

Des signaux entrecroisés

Dans tout un bouquet de mini-synthèses et de nouvelles, ce numéro de médecine/sciences illustre l'une des tendances fortes des recherches actuelles sur la transmission du signal : la complexité, l'enchevêtrement... et une difficulté croissante pour comprendre les bases de la spécificité de l'action des signaux extracellulaires. C'est ainsi que nous retrouvons des agents familiers aux lecteurs de m/s : le co-activateur CBP, cible de l'insuline et de l'AMP cyclique, qui ont pourtant des effets généralement opposés ; les petites protéines de la famille Rho, interconnectées avec les voies de régulation par le stress et par l'AMP cyclique ; les MAP kinases, impliquées dans, ou modulées par, l'action de tous ces systèmes. Même les voies les plus classiques de stimulation hormonale sont loin d'avoir révélé tous leurs mystères : ceux-ci s'épaississent même en ce qui concerne l'insuline que l'on trouve agir sur un nombre croissant de voies sans que cela débouche sur une vision cohérente de son mode d'action. Et, pour compliquer encore les choses, là où on connaissait une hormone, telle la GHRH, il y en a souvent plusieurs. Tout se passe comme si les systèmes de transmission des signaux pouvaient être définis de façon satisfaisante en périphérie du système – par exemple les actions hormonales – et non encore en son cœur, siège d'un réseau enchevêtré d'interactions et de réactions semblant encore vaguement chaotiques à l'observateur. Il n'est pas sûr que la simple étude des réactions élémentaires et des partenaires suffise jamais pour comprendre en détail les propriétés de l'ensemble.

Vers une compréhension des fonctions effectrices des petites protéines G de la famille Rho et de leur rôle possible dans le système immunitaire

Au cours des trois dernières années, médecine/sciences s'est fait l'écho des progrès accomplis dans la compréhension des fonctions des protéines de la famille Rho et de leur régulation. Ces petites protéines G appartiennent à la superfamille Ras et comprennent actuellement une douzaine de membres répartis en trois groupes selon des critères d'homologie structurale et fonctionnelle : Rho, Rac et Cdc42 [1]. Les protéines de la famille Rho règlent l'organisation du cytosquelette d'actine [2, 3]. Cependant, l'année 1995 nous aura apporté une somme remarquable de nouvelles données, indiquant qu'au-delà de ce rôle structurant du cytosquelette, les protéines Rho étaient des maillons essentiels de la transmission des événements qui contrôlent la transcription et la prolifération cellulaire. La revue de Zalcman *et al.* [4] permet de faire le point sur ces progrès récents et les nouveaux concepts qui en découlent, tout en mesurant le chemin parcouru en quelques mois. Mais nous ne sommes pas encore au bout de la route, et 1996 s'annonce déjà comme une très grande année, avec notamment la publication de plusieurs articles identifiant de nouvelles protéines qui interagissent spécifiquement avec la forme GTP de Rho et représentent des effecteurs potentiels de ses effets biologiques.

Nouveaux effecteurs des protéines Rho

Les petites protéines G peuvent adopter deux conformations, selon la nature du nucléotide guanylique auquel elles sont momentanément associées. Lorsqu'elles sont liées au GDP, elles se trouvent sous une conformation inactive. Elles peuvent alors interagir avec leurs facteurs d'échange, qui en libérant le GDP, favorisent la liaison au GTP et le passage vers une conformation active. Ce changement de conformation permet l'interaction spécifique avec des protéines dites effectrices qui vont déclencher ou poursuivre la cascade d'activation. La conformation GTP permet aussi l'interaction avec les protéines GAP (*GTPase activating protein*), qui vont activer l'hydrolyse du GTP et induire le retour vers un état inactif. Il faut noter ici que la frontière entre protéines GAP et protéines effectrices n'est pas toujours très claire, les deux fonctions pouvant être théoriquement portées par une même molécule. Depuis un peu plus de deux ans, de nombreuses équipes se sont attachées à identifier les fonctions contrôlées par les protéines Rho et à en caractériser les effecteurs moléculaires. Les méthodologies employées ont fait appel au criblage de banques d'expression par des protéines Rho

Tableau I						
NOUVEAUX EFFECTEURS DES PETITES PROTÉINES G DE LA FAMILLE Rho						
Effecteur	Cdc42	Rac	Rho	Notes	Réf.	
Absence de consensus						
p67 <i>phox</i>	non	oui	non	NADPH oxydase	34, 35	
Ost	non	oui	non	Fonction inconnue (domaine DBL)	17	
α/β Tubuline	non	oui	non	Élément du cytosquelette	18	
PKC1*#	non	n.a.	oui	MAP-kinase et intégrité membranaire	14	
Domaine de type CRIB						
p65PAK	oui	oui	non	Activation de MEKK/JNK	7, 8	
STE*#	oui	n.a.	non	Réponse aux phéromones	8	
WASP*	oui	oui	non	Syndrome de Wiskott-Aldrich	10, 22, 23	
ACK	oui	non	non	Fonction inconnue (tyrosine kinase)	36	
Domaine de type REM1						
Rhotekin	non	non	oui	Fonction inconnue	12	
PKN/PRK1*	non	non	oui	Fonction inconnue (apparentée à PKC)	11, 13	
Rhopiline	non	non	oui	Fonction inconnue	11	
Domaine de type REM2 ?						
ROK α/β	non	n.d.	oui	Fonction inconnue (région DMK)	16	
p160ROCK	oui	non	oui	Fonction inconnue (région DMK)	37	
Citron	non	oui	oui	Fonction inconnue	15	

Ne sont données ici que les protéines effectrices de Rho, Rac et Cdc42, les plus récemment identifiées. Détails et références concernant les effecteurs précédemment décrits tels que phospholipase D et PI-5kinase pour Rho, PI-3kinase pour Cdc42, phospholipase A2 pour Rac seront trouvés dans la revue de Zalcman et al. [4].

* Protéines initialement identifiées grâce à leurs homologues de séquence.

Saccharomyces cerevisiae.

n.a.: non applicable, *S. cerevisiae* n'exprimant pas Rac.

n.d.: non déterminé.

radiomarquées, à la purification de protéines en s'appuyant sur leur capacité de reconnaître la forme GTP de ces protéines, ou au système du double hybride, utilisant comme appât des protéines Rho bloquées en conformation GTP par une mutation ponctuelle [5].

A l'instar de Ras qui, sous sa conformation GTP, interagit avec la sérine/thréonine kinase Raf et la recrute à la membrane, ce qui conduit à son activation [6], il a été montré que Cdc42 et Rac reconnaissent et activent une famille de sérine kinases dénommées p65PAK, homologues du produit du gène *STE20* qui contrôle la réponse aux phéromones chez *S. cerevisiae* [7, 8]. p65PAK serait impliquée dans une voie qui, passant par MEKK (*MAPkinase/extracellular signal-regulated kinase/kinase/kinase*), conduirait à l'activation de JNK (*c-Jun N-terminal kinase*) et donc, via

Jun, pourrait régler la transcription de certains gènes [9]. Cependant, les articles publiés au cours de ces derniers mois ont montré que, comme Ras, chacune des protéines de la famille Rho pouvait, sous sa forme GTP, interagir avec plusieurs protéines, dites effectrices, même si leurs fonctions ne sont pour la plupart pas encore décrites. Le *Tableau I* propose un début de classification de ces nouveaux effecteurs, fondé sur leur mode d'interaction et leur spécificité. Rac et Cdc42 partagent un certain nombre d'effecteurs qui contiennent un domaine CRIB (*Cdc42/Rac interactive binding* [10]). La recherche systématique dans les banques de données de protéines possédant un domaine CRIB, ou homologue, fait apparaître vingt-cinq séquences correspondant à des effecteurs potentiels, ce qui, compte tenu de notre connaissance encore limi-

tée des génomes eucaryotes, suggère qu'il en existe bien davantage. Par ailleurs, certaines de ces protéines contenant un domaine CRIB potentiel n'interagissent avec aucune protéine Rho connue à ce jour, ce qui, là aussi, suggère l'existence de protéines Rho qui restent à identifier, et trois nouveaux gènes *Rho* sont en fait en cours de caractérisation (P. Charadin, communication personnelle). Le domaine d'interaction avec Rho, REM1 (*Rho effector motif*) est présent dans la région aminoterminal de deux effecteurs, Rhophilin et Rhotekin, de fonction encore inconnue, et dans celle d'une nouvelle kinase, PKN ou PRK, apparentée par son domaine catalytique à la famille des PKC [11-13]. Il faut d'ailleurs noter ici que, chez *S. cerevisiae*, PKC1 est un effecteur direct de Rho qui contrôlerait la voie MAP kinase, mais aussi l'intégrité membranaire [14]. Un

domaine provisoirement dénommé REM2 définit une deuxième sous-famille d'effecteurs de Rho qui sont des protéines de haut poids moléculaire comportant plusieurs motifs intéressants, notamment une région homologue du domaine catalytique de la kinase DMK (*myotonic dystrophy kinase*), un domaine PH (*Plekstrin homology*), une région en doigt de zinc et, pour l'une d'entre elles, une région à glissière de leucines (*leucine zipper*) [15]. Le caractère fonctionnel de ce domaine REM2 sera cependant plus difficile à analyser dans la mesure où il est proche d'une importante région structurée en hélices α interagissant les unes avec les autres (interaction de type *coiled-coil*). Dans ce sous-groupe, la sérine/thréonine kinase ROK est activée par Rho-GTP qui la recrute à la membrane plasmique, indiquant que la localisation des protéines Rho et de leurs effecteurs au niveau de la membrane pourrait jouer un rôle fonctionnel essentiel, comme discuté plus loin [16]. Enfin, un dernier groupe d'effecteurs de Rac ou Rho, connus depuis quelque temps (p67phox) ou identifiés plus récemment, ne contiennent pas d'élément remarquable dans leur domaine d'interaction. L'oncogène Ost, isolé à partir d'une lignée d'ostéosarcome, contient dans sa région carboxyterminale un domaine d'échange Dbp, actif sur Rho et Cdc42 et, en aminoterminal, une région (non-CRIB) d'interaction avec la forme GTP de Rac [17]. Bien que la fonction de Ost ne soit pas encore clairement établie, une telle molécule bi-fonctionnelle pourrait rendre compte de la cascade d'activation Cdc42 > Rac > Rho. Enfin Rac-GTP est capable de lier la tubuline de façon spécifique, mais le rôle de cette interaction dans l'organisation ou la polarisation du cytosquelette reste à démontrer [18]. Il est important de noter ici que nos connaissances sur ces protéines nouvellement décrites sont encore parcellaires, et si la plupart d'entre elles possèdent les propriétés théoriques d'un effecteur (interaction *in vitro* ou en système double hybride avec la forme active, liée au GTP, des protéines Rho), il faudra pour comprendre leur rôle physiologique

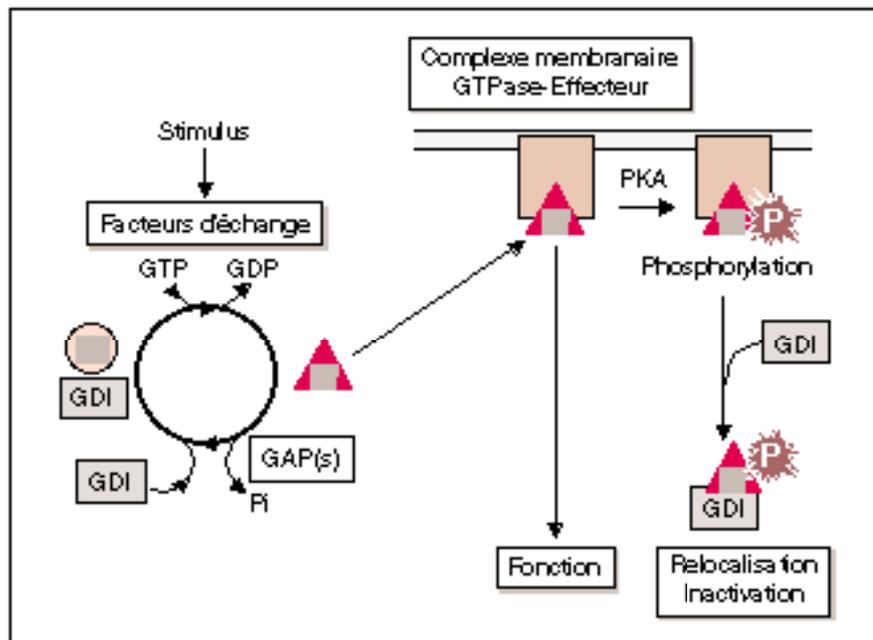


Figure 1. **Régulation de RhoA par phosphorylation et relocalisation.** Les protéines Rho sont présentes dans le cytosol sous une forme majoritairement chargée en GDP et complexée à GDI. L'activation cellulaire dissocie le complexe Rho/GDI et stimule l'entrée de GTP sur Rho qui, sous cette conformation active, va interagir avec ses protéines effectrices. La fonction se termine normalement par l'hydrolyse du GTP et Rho, en conformation inactive, retourne dans le cytosol, transportée par GDI. La phosphorylation de Rho par la PKA permet à GDI de s'associer avec une forte affinité à la forme Rho-GTP phosphorylée, dissociant ainsi le complexe GTPase/effecteur et extrayant Rho de la membrane. Ce schéma propose donc une régulation alternative de la fonction de Rho, indépendante de l'hydrolyse du GTP, et susceptible de s'appliquer à d'autres petites protéines G de la famille Ras.

identifier les fonctions cellulaires qu'elles contrôlent précisément.

Quel rôle pour les protéines Rho dans le lymphocyte ?

Comme les protéines de la famille Rho elles-mêmes, leurs effecteurs sont d'une façon générale assez ubiquitaires dans leur expression, et les fonctions qu'ils contrôlent sont vraisemblablement essentielles pour tous les types cellulaires. Il n'y avait donc *a priori* aucune bonne raison de se demander si les protéines Rho avaient des fonctions spécifiques dans les cellules du système immunitaire. En revanche, on pouvait envisager

qu'elles participent à certaines des fonctions spécialisées des cellules de ce système, et nous nous sommes intéressés au rôle possible de Rho dans la cytotoxicité à médiation cellulaire. L'inhibition fonctionnelle de Rho, obtenue en présence de l'exoenzyme C3 de *C. botulinum*, dans des cellules cytotoxiques *natural killer*, ou dans des lymphocytes T allogéniques, bloque leur fonction [19]. Le mécanisme de cette inhibition n'est pas encore complètement élucidé, mais la désorganisation du cytosquelette induite par l'exoenzyme C3, pourrait être responsable du blocage de l'exocytose polarisée des granules cytotoxiques, et/ou d'une diminu-

tion de l'affinité des molécules d'adhérence de type intégrines, qui permettent la formation des conjugués entre les lymphocytes cytotoxiques et leurs cibles [20]. Il a d'ailleurs été montré que Rho, *via* son effet sur le cytosquelette, modifiait l'adhérence intercellulaire des lymphocytes B en affectant l'affinité de LFA-1, une protéine membranaire associée au cytosquelette [21]. Par ailleurs, Stowers *et al.* (Cambridge, MA, USA) ont récemment montré que Cdc42 réglait la polarisation du cytosquelette d'actine et des microtubules, dans les lymphocytes T confrontés à une cellule présentant l'antigène, et jouait de ce fait un rôle sans doute important dans une fonction particulièrement essentielle du système immunitaire [22]. Une confirmation éclatante de ce rôle présumé de Cdc42, a récemment été apportée par la découverte que la protéine WASP, dont les mutations sont responsables du syndrome de Wiskott-Aldrich, un déficit immunitaire sévère, était en fait un effecteur de Cdc42 (*m/s n° 10, vol. 12, p. 1173*) [23]. Le rôle direct de WASP dans la polymérisation de l'actine induite par Cdc42 rend probablement compte de la majorité des anomalies fonctionnelles des lymphocytes, associées au syndrome de Wiskott-Aldrich, ainsi que de la thrombopénie qui serait due à un défaut de fragmentation des mégacaryocytes [24]. Cdc42 pourrait ainsi contrôler, probablement de façon indépendante, d'une part, l'organisation du cytosquelette *via* WASP et, d'autre part, des événements nucléaires *via* p65PAK et la voie Jun kinase. Sans doute l'implication de ces protéines dans le système immunitaire, ou plus largement dans la lignée hématopoïétique, n'en restera pas là: en effet, outre l'expression spécifique de Rac2 dans ces cellules et son rôle dans le contrôle de la NADPH oxydase, les lymphocytes produisent aussi une isoforme particulière de GDI, Ly-GDI (*lymphocyte - GDP dissociation inhibitor*), ainsi qu'une Rho-GAP spécifique, qui pourraient peut-être répondre dans ces cellules à des voies de stimulation particulières contrôlant l'activation des protéines Rho [25, 26].

Régulation de la localisation intracellulaire de Rho

La co-localisation d'une protéine G et de ses facteurs d'échange est essentielle à son activation, mais sa proximité avec ses effecteurs est, de la même façon, requise pour sa fonction. Dans le modèle de Ras, qui siège à la membrane plasmique, la stimulation des récepteurs à activité tyrosine kinase conduit au recrutement du complexe Grb2-SOS à la membrane. SOS, le facteur d'échange de Ras, active Ras, et Ras-GTP induit la translocation et l'activation de Raf [6]. Les protéines Rho, mais aussi les protéines Rab, membres de la troisième branche importante de la superfamille Ras, sont, à l'état quiescent, maintenues sous forme soluble dans le cytosol par les protéines GDI. Ces dernières sont sans doute mal nommées puisque, mêmes si elles empêchent la dissociation du GDP, leur fonction principale semble être de contrôler la localisation cellulaire des petites protéines G [27, 28]. Les événements qui régulent la dissociation des complexes Rho/GDI sont mal connus, mais lorsque les protéines Rho se chargent en GTP, elles se déplacent à la membrane où on les retrouve libres de GDI. Elles vont alors interagir avec leurs effecteurs, qui dans cette hypothèse seraient membranaires, et/ou avec leurs GAP, hydrolyser le GTP en GDP et être à nouveau extraites de la membrane par GDI.

Nous avons récemment montré que dans les lymphocytes cytotoxiques un événement de phosphorylation, induit par la protéine kinase dépendante de l'AMP cyclique (PKA), induisait le déplacement du petit *pool* membranaire de RhoA (moins de 2% des protéines RhoA de la cellule) vers le cytosol [29]. RhoA est directement phosphorylée sur un résidu sérine (en position 188), proche de l'extrémité carboxyterminale qui porte la chaîne d'acide gras (géranyl-géranyl) responsable de l'ancrage membranaire. Cette phosphorylation augmente l'affinité de GDI pour la forme GTP de Rho. Ainsi, dans ces conditions, GDI devient capable d'interagir avec Rho-GTP et de l'extraire de la membrane

sous une forme encore active, indépendamment de l'hydrolyse du GTP. Rho se trouve alors séparé de ses effecteurs, ce qui conduit à une interruption du signal transmis par Rho-GTP (*figure 1*). Les agents qui induisent une augmentation de la concentration intracellulaire d'AMP cyclique, et activent la PKA, étaient connus depuis longtemps comme des modulateurs puissants de la fonction cytotoxique [30]. Il est possible que la phosphorylation/translocation de RhoA, qui est transitoire, règle le recyclage des lymphocytes cytotoxiques. Ce recyclage implique en effet, d'une part, que la cellule tueuse soit capable de moduler l'affinité de ses molécules d'adhérence pour se séparer d'une cible morte et que, dans le même temps, elle ait bloqué l'exocytose de ses granules cytotoxiques pour conserver une partie de son potentiel lytique vis-à-vis de sa prochaine victime; il a été montré que ces phénomènes s'accompagnaient de variations de la concentration intracellulaire d'AMP cyclique [31]. RhoA n'est cependant pas la seule petite protéine G susceptible d'être phosphorylée. En effet, Rap1A, Rap1B et Rad sont aussi des substrats de la PKA. Rab3B, Rab6 et Rab8 sont phosphorylées en réponse à la thrombine par une kinase non identifiée et Rab1 et Rab4 le sont par p34^{cdc2} au cours du cycle cellulaire [32, 33]. Dans tous ces cas, la phosphorylation a lieu sur un résidu sérine homologue de la sérine 188 de RhoA, proche de l'extrémité carboxyterminale et, lorsque cela a été étudié, cette phosphorylation conduit à un changement de localisation de la petite protéine G, sans doute relayé par les protéines GDI. Selon ce modèle, l'activation d'une petite protéine G pourrait ne pas conduire inéluctablement au signal attendu, accompagné de l'hydrolyse du GTP, mais pourrait être interrompue par l'intervention de GDI qui, après un événement de phosphorylation, retirerait la petite protéine G de la proximité de sa cible effectrice ■

TIRÉS À PART

J. Bertoglio.

RÉFÉRENCES

1. Valencia A, Chardin P, Wittinghofer A, Sander C. The ras protein family: evolutionary tree and role of conserved amino acids. *Biochemistry* 1991; 30: 4637-48.
2. Chardin P, Boquet P, Madaule P, Popoff MR, Gill, DM. The mammalian G protein rhoC is ADP-ribosylated by Clostridium botulinum exoenzyme C3 and affects actin microfilaments in Vero cells. *EMBO J* 1989; 8: 1087-92.
3. Fort P, Vincent S. Transduction du signal mitogène, cytosquelette et petites protéines G: vers un réseau de protéines GAP? *médecine/sciences* 1993; 9: 59-65.
4. Zalzman G, Closson V, Honoré N, Olofsson B, Tavitian A. Participation de la cascade des protéines Rho à la régulation du cytosquelette: rôle possible dans les mécanismes d'oncogenèse. *médecine/sciences* 1995; 11: 1551-6.
5. Camonis JC, Plessis A. Le système double-hybride, mode d'emploi. *médecine/sciences* 1994; 10: 10.
6. Chardin P. Protéines Ras et transmission des signaux mitogènes. *médecine/sciences* 1994; 10: 657-64.
7. Manser E, Leung T, Salihuddin H, Zhao ZS, Lim L. A brain serine/threonine protein kinase activated by CDC42 and Rac1. *Nature* 1994; 367: 40-6.
8. Martin GA, Bollag G, McCormick, Abo A. A novel serine kinase activated by rac1/CDC42Hs-dependent autophosphorylation is related to PAK65 and STE20. *EMBO J* 1995; 14: 1970-8.
9. Vojtek AB, Cooper JA. Rho family members: activation of MAP kinase cascades. *Cell* 1995; 82: 527-9.
10. Burbelo PD, Drechsel D, Hall A. A conserved binding motif defines numerous candidate target proteins for both Cdc42 and Ras GTPases. *J Biol Chem* 1995; 270: 29071-4.
11. Watanabe G, Saito Y, Madaule P, Ishizaki T, Fujisawa K, Morii N, Mukai H, Ono Y, Kakizuka A, Narumiya S. Protein kinase N and PKN-related protein, rhotillin, as target of small GTPase Rho. *Science* 1996; 271: 646-8.
12. Reid T, Furuyashiki T, Ishizaki T, Watanabe G, Watanabe N, Fujisawa K, Morii N, Madaule P, Narumiya S. Rhotheikin, a new putative target for Rho bearing homology to a serine/threonine kinase, Protein Kinase N, and rhotillin in the Rho-binding domain. *J Biol Chem* 1996; 271: 13556-61.
13. Amano M, Mukai H, Ono Y, Chihara K, Matsui T, Hamajima Y, Okawa K, Iwamatsu A, Kaibuchi K. Identification of a putative target for Rho as the serine-threonine kinase protein kinase N. *Science* 1996; 271: 648-50.
14. Nonaka H, Tanaka K, Hirano H, Fujiwara T, Kohno H, Umikawa M, Mino A, Takai Y. A downstream target of RHO1 small GTP-binding protein is PKC1, a homolog of protein kinase C, which leads to activation of the MAP kinase cascade in *Saccharomyces cerevisiae*. *EMBO J* 1995; 14: 5931-8.
15. Madaule P, Furuyashiki T, Reid T, Ishizaki T, Watanabe G, Morii N, Narumiya S. A novel partner for GTP-bound forms of Rho and Rac. *FEBS Lett* 1995; 377: 243-8.
16. Leung T, Manser E, Tan L, Lim L. A novel serine/threonine kinase binding the Ras-related RhoA GTPase which translocates the kinase to peripheral membranes. *J Biol Chem* 1995; 270: 29051-4.
17. Horii Y, Beeler JF, Sakaguchi K, Tachibana M, Miki T. A novel oncogene, Ost, encodes a guanine nucleotide exchange factor that potentially links Rho and Rac signaling pathways. *EMBO J* 1994; 13: 4776-86.
18. Best A, Ahmed S, Kozma R, Lim L. The RAS-related GTPase RAC1 binds Tubulin. *J Biol Chem* 1996; 271: 3756-62.
19. Lang P, Guizani L, Vitte-Mony I, Stancou R, Dorseuil O, Gacon G, Bertoglio J. ADP-ribosylation of the ras-related GTP-binding protein RhoA inhibits lymphocyte mediated cytotoxicity. *J Biol Chem* 1992; 267: 11677-80.
20. Vély F, Vivier E. Mécanismes moléculaires de la cytotoxicité des cellules NK. *médecine/sciences* 1996; 12: 458-64.
21. Tominaga T, Sugie K, Hirata M, Morii N, Fukata J, Uchida A, Imura H, Narumiya S. Inhibition of PMA-induced, LFA-1 dependent lymphocyte aggregation by ADP ribosylation of the small molecular weight GTP binding protein, Rho. *J Cell Biol* 1993; 120: 1529-37.
22. Stowers L, Yelon D, Berg LJ, Chant J. Regulation of the polarization of T cells toward antigen-presenting cells by Ras-related GTPase CDC42. *Proc Natl Acad Sci. USA* 1995; 92: 5027-31.
23. Aspenström P, Lindberg U, Hall A. Two GTPase, Cdc42 and Rac, bind directly to a protein implicated in the immunodeficiency disorder Wiskott-Aldrich syndrome. *Curr Biol* 1996; 6: 70-5.
24. Symons M, Derry JMJ, Karlak B, Jiang S, Lemahieu V, McCormick F, Francke U, Abo A. Wiskott-Aldrich syndrome protein, a novel effector for the GTPase CDC42Hs, is implicated in actin polymerization. *Cell* 1996; 84: 723-34.
25. Scherle P, Behrens T, Staudt LM. LYGDI, a GDP-dissociation inhibitor of the RHOA GTP-binding protein, is expressed preferentially in lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 7568-72.
26. Tribioli C, Droetto S, Bione S, Cesareni G, Torrisi MR, Lotti LV, Lanfrancone L, Toniolo D, Pelicci PG. An X chromosome-linked gene encoding a protein with characteristics of a RhoGAP predominantly expressed in hematopoietic cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 695-9.
27. Pfeffer SR, Dirac-Svejstrup AB, Soldati T. Rab GDI dissociation inhibitor: putting Rab GTPase in the right place. *J Biol Chem* 1995; 270: 17057-9.
28. Bokoch GM, Knaus UG. Ras-related GTP-binding proteins and leukocyte signal transduction. *Curr Opin Hematol* 1994; 1: 53-60.
29. Lang P, Gesbert F, Delespine Carmagnat M, Stancou R, Pouchelet M, Bertoglio J. Protein kinase A phosphorylation of RhoA mediates the morphological and functional effects of cyclic AMP in cytotoxic lymphocytes. *EMBO J* 1996; 15: 510-9.
30. Vitté-Mony I, Stancou R, Bertoglio J. Functional consequences of cAMP accumulation in human NK cells: implications for IL-2 and IL-4 signal transduction. *J Immunol* 1990; 145: 4272-8.
31. Valitutti S, Dessing M, Lanzavecchia A. Role of cAMP in regulating cytotoxic T lymphocyte adhesion and motility. *Eur J Immunol* 1993; 23: 790-5.
32. Karniguian A, Zaharoui A, Tavitian A. Identification of small GTP-binding rab proteins in human platelets: thrombin induced phosphorylation of rab3b, rab6 and rab8 proteins. *Proc. Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 7647-51.
33. Bailly E, Mac Caffrey M, Touchot N, Zahraoui A, Goud B, Bornens M. Phosphorylation of two small GTP binding proteins of the rab family by p34 cdc2. *Nature* 1991; 350: 715-8.
34. Dorseuil O, Reibel L, Bokoch GM, Camonis J, Gacon G. The Rac Target NADPH Oxidase p67^{phox} interacts preferentially with Rac2 rather than Rac1. *J Biol Chem* 1996; 271: 83-8.
35. Diekman D, Abo A, Johnston C, Segal AW, Hall A. Interaction of Rac with p67^{phox} and regulation of phagocytic NADPH oxidase activity. *Science* 1994; 265: 531-3.
36. Manser E, Leung T, Salihuddin H, Tan L, Lim L. A non-receptor tyrosine kinase that inhibits the GTPase activity of p21cdc42. *Nature* 1993; 363: 364-7.
37. Ishizaki T, Maekawa M, Fujisawa K, Okawa K, Iwamatsu A, Fujita A, Watanabe N, Saito Y, Kakizuka A, Morii N, Narumiya S. The small GTP-binding protein Rho binds to and activates a 160 kDa Ser/Thr protein kinase homologous to myotonic dystrophy kinase. *EMBO J* 1996; 15: 1885-93.

Tim Reid
Paul Lang
Jacques Bertoglio

Inserm C/JF 93-01, Faculté de Pharmacie Paris-Sud XI, 5, rue Jean-Baptiste-Clement, 92296 Châtenay-Malabry Cedex, France.