

Ras 鸟核苷酸交换因子及其 信号传导途径

寿成超

(北京肿瘤防治研究所, 北京医科大学临床肿瘤学院 北京 100034)

[摘要] 癌基因产物 ras-p²¹不但同许多肿瘤的发生发展密切相关, 而且是参与细胞分子信号传导, 调节其增殖分化的最重要分子之一。对 ras-p²¹的活性调节机制的研究一直倍受分子生物学家的关注, 并且在最近几年取得了一系列引人注目的突破性进展。人们不但从哺乳类动物细胞克隆和鉴定了一系列调节 ras-p²¹活性的鸟核苷酸交换因子, 而且发现不同的鸟核苷酸交换因子在组织表达、分子信号传导途径及自身活性调节方面各具特点, 为全面认识以 ras-p²¹为中心的分子信号传导途径、最终阐明调节细胞增殖分化的分子机制奠定了重要基础。

[关键词] Ras 鸟核苷酸交换因子, 分子克隆, 信号传导, 活性调节

对引起肿瘤的癌基因及调节细胞增殖、分化的信号传导途径的研究, 是当前分子生物学研究中最活跃的两大领域, 而癌基因产生物 Ras 蛋白(本文称 ras-p²¹)则是两大领域所共同最感兴趣的分子之一。这不仅因为 ras 基因作为第一个从人的肿瘤细胞中克隆到的癌基因, 它的突变及过度表达同许多肿瘤的发生发展密切相关, 同时发现 ras-p²¹是介导多种生长因子刺激, 参与分子信号传导, 调节细胞增殖、分化的重要分子, 而更主要的是因为多年来对 ras-p²¹在哺乳细胞中的活性调节机制及有关的信号传导途径一直未能得到阐明。在最近三年里, 哺乳类动物细胞中调节 ras-p²¹活性的不同 Ras 鸟核苷酸交换因子(guanine nucleotide exchange factors, GEFs)先后得到克隆和鉴定, 并且对它们的分子结构、组织分布、活性调节、信号传导途径等作了一系列系统研究, 使人们对 ras-p²¹活性调节机制及有关信号传导途径的认识有了突破性的进展, 本文就此作一介绍。

1 ras-p²¹的一般特性

广义上的 ras 类基因蛋白至少由 60 多种分子量为 20—25KD 的小分子蛋白所组成^[1]。因为这类小分子蛋白具有结合三磷酸鸟苷(GTP)及 GTP 酶的活性, 故又称其为小分子 GTP 酶蛋白, 以区别于由 α 、 β 、 γ 三聚体构成的 G 蛋白。由于这些小分子 GTP 酶蛋白之间有 30%—60% 的同源性, 所以 AW 属于 Ras 蛋白超家族(Ras superfamily)。依据彼此氨基酸序列同源性的 高低, 又分为 Ras, Rho, Rab 和 Ran 等不同的亚家族(Subfamily)。它们涉及到诸多的细胞功能, 如 Ras 蛋白参与细胞的增殖与分化的调控,

本文于 1995 年 12 月 27 日收到。

Rho 蛋白与细胞骨架形成有关, 而 Ran 蛋白与胞核的功能有着广泛的联系等。在真核细胞的生物进化中, 从酵母类单细胞生物到多细胞的哺乳类动物, 这类小分子 GTP 酶蛋白显示出高度的保守性, 从侧面反映出这类分子对维持生命过程的必要性。本文主要阐述哺乳类动物细胞中 Ras 亚家族成员的有关 GEFs 及相关的传导途径。

在哺乳类动物细胞中得到鉴定的 ras 基因有三个, 即 Harvery-ras (H-ras), Kirsten-ras (K-ras) 和 N-ras, 它们编码 188/189 个氨基酸, 蛋白分子量为 21 KD, 故称为 ras-p²¹。三者之间的氨基酸序列从第 1 位至第 80 位几乎完全相同, 从第 81 位到 160 位有 70% 的同源, 第 161 位至 185 位随不同的 Ras 而不同, 最末位的四个氨基酸均由 CAAX 构成 (C 为半胱氨酸, A 为脂肪族氨基酸, X 为任意氨基酸), 与 ras-p²¹ 同膜结合有关。

所有 ras-p²¹ 均有结合鸟核苷酸 (GTP 和 GDP) 和 GTP 酶的活性 (水解 GTP 为 GDP), 当结合 GTP 时, ras-p²¹ 处于活性状态; 当结合 GDP 时, 则处于非活性状态。ras-p²¹ 如果处于持续结合 GTP 的活化状态, 则可能引起细胞的异常增殖, 导致肿瘤的发生。如果 ras-p²¹ 始终处于结合 GDP 的非活化状态, 细胞的正常功能不能维持, 其后果也是难以想像的。在哺乳类动物细胞内, ras-p²¹ 结合 GTP 或 GDP 主要决定于二类调节蛋白, 即 GTP 酶活化蛋白 (GTPase Activating protein, GAP) 和 GEFs (见图 1)。ras-p²¹ 的天然 GTP 酶活性很低, GAP 能增强其 GTP 酶的活性, 加速 ras-p²¹ 水解 GTP 为 GDP, 完成 ras-p²¹ 由

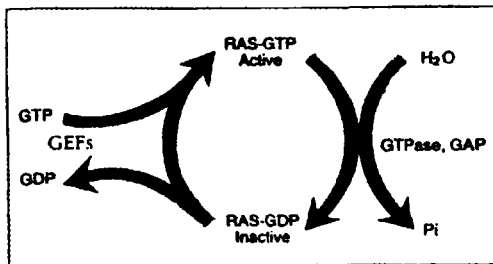


图 1 Ras-GTP 与 Ras-GDP 之间的循环变 Ras-GTP (有活性型) 在 GTPase 活化蛋白 (GAP) 的作用下, Ras 的 GTPase 活性增强, 水解 GTP 为 GDP, 使 Ras 从 Ras-GTP 转变为 Ras-GDP (非活性型)。在鸟核苷酸交换因子 (GEFs) 作用下, GDP 从 Ras 释放, GTP 与 Ras 结合, 使 Ras 从 Ras-GDP 转变为 Ras-GTP。(该图引自《Science》Vol. 257, 24 July 1992)

结合 GDP 的非活性状态, 其结合的鸟核苷酸的交换半寿期约 1 小时。大量的实验证明, 当细胞受到诸如 EGF 等生长因子刺激时, ras-p²¹ 能在瞬间得到活化, 提示其中必定有其它分子参与, 促进 GDP 的释放 (即 GEFs)。GEFs 的存在首先在酵母 *S. Cerevisiae* 中得到鉴定^[3], 发现酵母的分裂周期基因 CDC₂₅ 有调节 RAS/腺苷酸环化酶通路的活性。当 RAS₂ 发生 12 位 Gly→Val 突变时 (RAS₂ 处于持续结合 GTP 的活化状态), CDC₂₅ 基因产物失去存在的必要; 同样, 当 CDC₂₅ 活化突变时, 其细胞表型类似于 RAS/腺苷酸环化酶活化突变时所引起的改变, 说明 CDC₂₅ 是调节 RAS₂ 活性的上游分子。随后, 另一个功能与结构类似于 CDC₂₅ 的基因 SDC₂₅, 也在酵母细胞中得到分离^[6], 发现 SDC₂₅ 的 3' 末端区域能补偿

活化状态到非活性状态的转化, 在人类细胞中得到鉴定的 GAP 有 p¹²⁰ GAP 和 NF₁^[2]。GEFs 能促进 GDP 从 ras-p²¹ 的释放。由于细胞中 GTP 浓度远远高于 GDP, 所以, GDP 的释放为 GTP 结合提供了机会, 使 ras-p²¹ 从结合 GDP 的非活化状态转变为结合 GTP 的活化状态。Ras GEFs 虽在 1987 年从酵母中首先得到克隆^[3], 但哺乳类动物细胞 GEFs 的分子克隆及相关研究取得的进展, 则是近三年的事情^[4, 5]。

2 Ras 鸟核苷酸释放因子

在正常细胞中, 绝大部份 ras-p²¹ 处于

CDC₂₅的功能,表达产物能直接作用于酵母的 RAS₂ 蛋白和人的 ras-p²¹,促进鸟核苷酸的交换;该基因片断在哺乳类动物细胞的持续表达,能增加细胞内 GTP 与 ras-p²¹的结合,具有活化 ras-p²¹的功能^[7]。1990年,在高度进化的酵母 *Schizosaccharomyces pombe* 中克隆了 CDC₂₅和 SDC₂₅的同源基因 Ste6^[8],彼此的功能区显示出高度的保守性。

从哺乳细胞中克隆 GEFs 一直受到许多分子生物学家的关注。1990年,分别有三个实验室报道了从哺乳动物组织分离到具有促进 ras-p²¹鸟核苷酸释放的活性组分^[5]。Welfman, A^[9]等人从大鼠脑组织的细胞提取液,通过凝胶层析分离到分子量约为 100—160 KD 的组份,能分别促进 v-H-ras-p²¹和 c-H-ras-p²¹的鸟核苷酸释放,但对与 H-ras-p²¹有 30%同源性的 Rab3A-p²⁵无促进鸟核苷酸释放作用,他们将其称为 Ras 鸟核苷酸释放因子 (Ras-guanine nucleotide-releasing factor, Ras-GRF)。

1992年,Shou, C^[4, 5]等人首次报道了 GEFs 的分子克隆。他们根据从不同进化程度的酵母中分离到的 GEFs 在氨基酸序列上的同源性,及酵母 GEFs (SDC₂₅)能同样作用于哺乳类动物 ras-p²¹的特点。通过序列比较,从酵母 GEFs 的功能区中选定了两 9 个分别由 9 个氨基酸构成的最保守区域,根据氨基酸序列合成了两段用于 DNA 多聚酶链式反应 (PCR) 的寡聚核苷酸。同时用大鼠脑组织 cDNA 为模板,通过 PCR 扩增获得探针,经过数轮文库筛选,克隆了编码 1 224 个氨基酸的全长 cDNA GEFs 基因(其蛋白产物称为 Ras-GRF 或 CDC₂₅^{Mm})。Ras-GRF 的 C 端 310 个氨基酸同 CDC₂₅和源自果蝇的 GEFs SOS 的功能区氨基酸序列比较,完全同源性分别达到 28%和 30%;C 端 410 个氨基酸的表达产物能特异性地促进 N-ras-p²¹及 H-ras-p²¹的鸟核苷酸释放,而对同属于 Ras 亚族的 Ral 蛋白无活性作用。有意思的是,Ras-GRF 的 N 端含有 Dbl 蛋白的同源区,Dbl 属癌基因,其产物具有促进 Ras 相关蛋白 CDC_{42HS} (Rho 亚家族成员)的鸟核苷酸释放的活性^[10]。CDC_{42HS}与 Rac, Rho 等蛋白一起,与控制细胞骨架的有序性密切相关。虽然 Ras-GRF 的 N 端 Dbl 区域作用于何种 Rho 样蛋白尚需进一步确定,但从分子结构看,Ras-GRF 具有分别促进 Ras 类蛋白和 Rho 样蛋白鸟核苷酸释放的双重功能,与 p¹²⁰GAP: p¹⁹⁰复合物形成一组对应分子,后者的 N-端有 Rho GAP 的活性,C 端因结合 p¹²⁰GAP 而具有 Ras GAP 的活性,从而共同调节 Ras 和 Rho 蛋白的活化状态。

Shou, C 等人的工作还发现,Ras-GRF 的表达仅限于脑组织,具有较严格的组织特异性。众所周知,ras-p²¹普遍存在于各类组织,而 Ras-GRF 仅出现于脑组织,提示 GEFs 是由众多分子构成的一个家族,不同组织的 ras-p²¹由不同的 GEFs 调节。

几乎在 Ras-GRF 被分子克隆的同时,David, B 等人^[11]用果蝇 GEFs SOS 的功能区核苷酸片断作探针,在小鼠 cDNA 文库中克隆到二个 SOS 相关基因(称为 mSOS₁和 mSOS₂),与 SOS 的同源性均大于 45%,mSOS₁和 mSOS₂间的同源性为 67%。与 Ras-GRF 不同的是,mSOS_{1, 2}广泛表达于各类器官和组织。

利用一些 GEFs 如 mSOS₁能同含有 SH₃区域的介导蛋白(adaptor)结合的原理,用介导蛋白 Crk 的 SH₃区域作探针,最近从人的脾淋巴细胞中克隆了另一个哺乳类动物细胞 GEFs-C3G^[12](Crk SH₃-binding GEF)。C3G C' 末端的 250 个氨基酸同 Ras-GRF 和 mSOS₁的同源性分别为 31%和 30%。与 mSOS 相似,C3G 普遍表达于各类组织。

另一个较为特殊的哺乳类动物细胞 Ras GEFs 是血细胞特异性的 Vav 基因产物。Vav

蛋白同 Dbl 的功能区有同源性, 而后者是 Rho 家族成员的 GEFs。但实验结果却出人意料地表明, Vav 蛋白具有对 Ras 的特异性 GEFs 活性^[13], 对此现象的一种解释是 Vav 蛋白自身并非 Ras EGFs, 而是结合了其它真正的 Ras GEFs 分子所致, 但尚缺乏实验证据。显然, 从氨基酸序列判断一些 GEFs 的特异性有时并非是一件容易的事。

同酵母 CDC₂₅ 功能区具有同源性的 Ras GEFs 蛋白结构见图 2。

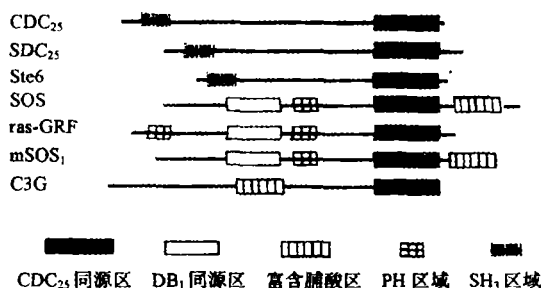


图 2 Ras 鸟核苷酸交换因子及其有关的功能区

3 Ras 鸟核苷酸释放因子的信号传导途径

大量实验资料表明, ras-p²¹ 是受体蛋白酪氨酸激酶(R-PTKs)的关键性下游分子, 如 ras-p²¹ 中和性抗体或 ras-p²¹ 显性阴性突变蛋白, 既能抑制 ras-p²¹ 的功能, 同时也能阻断 R-PTKs 活化引起的细胞分裂与转化^[14]; 又如在对象虫和果蝇的遗传学研究中发现, ras-p²¹ 同源蛋白是 R-PTKs 介导的发育过程中极为重要的下游组份^[15], 但对 ras-p²¹ 参与酪氨酸激酶传导途径的真正阐明在很大程度上得益于 Sem₅ 基

因的克隆^[16]。来源于线虫(*C. elegans*)的 Sem₅ 基因产物作用于类似 EGF 受体的酪氨酸激酶的下游及 Ras 的上游, 整个分子只含有 SH₂ 和 SH₃ 区域, 而 SH₂ 和 SH₃ 是不同蛋白质分子间相互作用的区域, 因此, Sem₅ 可能是一个参与不同分子间彼此结合的介导分子。同年, 从小鼠克隆了能结合 EGF 受体的 Grb₂ (Growth factor receptor binding protein 2) 分子^[17]。Grb₂ 同 Sem₅ 具有组成上的相似性, 仅含 SH₂(1 个)和 SH₃(2 个)区域。与此同时, Cicchetti 等人^[18]发现 SOS 的 C 端有一个富含脯氨酸的区域, 通过该区域, SOS 能与 Abl 及其它类似蛋白 Bcr 的 SH₃ 区域结合。这一发现使得人们马上联想到 SOS 同介导蛋白 Grb₂ 结合的可能性, 并迅速被不同实验室所证明^[19]。SOS 通过脯氨酸富含区和 Grb₂ 的 SH₃ 区域相互作用形成复合物存在于胞浆中, 当细胞受 EGF 刺激活化时, EGF 受体发生酪氨酸磷酸化, Grb₂ 通过 SH₂ 同磷酸化的酪氨酸相关部位结合, 随之把 SOS 从胞浆带到了胞膜内表面, 使 ras-p²¹ 活化。对 SOS 活性的调节, 目前尚不能排除 Grb₂:SOS 复合物同 EGF 受体结合后可能引起的 SOS 构象的变化, 或 PTK 介导的 SOS 磷酸化使 SOS 活性的增加, 但缺乏足够的证据。源自 Rat-1 成纤维细胞胞浆的 Grb₂:SOS 和经 EGF 刺激形成的 Grb₂:SOS:EGFR 复合物, SOS 活性无明显差异^[20]。受生长因子刺激, SOS 虽有磷酸化的增加, 但其远远滞后于 Ras 的活化。上述结果均表明, 生长因子的刺激并不改变 SOS 的活性, 而只是因位移(SOS 从胞浆带至胞膜)使 Ras 活化。但亦有持相反意见者, 如 Li B. Q.^[21,22]等人发现酪氨酸激酶活化细胞的 SOS 有活性的增加。最近的研究表明, 受 Ras 活化的促细胞分裂活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)使 SOS 发生多位点的非酪氨酸磷酸化, 磷酸化导致 SOS:Grb₂ 复合物同 EGF 受体或 SHc 蛋白的解离, 从而达到对 SOS 活性的反馈性负调节作用^[23]。

除了 EGF 受体以外, 其它更多的受体酪氨酸激酶或同受体相结合的酪氨酸激酶, 通过另一介导蛋白 SHc 同 Grb₂:SOS 形成复合物(见图 3)。SHc 是酪氨酸激酶的底物

(Tyrosine kinase substrates, TKs), SHc 的酪氨酸磷酸化为 Grb₂: SOS 的结合提供了条件, 同时 SHc 利用自身的 SH₂ 区域同受体的磷酸化酪氨酸 (或同受体结合的酪氨酸磷酸化蛋白) 形成受体: SHc: Grb₂: SOS 复合物, 引起 Ras 的活化^[24]。如在 T 细胞信号传导中, Grb₂ 同酪氨酸磷酸化的 SHc 结合, SHc 又同 T 细胞受体的 ζ 亚单位的酪氨酸磷酸化部位结合, 在受体、SHc、Grb₂ 及 SOS 之间形成能导致 Ras 活化的复合物^[25]。其它如 PDGF 受体、胰岛素受体底物 (IRS-1) 等均需借助 SHc 同 Grb₂: SOS 的结合。

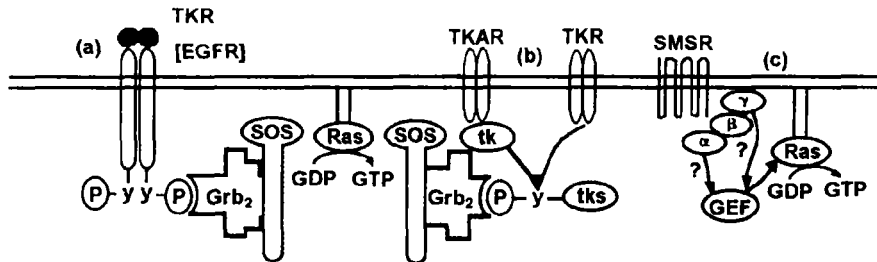


图3 Ras鸟核苷酸交换因子介导的从细胞表面受体至Ras蛋白的信号传导途径

(a) EGF 受体的信号传导。EGF 同受体结合, 激活受体的酪氨酸激酶活性并发生自身酪氨酸磷酸化, Grb₂-SOS 复合物借助 Grb₂ 的 SH₂ 区域同 EGFR 受体结合, 并活化 Ras 蛋白。
(b) 酪氨酸激酶结合受体 (TKAR), 如 T 细胞受体, 通过酪氨酸激酶 (TK) 或酪氨酸激酶受体 (TKR), 如胰岛素受体, 使酪氨酸激酶底物 (TKS) 如 Shc 或胰岛素受体底物发生磷酸化, 磷酸化的 TKS 同 Grb₂-SOS 复合物结合。
(c) 一些活化 G 蛋白七次跨膜受体 (SMSR) 能引起 Ras 的活化, 这种活化是否先经 α 和 βγ 亚单位活化 GEFs 或其它相关蛋白尚需进一步确定。

特异表达于血细胞的 Vav 蛋白, 当细胞表面受体, 尤其是 T 细胞受体 (TCR) 活化时, 能发生酪氨酸磷酸化。TCR/CD₃ 活化诱导 Vav 蛋白的酪氨酸磷酸化, 能增强 Vav 蛋白对 ras-p²¹ 的活化作用。Vav 蛋白的磷酸化及活化可能由与受体相联的酪氨酸激酶 Lck 所介导, 因为后者能在体外直接活化 Vav 蛋白^[13]。

Ras-GRF 虽然同 SOS 一样, 在 C 端有 CDC₂₅ 样的功能区, 但缺乏脯氨酸富含区, 不能同 Grb₂ 的 SH₃ 形成复合物。Shou, C^[26] 等人最近的工作表明, Ras-GRF 在经血清刺激后引起的活性及磷酸化增强, 均能被 G 蛋白 (Gi 和 Go) 抑制剂 pertussis toxin 所阻断, 而酪氨酸激酶抑制剂 genestein 则无阻断效应, 表明 G 蛋白可能介导 Ras-GRF 的信号传导途径。Ras-GRF 的 N-端含有 PH 区域 (pleckstrin homology domain), pleckstrin 是血小板蛋白激酶的底物, PH 区域由 110 个左右的氨基酸组成, 有较大变异性, 最近发现许多信号传导分子中均含有 PH 区域, 包括 β-肾上腺素能受体激酶^[27], 其通过 PH 区域介导与 G 蛋白的 βγ 亚单位偶联^[28]。到目前为止, Ras-GRF 仅发现于脑组织, 原位杂交表明, 它在不同区域的神经细胞均有表达, 尤其在海马沟回及大脑皮质部为最高^[29], 这些部位同时也是富含 Gi 和 Go 的区域, Ras-GRF 可能是神经细胞中受 G 蛋白介导调节 ras-p²¹ 活性的常用分子。Ras-GRF 的活性调节同钙离子的结合有关, Charles 等人的研究表明^[30], Ras-GRF 的 N 端 204 至 223 位氨基酸区域是钙离子结合区, Ras-GRF 的活性同钙离子的结合呈正相关, 如在该区域通过点突变使其失去结合钙离子的能力, 则 Ras-GRF 不能被活化, 说明 Ras-GRF 的活性受钙离子结合的调节。

4 结束语

在过去的几年里,对 Ras GEFs 的研究取得了引人注目的进展,不同形式的 Ras GEFs 在哺乳细胞相继得到克隆,有的具有组织表达的特异性(如 Ras-GRF 在脑组织、Vav 蛋白在血细胞),有的表现为组织表达的普遍性(如 SOS);有的由酪氨酸激酶信号传导途径所介导(SOS, Vav)有的则可能参与 G 蛋白的信号系统(Ras-GRF);活性调节也各具特点,如 SOS 对 ras-p²¹ 的活性主要与在细胞内的重分布相关, Vav 蛋白的活性受到磷酸化的调节,而 Ras-GRF 的活性与钙离子的结合呈正相关。毫无疑问,对 Ras GEFs 的分子克隆及相关传导途径和活性调节机理的认识,为最终全面阐明细胞增殖、分化的机制奠定了重要基础。

参 考 文 献

- [1] Lacal J, McCormick F. The Ras superfamily of GTPases. London, CRC Press, 1993.
- [2] Mark S, McCormick F. Proteins regulating Ras and its relatives. Nature, 1993, **366**: 643—654.
- [3] Broek D, Michaeli T, Levin L, et al. The *S. cerevisiae* CDC₂₅ gene product regulates the Ras/Adenylate cyclase pathway. Cell, 1987, **48**: 789—799.
- [4] Shou C, Charles L, Benjamin G, et al. Molecular cloning of cDNAs encoding a guanine-nucleotide-releasing factor for Ras P²¹. Nature, 1992, **358**: 351—354.
- [5] Julian D. Exchange rate mechanisms. Nature, 1992, **358**: 282—283.
- [6] Damak F, Boy M, Roscouet D, et al. SDC₂₅, A CDC₂₅-like gene which contains a Ras-activating domain and is a dispensable gene of *S. Cerevisiae*, Mol Cell Biol., 1991, **11**: 202—211.
- [7] Rey I, Schweighoffer F, Barlat I, et al. The COOH-domain of the SCD₂₅ gene elicits activation of p²¹-ras proteins in mammalian cells. Oncogene, 1991, **6**: 347—352.
- [8] Hughes D, Fukui Y, Yamamoto M. Homologous activators of Ras in fission and budding yeast. Nature, 1990, **344**: 355—357.
- [9] Wolfman A, Macava I. A cytosolic protein catalyzes the release of GDP from p²¹ras. Science, 1990, **248**: 67—69.
- [10] Hart M, Eva A, Evans T, et al. Catalysis of guanine nucleotide exchange on CDC_{42Hs} protein by the dbl oncogene product. Nature, 1991, **354**: 311—314.
- [11] David B, Ping F, Hichacl s, et al. Identification of murine homologues of the *Drosophila* son of *Sevenless* gene: potential activators of Ras. Proc. Natl. Acad. sci., USA, 1992, **89**: 6511—6515.
- [12] Shinya T, Takashi M, Yuko H, et al. C3G, a guanine nucleotide-releasing protein expressed ubiquitously, bind to the Src homology 3 domains of Crk and Grb₂/Ash proteins, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 1994, **91**: 3443—3447.
- [13] Gulbins E, Coggeshill M, Baier G, et al. Tyrosine kinase-stimulated Guanine nucleotide exchange activity of Vav in T cell activation. Science, 1993, **260**: 822—825.
- [14] Stacey D, Roudebush M, Day R, et al. Dominant inhibitory Ras mutants demonstrate the requirement for Ras activity in the action of tyrosine kinase oncogenes. Oncogene, 1991, **6**: 2297—2304.
- [15] Han M. Ras protein in developmental pattern formation in *Caenorhabditis elegans* and *Drosophila*. Cancer. Biol., 1992, **3**: 219—228.
- [16] Clark S, Stern M, Horvitz H. *Elegans* cell-signalling gene Sem-5 encodes a protein with SH₂ and SH₃ domains. Nature, 1992, **356**: 340—344.
- [17] Lowenstein E, Daly R, Batzer A, et al. The SH₂ and SH₃ domain-containing protein Grb₂ links receptor Tyrosine kinases to Ras signalling. Cell, 1992, **70**: 431—442.
- [18] Cicchetti P, Mayer B, Thiel B, et al. Identification of a protein that binds to the SH₃ region of Abl and is similar to Bcr and GAP-Rho. Nature, 1992, **257**: 803—806.
- [19] Schlessinger J. How receptor tyrosine kinases active Ras. Trends Biochem Sci., 1993, **18**: 273—275.
- [20] Buday L, Downward J. Epidermal growth factor regulates p²¹ras through the formation of a complex of receptor,

- Grb₂ adaptor protein, and Sos nucleotide exchange factor. *Cell*, 1993, **73**: 611—620.
- [21] Li B, Kaplan D, Kung H, et al. Nerve growth factor stimulation of the Ras-Guanine nucleotide exchange factor and GAP activities. *Science*, 1992, **256**: 1456—1459.
- [22] Li B, Subleski M, Shalloway D, et al. Mitogenic activation of the Ras guanine nucleotide exchange factor in NIH3T3 cells involves protein tyrosine phosphorylation. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 1993, **90**: 8504—8506.
- [23] Maria R, Peter V, Geralsine M, et al. MAP kinase phosphorylation of mSOS promotes dissociation of mSOS₁-Shc and mSOS-EGF complex. *Oncogene*, 1995, **10**: 1417—1426.
- [24] Rozakis AM, Mcglade J, Mbamalu G, et al. Association of the Shc and Grb₂/Sem₅ SH₂-containing proteins is implicated in activation of the Ras pathway by tyrosine kinases. *Nature*, 1992, **360**: 689—691.
- [25] Ravichandran K, Lee K, Songyang Z, et al. Interaction of Shc with the Z-chain of the T cell receptor upon T cell activation. *Science*, 1993, **262**: 902—904.
- [26] Shou C, Andrew W, Ling K, et al. Differential response of the Ras exchange factor, Ras-GRF to tyrosine kinase and G protein mediated signals. *Oncogene*, 1995, **10**: 1987—1993.
- [27] Mayer B, Ren R, Clark K, et al. A putative modular domain present in diverse signalling proteins. *Cell*, 1993, **73**: 629—630.
- [28] Koch W, Inglese J, Stone W, et al. The binding site for the βγ subunits of heterotrimeric G proteins on the α-adrenergic receptor kinase. *J. Biol. Chem.*, 1993, **268**: 8256—8260.
- [29] Wei W, Schreiber S, Baudry M, et al. Localization of the cellular expression pattern of CDC₂₅ NEF and Ras in the juvenile rat brain. *Mol. Brain Res.*, 1993, **19**: 339—344.
- [30] Charles L, Norman W, Laura B, et al. Calcium activation of Ras mediated by neuronal exchange factor Ras-GRF. *Nature*, 1995, **376**: 524—5279.

RAS-GUANINE NUCLEOTIDE EXCHANGE FACTORS AND THEIR SIGNALING PATHWAYS

Shou Chengchao

(*Beijing Institute for Cancer Research, The School of Oncology,*

Beijing Medical University, Beijing 100034)

Abstract The activity regulation of ras-p²¹ has been receiving great attention from molecular biologists. Not only does the Ras protein, an oncogene product, contribute to the development of several types of cancer, but it also plays critical roles in controlling cell growth and regulating diverse signaling pathways between cell surface receptors and nucleus. Remarkable advances have been made in the last three years in our understanding of how ras-p²¹ is activated. A few of Ras guanine-nucleotide exchange factors (GEFs) have been identified in mammalian cells, and in some cases, the expression characteristics, signaling pathways and the activity regulations of GEFs have also been described. Such knowledge is extremely important for completely elucidating the mechanisms of ras-p²¹ activity regulation and its upstream signaling transduction pathways.

Key words Ras-guanine nucleotide exchange factors (GEFs), molecular cloning, signaling transduction, activity regulation