuline ou par transfection à l'aide d'un vecteur commandant la synthèse d'une protéine Ras oncogénique [17].

Les cytokines hématopoïétiques de la famille des interleukines (IL2, IL3, IL5) et du GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) se fixent sur des récepteurs à un seul passage transmembranaire dénués, par eux-mêmes, d'activité tyrosine kinase [18]. La réponse à ces cytokines dépend, elle aussi, des proto-oncogènes *Ras*, via l'activation très probable de tyrosine kinases intracellulaires [19]

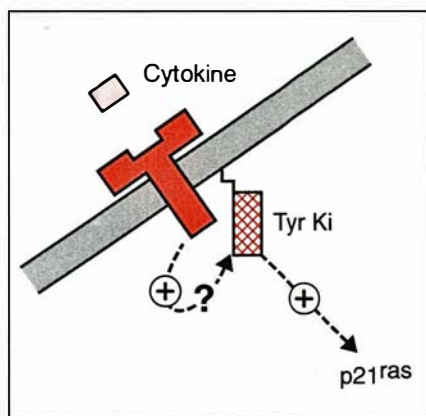


Figure 2. **Mécanisme du probable couplage entre les récepteurs des cytokines hématopoïétiques et p21^{ras}.** Les récepteurs des facteurs de croissance hématopoïétiques n'ont pas d'activité tyrosine kinase propre. Ils pourraient être couplés, par un mécanisme encore inconnu, avec des tyrosine kinases intracellulaires dont l'activation passerait, comme cela est présenté dans la figure 1, par l'intermédiaire du système p21^{ras}. Ce couplage pourrait être direct, ou se faire par l'intermédiaire de protéines de type *Sem 5* ou p95^{vav}.

(figure 2). En d'autres termes, le couple formé par un récepteur de cytokine hématopoïétique et une tyrosine kinase intracellulaire de type p60^{src} ou p56^{lck} serait l'équivalent fonctionnel des récepteurs de facteurs de croissance dotés, par eux-mêmes, d'une activité de tyrosine kinase.

Le rôle de relais joué par p21^{ras} a été également démontré dans l'activation des lymphocytes T, secondaire à la reconnaissance du récepteur de ces cellules par l'antigène spécifique [20]. Dans ce cas, on ne sait pas si l'activation de tyrosine kinases de type p56^{lck} ou celle de la protéine kinase C sont des intermédiaires entre l'activation du récepteur et la mise en jeu de Ras.

GAP, effecteur et (ou) régulateur négatif de Ras

L'ensemble des résultats que nous venons de commenter est parfaitement démonstratif quant aux relations entre les voies des récepteurs de facteurs de croissance et de cytokines et les protéines p21^{ras}. En revanche, persistent une incertitude et des inconnues. L'incertitude concerne le rôle réel des

protéines GAP. Les travaux du groupe de McCormick montrant que la protéine p120-GAP était nécessaire au couplage entre p21^{ras} et les canaux potassiques de l'oreillette cardiaque (*m/s* n° 4, vol. 8, p. 388) tendent à faire de GAP, non seulement un régulateur négatif, mais aussi une protéine Ras cible du complexe actif Ras-GTP. En revanche, les travaux génétiques portant sur la voie de la différenciation des photorécepteurs R7 chez la drosophile identifient la protéine Gap-1 comme, uniquement, un régulateur négatif de la transduction du signal par Ras. Très récemment, F. Schweighoffer *et al.*, de l'équipe de B. Tocqué (Rhône Poulenc Rorer, Vitry-sur-Seine, France) ont obtenu des résultats confortant la vision selon laquelle p120-GAP est nécessaire à la transmission du signal passant par Ras [21]. Ces auteurs ont choisi comme modèle expérimental la transactivation d'un gène test dont le promoteur contient quatre séquences PEA1 dérivées du *enhancer* du virus du polyome. Le motif PEA1 fixe un complexe AP1, c'est-à-dire un hétérodimère Jun/Fos. Par un mécanisme encore inconnu, l'activation de Ras aboutit à la stimulation de la transcription de cette construction génique. L'équipe de laboratoires Rhône-Poulenc Rorer a tout d'abord montré que la transactivation pouvait être produite par l'introduction dans des cellules, en même temps que le gène test, de constructions codant pour l'oncogène viral *v-Src*, l'oncogène moyen T du virus polyome et la protéine SDC 25 équivalent à un facteur d'échange de levure. *v-src* est une tyrosine kinase, moyen T agit en activant la tyrosine kinase endogène p60^{src} et SDC 25 provoque l'échange du GDP par du GTP, c'est-à-dire l'activation de Ras. Schweighoffer *et al.* ont ensuite montré que l'introduction supplémentaire d'un plasmide codant pour la région carboxyterminale de GAP, dépourvue des domaines SH2 et SH3, bloquait la transactivation du gène test provoqué par tous les moyens que nous venons d'énumérer, mais non pas celle entraînée par l'introduction de l'oncogène *v-Mos*. L'oncogène *Mos* code pour une sérine thréonine kinase dont la voie de signalisation ne passe, par conséquent, pas par les protéines p21^{ras}. Le fragment carboxyterminal

de p120-GAP correspond à la région d'interaction avec le complexe Ras-GTP et au domaine catalytique responsable de l'activation de l'activité GTPasique. Cependant, l'effet de ce fragment de GAP n'est pas expliqué uniquement par la désactivation de Ras-GTP en Ras-GDP puisque elle s'exerce également sur un Ras oncogénique qui a perdu son activité GTPasique intrinsèque (figure 3). Bien plus probablement, il y a compétition pour la fixation à Ras-GTP entre p120-GAP endogène et le fragment carboxyterminal de GAP, ce dernier étant incapable de transmettre le signal plus en aval. En accord avec cette hypothèse, l'inhibition due au fragment GAP carboxyterminal peut être levée en provoquant la synthèse dans la cellule d'une grande quantité de protéine GAP normale. Ces résultats indiquant que p120-GAP est bien située en aval de Ras-GTP dans la transmission du signal n'expliquent en rien les résultats obtenus chez la drosophile chez laquelle l'absence de Gap-1 aboutit à une transmission constitutive du signal et non pas à son arrêt. En réalité, plusieurs types de protéines douées d'activité *GTPase-activating protein* pourraient exister, les unes et les autres étant des régulateurs négatifs, certaines seulement étant, de plus, des cibles intermédiaires de Ras-GTP. Chez les mammifères, on connaît plusieurs protéines ayant des activités GAP : outre p120-GAP, la protéine NF1, produit du gène de susceptibilité à la neurofibromatose de type 1, a une activité GAP extrêmement puissante pour les protéines p21^{ras} [22-24]. p120-GAP et NF1 ont en commun le domaine catalytique mais NF1 ne possède pas les domaines SH2 et SH3, dont les travaux du groupe de McCormick et ceux de Schweighoffer *et al.* démontrent qu'ils sont indispensables à la transmission du signal. Peut-être, de ce fait, NF1 est-elle une protéine GAP du même type que Gap-1 de drosophile, c'est-à-dire dont l'action est de limiter la transduction du signal engendré par l'activation de Ras. En faveur de cette hypothèse, on peut relever que NF1 est capable d'inhiber l'action oncogénique de Ras activé, comme le fait le fragment carboxyterminal de p120-GAP doté de son pouvoir d'activation de la GTP-ase mais dépourvu

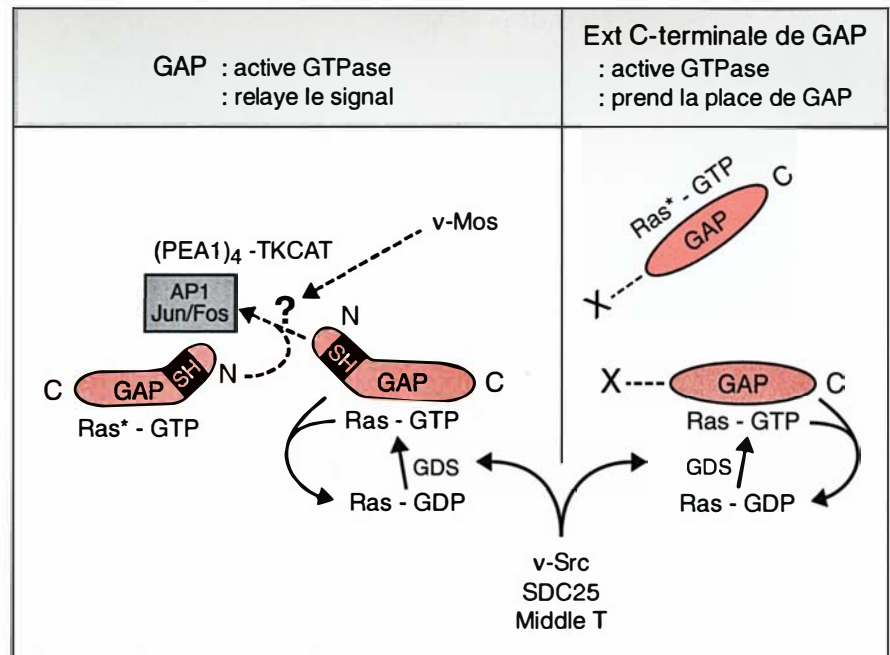


Figure 3. **Inhibition de la transactivation empruntant la voie de p21^{ras} par un fragment carboxyterminal de GAP.** Un gène test est constitué de la séquence codant pour la chloramphénicol-acétyl-transférase bactérienne, contrôlée par un promoteur du gène de la thymidine kinase du virus Herpes simplex stimulé par quatre répétitions de l'élément PEA1. Ce dernier, tiré de l'enhancer du virus polyome, fixe un complexe AP1, c'est-à-dire un hétérodimère Jun/Fos. En présence de protéine GAP normale, Ras-GTP, normal ou oncogénique, transactive le gène test. Les oncogènes v-Src, moyen T de polyome et le facteur d'échange SDC 25 aboutissent également à la transactivation du gène test. Cette transactivation est bloquée par la synthèse dans la cellule de grande quantité d'un fragment carboxyterminal de p120-GAP. Ce dernier agit très probablement par l'intermédiaire d'une compétition avec la protéine GAP entière dont l'extrémité N-terminale serait indispensable à la transmission du signal aboutissant à la transactivation de la construction (PEA1)₄ TK CAT. En revanche, l'oncogène v-Mos, une sérine-thréonine-kinase, continue d'être transactivateur en présence de l'extrémité carboxyterminale de GAP. (D'après les travaux de Schweighoffer *et al.* [21]).

de son domaine aminoterminale effecteur [24]. Un tel rôle de NF1 s'intégrerait bien dans sa fonction anti-oncogénique puisque son inactivation entraîne le développement de neurofibromes*. Reste maintenant à répondre aux questions non résolues par tous ces travaux : quelles sont les étapes de transfert du signal situées en aval de p120-GAP, la couplant aux cibles

des signaux engendrés par des facteurs de croissance ou des cytokines ? Comment des voies de signalisation aussi différentes et aux effets aussi divers que celles stimulées par l'EGF, le NGF [25], la thrombine [26] ou le TGF β [27] peuvent-elles passer par un relais commun ? En d'autres termes, quels sont, en aval de l'activation de Ras, les mécanismes de la diversification et de la spécialisation des signaux ? Voilà bien des réponses en attente qui seront probablement apportées par cette combinaison magique de travaux convergents de biochimie chez les mammifères et de génétique sur des modèles aussi éloignés des précédents que ceux des insectes et des nématodes. Cette possibilité de reconstruire le puzzle à partir de données aussi disparates témoigne de l'unicité des méca-

* Trois articles récents, deux publiés dans le numéro du 17 avril de Cell et le troisième dans celui du 23 avril de Nature établissent une claire corrélation entre une très faible activité de GAP-NF1 [28, 29], due à l'association d'une anomalie constitutionnelle et de mutations acquises [30], et la croissance des cellules de Schwannomes malins [28, 29] dans lesquelles, malgré la présence normale de p120-GAP, la proportion de Ras-GTP est élevée. De plus, des mutations ponctuelles du gène NF1 sont également observées dans des tumeurs non liées à la neurofibromatose [30].

nismes en cause, de leur extraordinaire conservation au cours de l'évolution : c'est que nous sommes là probablement à un centre névralgique de la signalisation des cellules vivantes, au moins chez les eucaryotes, là où convergent, sont traités et acheminés de multiples signaux informant la cellule sur son environnement ■

Axel Kahn

RÉFÉRENCES

1. De Gunzburg J. Les petites protéines G. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 322-3.
2. Goud B. Le transport vésiculaire des cellules eucaryotes est contrôlé par des GTPase. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 324-34.
3. Bonfini L, Karlovitch CA, Dasgusta C, Banerjee V. The *son of sevenless* gene product : a putative activator of Ras. *Science* 1992 ; 255 : 6036.
4. Fortini ME, Simon MA, Rubin GM. Signalling by the *sevenless* protein tyrosine kinase is mimicked by Ras 1 activation. *Nature* 1992 ; 355 : 559-61.
5. Gaul U, Mardon G, Rubin GM. A putative Ras GTPase activating protein acts as a negative regulatory of signalling by the *Sevenless* receptor tyrosine kinase. *Cell* 1992 ; 68 : 1007-19.
6. Carthew RW, Rubin GM. *Seven in absentia*, a gene required for specification of R7 cell fate in the drosophila eye. *Cell* 1990 ; 63 : 561-77.
7. Hariharen IK, Carthew RW, Rubin GM. The *Drosophila roughened* mutation : activation of a Rap Homolog disrupts eye development and interferes with cell determination. *Cell* 1991 ; 67 : 717-22.
8. Aroian RV, Koga M, Mendel JE, Oshima Y, Steinberg PW. The *let-23* gene necessary for *Caenorhabditis elegans* vulval induction encodes a tyrosine kinase of the EGF receptor subfamily. *Nature* 1990 ; 348 : 693-9.
9. Beitel CJ, Clark SG, Horvitz RH. *Caenorhabditis elegans ras* gene *let-60* acts as a switch in the pathway of vulval induction. *Nature* 1990 ; 348 : 503-9.
10. Clark SG, Stern MJ, Horvitz RH. *Caenorhabditis elegans* cell-signalling gene *sem-5* encodes a protein with SH2 and SH3 domains. *Nature* 199 ; 356 : 340-4.
11. Filhol O, Cochet C. Le transfert des signaux mitogéniques : une affaire de particules. *médecine/sciences* 1990 ; 6 : 980-4.
12. Wood KW, Sarnecki C, Roberts TM, Blenis J. *ras* mediates nerve growth factor receptor modulation of three signal-transducing protein kinases : MAP kinase, Raf 1 and RSK. *Cell* 1992 ; 68 : 1041-50.
13. Bustelo XR, Ledbetter JA, Barbacid M. Product of *vav* proto-oncogene defines a new class of tyrosine protein kinase substrates. *Nature* 1992 ; 356 : 68-71.
14. Margolis B, Hu P, Katzav S, *et al.* Tyrosine phosphorylation of *vav* protooncogene product containing SH2 domain and transcription factor motifs. *Nature* 1992 ; 358 : 71-4.
15. Barinaga. Signals into unknown territory. *Science* 1992 ; 255 : 1640-1.
16. Burgering BMTh, Medema R, Maassen JA, *et al.* Insulin stimulation of gene expression mediated by p21^{ras} activation. *EMBO J* 1991 ; 10 : 1103-9.
17. Benito M, Porras A, Nebreda AR, Santos E. Differentiation of 3T3-L1 fibroblasts to adipocytes induced by transfection of *ras* oncogenes. *Science* 1991 ; 253 : 565-8.
18. Wendling F, Tambourin P. La superfamille des récepteurs de cytokines et l'oncogène *v-mpl*. *médecine/sciences* 1991 ; 7 : 569-77.
19. Duronio V, Welham MJ, Abraham S, Dryden P, Schrader JW. p21^{ras} activation via hemopoietin receptors and c-kit requires tyrosine kinase activity but not tyrosine phosphorylation of p21^{ras} GTPase activating protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992 ; 89 : 1587.
20. Downward J, Graves JD, Warne PH, Rayter S, Cantrell DA. Stimulation of p21^{ras} upon T-cell activation. *Nature* 1990 ; 346 : 719-23.
21. Schweighoffer F, Barlat I, Chevallier-Multon Mc, Tocqué B. Implication of Gap in Ras-dependent transactivation of a polyoma enhancer sequence. *Science* 1992 ; 256 : 825-7.
22. Xu G, Lin B, Tanaka K, *et al.* The catalytic domain of the neurofibromatosis type 1 gene product stimulates Ras GTPase and complements ira mutants of *S. cerevisiae*. *Cell* 1990 ; 63 : 835-41.
23. Martin GA, Viskochil D, Bollag G, *et al.* The GAP-related domain of the neurofibromatosis type 1 gene product interacts with Ras p21. *Cell* 1990 ; 63 : 843-9.
24. Ballester R, Marchuk D, Boguski M, *et al.* The NF1 locus encodes a protein functionally related to mammalian GAP and yeast IRA proteins. *Cell* 1990 ; 63 : 851-9.
25. Chao MV. Growth factor signaling : where is the specificity ? *Cell* 1992 ; 68 : 995-7.
26. Cichowski K, McCormick F, Brugge JS. p21^{ras} GAP association with Fyn, Lyn and Yes in thrombin-activated platelets. *J Biol Chem* 1992 ; 267 : 5025-8.
27. Mulder KM, Morris SL. Activation of p21^{ras} by transforming growth factor β in epithelial cells. *J Biol Chem* 1992 ; 267 : 5029-31.
28. De Clue JE, Papageorge AG, Fletcher JA, *et al.* Abnormal regulation of mammalian p21^{ras} contributes to malignant tumor growth in von Recklinghausen (type 1) neurofibromatosis. *Cell* 1992 ; 69 : 265-73.
29. Basu TN, Gutmann DH, Fletcher JA, *et al.* Aberrant regulation of ras proteins in malignant tumour cells from type 1 neurofibromatosis patients. *Nature* 1992 ; 356 : 713-5.
30. Ly Y, Bollag G, Clark R, *et al.* Somatic mutations in the neurofibromatosis 1 gene in human tumors. *Cell* 1992 ; 69 : 275-81.