

## 동물학논단

### Rac GTPase의 조절 및 세포내 기능



강 광 일

1983 부산대학교 생물교육학과 (학사)  
1985 서울대학교 동물학과 (석사)  
1995 프랑스 파리제6대학 (박사)  
1995~1997 프랑스 국립위생의학연구소 Post-Doc  
1997~현재 부산대학교 기초과학연구소 연구원



강 호 성

1980 부산대학교 생물교육학과 (학사)  
1982 서울대학교 동물학과 (석사)  
1987 서울대학교 동물학과 (박사)  
1989~1990 미국 UCSF Post-Doc  
1991~현재 부산대학교 분자생물학과 전임강사 - 부교수

#### 1. 서 론

생명현상을 설명할 때 빠지지 않고 언급되는 특징 가운데 하나는 생명체는 외부에서 주어지는 자극(signal)에 반응한다는 것이다. 외부 자극에 대한 반응은 세포수준이든 분자수준이든 구조적 변화를 수반하게 된다. 예를 들면 growth factor에

의한 세포성장 조절 과정에서 많은 조절 단백질들의 phosphorylation 및 conformational change, partner protein과의 결합과 같은 구조상의 변화가 나타나게 된다. 세포수준에서도 외부 signal이 주어지면 세포의 형태적인 변화가 일어나는데, 이러한 외부 자극에 의한 cell shape의 변화는 대부분 세포내 actin cytoskeleton의 reorganization에 의해 나타나며(1), 세포기능의 조절과 밀접한 관련이 있다.

외부 자극에 의한 세포의 형태변화에 중심적인 역할을 하는 것으로 알려진 단백질은 GTPase activity를 가지고 있는 Rho family이다. Rho family에는 Rho, Rac, Cdc42 3종류의 단백질이 알려져 있다. 최근 들어 Rho GTPase family는 actin cytoskeleton의 reorganization 뿐만 아니라 transformation, transcription, cell cycle, apoptosis 등에서도 중요한 역할을 하고 있는 것으로 보고되고 있다(2, 3). 여기에서는 Rho family의 일원인 Rac을 중심으로 외부자극에 의한 세포구조 및 기능 변화에 관련된 신호전달체계를 살펴보고자 한다.

#### 2. 본 론

##### 1) GTPase

GTP는 세포에서 사용되는 주요 에너지의 하나로 GTP binding protein(GTPase)에 의해 사용된다. GTPase는 크게 monomeric small GTP binding protein인 Ras superfamily와 trimeric G protein으로 구분된다. Ras superfamily는 Ras, Ran, Rab, Rho family로 구성되는데, Ras family는 growth factor에 의한 세포 성장 조절에 관여하며, Ran family는 nuclear import, Rab family는 vesicular trafficking의 조절, Rho family는 actin cytoskeleton 구조 변화에 관련이 있는 것으로 보고되어 있다. Rho family는 Ras와 마찬가지로 자극이 없는 상태에서는 GDI (guanine nucleotide dissociation inhibitor)와 결합하

여 불활성상태로 있다가 signal이 주어지면 GEF (guanine nucleotide exchange factor)에 의해 활성화 되고, GAP(GTPase activating protein)에 의해 다시 불활성화된다(2, 3).

## 2) Rho GTPase

Actin reorganization에서 Rho family의 기능은 fibroblast, neuroblastoma cell, macrophage, epithelial cell, endothelial cell, astrocyte, lymphocyte, mast cell, platelet 등 다양한 세포에서 많은 연구가 이루어졌으나, Rho GTPase의 기능이 잘 밝혀진 세포는 fibroblast이다(1). quiescent Swiss 3T3 fibroblast에 lysophosphatidic acid를 처리하면 Rho가 활성화되어 stress fiber가 형성되며, platelet-derived growth factor나 insulin을 처리하면 Rac이 활성화 되어 세포막에서 lamellipodia와 membrane ruffle을 일으키게 된다(4, 5, 6, 7). 반면에 Cdc42가 활성화되면 filopodia 형성이 촉진된다. 이와 같이 Rho family는 세포자극에 의한 cytoskeleton 구조 변화를 조절하는 molecular switch 역할을 담당한다. Rho family 단백질은 신호 전달계에서 상호 작용을 하는 것으로 알려져 있는데, Ras는 Rac을 활성화시켜 lamellipodia와 ruffling을 일으키며, 또한 Cdc42도 Rac을 활성화시킬 수 있어 filopodia 형성은 lamellipodia 형성을 유도하게 된다. 그리고 Rac은 비록 느리지만 Rho를 활성화시키는 경로도 가지고 있다(1, 6).

그리고 최근 Rho family는 신경세포에서 actin filament reorganization을 통하여 신경세포의 발달을 조절하는 것으로 밝혀졌다. neuroblastoma NIE-115세포에서 chemoattractant에 의해 Rac과 Cdc42가 activation되면 lamellipodia와 filopodia 형성이 촉진되어 neurite extension이 유도되는 반면, chemorepellant에 의해 Rho가 활성화되면 stress fiber 형성이 촉진되고 neurite retraction과 cell rounding이 일어나게 된다(1).

또한 Rho family는 actin remodeling 뿐만 아니라 adhesion complex 형성도 조절한다(1, 5, 7, 8, 9). fibroblast에서 Rho, Rac, Cdc42가 활성화되면 integrin-based cell-matrix adhesion complex 형성이 촉진되는 반면, epithelial cell에서는 Rho와 Rac에

의해 cadherin-based adherens junction 형성이 조절되는 것으로 알려져 있다. 이러한 integrin-based cell-matrix adhesion complex나 cadherin-based adherens junction은 cell cycle progression과 survival에 필요한 유전자 발현을 조절하는 것으로 최근 밝혀지고 있다.

## 3) Rac GTPase

Rac은 21kDa의 small GTPase로서 Rac1, Rac2, Rac3 세 가지 형태의 subtype이 알려져 있다. 이들간의 homology는 90%를 상회하며, 주된 구조적 차이는 C-terminal domain에 있다(2).

### (1) Rac의 upstream signaling molecules

현재 Rac의 upstream에서 GAP으로 작용하는 것으로는 p50 RhoGAP, Bcr, Abr, chimerin, p190GAP, 3BP-1, RalBP1등이 알려져 있으며, GDI로 작용하는 것으로는 RhoGDI가 있다(2, 3). 이들 중 chimerin은 Rac에만 특이적으로 작용하는 GAP이지만, 나머지는 다른 Rho family protein에도 작용한다. Rac GEF는 Rac activation에 직접 관련된 단백질로, 다른 Rho GTPase family protein과 마찬가지로 GEF 활성을 지닌 Dbl homolog(DH) domain을 가지므로 DH family로 불린다(10, 11).

Rac GEF는 대부분 Ras와 같이 세포의 형질전환을 유도하는 oncogene으로 작용한다(10, 12). 최근 Rac-specific GEF인 Tiam-1이 noninvasive lymphoma cell을 invasion시키는 활성을 보이므로, activation된 GEF가 human cancer의 metastasis나 invasion에 관여할 가능성을 제시한다(12). 그러나 Rac이 잠재적인 oncogene이고, Rac의 dominant negative mutant가 oncogene에 의한 transformation을 억제하기는 하지만, Rac의 dominant positive mutant의 경우 transformation 현상이나 metastasis, invasion을 유도하지 못하므로 Rac이 human cancer 발생에 주요 인자로 작용하는 것 같지는 않다.

GEF는 DH domain에 주위에 Pleckstrin homology (PH) domain을 가지는데, 이 PH domain을 이용하여 세포막의 지질성분에 결합으로써 activation되는 것으로 생각된다. Rac-specific GEF인 Vav인 경우(13, 14), PH domain이 phosphatidylinositol

(PI)-4,5-bisphosphate(PIP<sub>2</sub>)와 결합하면 GEF 활성을 나타내지 않는 반면, PI-3,4,5-triphosphate(PIP<sub>3</sub>)에 결합하게 되면 Lck에 의해 phosphorylation되어 활성화되는 것으로 알려져 있다. 그리고 PI 3-kinase가 PIP<sub>2</sub>를 PIP<sub>3</sub>로 바꾸는 활성을 지니고 있으므로 GEF activation 과정에 PI 3-kinase가 관여하는 것으로 생각된다(15, 25). 그러나 아직까지 GEF activation의 조절기작은 분명하지 않은 점이 많다. 또한 항상 세포막에 존재하는 Ras와는 달리 Rac은 세포질에서 막으로 이동하여 활성화되는데 아직 Rac의 translocation이 어떻게 조절되는지 분명하지 않다.

#### (2) Rac의 downstream effector protein

Affinity purification과 yeast two-hybrid system을 이용하여 Rac의 downstream effector proteins이 10종 이상 밝혀져 있는데, 이들은 효소활성을 가지거나 protein-protein interaction domain을 가지고 있다(2, 3). p160<sup>ROCK</sup>, p67<sup>Phox</sup>, p34<sup>POR1</sup>, p65<sup>PAK</sup>, POSH 등이 우리의 흥미를 끄는 target protein인데, 이들은 Rac에 의한 actin reorganization, 세포형질전환, SAPK/JNK activation, cell cycle progression, NFκB activation, apoptosis 등에 관련된 단백질이다.

p160<sup>ROCK</sup>는 Rho에 의해 활성화되는 ser/thr kinase로 발견되었으나 Rac에 의해서도 activation되는 단백질이다(16). p160<sup>ROCK</sup>과 결합할 수 없는 Rac mutant에서 actin reorganization (lamellipodia와 membrane ruffle)과 G1 progression이 억제되나, JNK/SAPK는 여전히 activation되므로, p160<sup>ROCK</sup>는 actin reorganization과 G1 progression을 조절하는 단백질인 것으로 생각되고 있다. p160<sup>ROCK</sup>는 myosin light chain phosphatase와 myosin light chain을 인산화 시킴으로써 액틴-미오신 필라멘트 bundle의 assembly를 조절하는 것으로 알려져 있으나, p160<sup>ROCK</sup>만이 Rac-dependent actin reorganization에 관계하는 유일한 단백질은 아닌 것 같다. 왜냐하면 Rac의 target protein의 하나인 p34<sup>POR1</sup>도 actin rearrangement에 관계하는 것으로 알려져 있기 때문이다(17).

Rac과 결합하는 또 하나의 단백질인 p65<sup>PAK</sup>은 yeast의 Ste20와 homology를 보이는 ser/thr kinase이다(18, 19, 20). yeast에서 Ste20는 MAPK pathway를 조절하는 kinase이므로 p65<sup>PAK</sup>은 Rac에 의한

SAPK/JNK activation 과정을 조절할 것으로 생각된다. 그러나 SAPK/JNK activation에 p65<sup>PAK</sup>이 필요하다는 많은 연구 결과에도 불구하고, 몇몇 연구자들은 p65<sup>PAK</sup>과 SAPK/JNK activation 간의 연관성을 찾는데 실패하였다. 최근에 Rac downstream protein으로 새로이 밝혀진 POSH가 SAPK/JNK의 activation에 결정적인 역할을 하는 것으로 보고된 바 있다(21). 그리고 많은 그룹들이 Rac에 의한 actin polymerization에 p65<sup>PAK</sup>이 관여하는지를 조사하였는데, p65<sup>PAK</sup>과 결합할 수 없는 Rac mutant 경우에도 lamellipodia를 형성할 수 있는 점으로 미루어, p65<sup>PAK</sup>이 actin polymerization에 필수적인 것 같지는 않다.

또, 다른 Rac target protein으로 특별히 관심을 끄는 단백질은 NADPH oxidase p67<sup>Phox</sup>인데(22), NADPH oxidase가 Rac과 결합하여 activation되면 superoxide와 같은 ROS(reactive oxygen species)가 생성된다. ROS는 NFκB activation, apoptosis, 유전자 발현 등의 다양한 세포기능 조절과 관련이 있는 물질로서(40), ROS 생성과 연관된 NFκB activation과 이에 따른 세포기능의 조절에 대해선 뒤에서 다루기로 하겠다.

#### 4) Rac GTPase의 기능

##### (1) Actin cytoskeleton reorganization

Rac에 의한 actin reorganization 과정이 어떻게 조절되는지는 정확히 밝혀져 있지 않으나, ERM 단백질(ezrin, radixin, moesin)이 actin cytoskeleton의 key regulator인 것 같다(23). ERM 단백질이 Rac을 포함한 Rho GTPase family에 의해 활성화되면, ERM의 N-말단부위가 세포막 단백질인 CD44와 결합하여 conformational change를 일으키고, 그 결과 노출된 C 말단을 통해 actin filament(F-actin)가 세포막에 부착된다. 이러한 현상이 Rho에 의한 stress fiber 형성과 Rac에 의한 lamellipodia 형성에 관계하는 것으로 보인다.

그리고 Rac에 의한 actin polymerization에 PIP 5-kinase도 관여하는 것으로 알려져 있다(24). PIP 5-kinase는 PIP로부터 PIP<sub>2</sub>를 합성하는데, 생성된 PIP<sub>2</sub>는 actin filament의 barbed end uncapping을 유발하고, 그 결과 nucleation site가 형성되어 actin

polymerization과 lamellipodia 형성을 조절하게 된다. 그리고, actin filament를 조절하는 많은 단백질들이 PIP<sub>2</sub>에 붙어 그 기능을 수행한다는 증거들이 있다.

또한 Rac에 의한 actin remodeling 과정에 lipoxygenase와 cyclooxygenase도 관여하는 것으로 보고되어 있다(26). EGF에 의한 stress fiber의 breakdown은 prostaglandin에 의해 증가되며, actin cortex 형성은 leukotriene에 의해 조절된다. 이와 같이 Rac에 의한 actin reorganization 과정에서 몇몇 조절 분자들의 기능이 밝혀지고 있으나, 아직까지 이들 분자들이 어떻게 상호작용하는지 정확히 규명되어 있지 않다.

### (2) Transformation

Rac을 activation시키는 factor 가운데 가장 잘 알려져 있는 것이 oncogene Ras protein이다. Growth factor에 의해 Ras가 활성화되면, gene expression과 actin polymerization을 조절하는 신호 전달계를 거쳐 세포성장과 transformation을 유발하게 된다. Rac의 dominant negative mutant cell은 Ras에 의한 transformation을 나타내지 못하므로, Ras에 의한 transformation 과정에서 Rac은 대단히 중요한 역할을 담당한다고 볼 수 있으며, 이 과정에서 actin polymerization(lamellipodia와 ruffling)은 Rac을 통해서 일어난다. 또한 최근 Ras에 의한 Rac activation은 actin filament 구조 뿐만 아니라 SAPK/JNK activation, ROS, NFκB를 통하여 유전자 표현도 조절하는 것으로 밝혀지고 있다(40).

Ras에 의한 Rac activation 과정에서 Rac GEF가 어떻게 활성화되는지 연구가 활발히 진행되고 있다. 앞서 설명한 바와 같이 Rac GEF는 GEF 활성을 나타내는 DH domain과 막의 PIP<sub>2</sub>에 결합하는 PH domain을 가지고 있다. PH domain이 PIP<sub>2</sub>에 결합하기 위해선 PIP<sub>2</sub>를 합성하는 PI 3-kinase가 활성화되어야 한다. 현재 Ras에 의한 Rac GEF activation에도 PI 3-kinase가 관여할 것으로 생각되고 있다.

### (3) Cell cycle과 apoptosis

Growth factor는 일차적으로 cell division과 proliferation을 유도하므로, growth factor에 의해 활성화

되는 Ras-Rac pathway가 cell cycle 조절과 관련이 있을 것으로 생각된다. 실제로 Rac은 G1 progression에 관여한다(19, 47). Rac이 G1 progression을 조절하는 기작은 정확히 밝혀져 있지 않지만, cyclin D1 유전자 발현과 연계되어 있을 것으로 생각된다. Rac dominant positive mutant에서는 cyclin D1 promoter가 activation되어 있지만, Rac dominant negative mutant에서는 이 promoter가 activation되지 못하므로, Rac이 cyclin D1의 유전자를 조절하는 것 같다. Rac이 cyclin D1 외에 다른 cell cycle 조절단백질의 발현 및 활성을 조절할 가능성도 있으나, 아직 이에 대한 연구결과와는 나와 있지 않는 실정이다.

그리고 Rac은 cytokines, protein synthesis inhibitors, UV, C2-ceramide 등의 다양한 stress agents에 의해 일어나는 apoptosis(programmed cell death)에 관계하는 것으로 보고되고 있다(27, 28). 이에 대한 하나의 증거로서 Rac dominant negative mutant에서 Fas나 C2-ceramide에 의한 apoptosis가 억제된다는 것이다. 이들 stress agents는 stress-activated protein kinase(SAPK)/c-Jun N-terminal kinase(JNK)를 활성화시키는 것으로 알려져 있다(29, 30, 31). 지금까지 많은 사람들은 SAPK/JNK가 stress에 의한 apoptosis에 관련된 kinase로 생각하여 왔으나, 최근 SAPK/JNK가 apoptosis와는 직접 관련이 없다는 연구결과도 있어 SAPK/JNK activation과 apoptosis 현상과의 관련성은 다소 의문시되고 있다(32).

최근 Rac target protein의 하나로, SAPK/JNK를 활성화시키는 것으로 생각되는 POSH가 apoptosis와 관련이 있다는 보고가 있어 주목을 받고 있다(21). Rac과의 binding domain이 결여된 POSH mutant의 경우 stress에 의한 apoptosis가 나타나지 않으므로, Rac-POSH pathway가 apoptosis 유도에 중요할 것으로 여겨진다. 그러나, Rac dominant positive mutant를 overexpression시킨 경우에도 apoptosis가 일어나지 않기 때문에 Rac은 death signal pathway와 survival signal pathway 모두를 활성화시키는 것으로 생각된다. 실제로 Rac은 bcl-2와 IκB를 phosphorylation시켜 apoptosis를 조절하고 있는 것으로 보고되고 있다(33, 34, 35).

(4) SRF activation

*c-fos* serum response element는 SRF (serum response factor)라 불리는 transcription factor에 의해 조절된다. SRF는 mitogenic factor나 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, LPA, C2-ceramide 등에 의해 활성화된 EIK-1/TCF와 결합함으로써 transcriptional activation 기능을 수행한다. EIK-1/TCF를 phosphorylation시켜 이를 활성화시키는 kinase로는 Ras-Raf-MEK pathway에 의해 활성화되는 MAP kinase가 가장 잘 알려져 있다(36, 37).

최근 여러 가지 mitogenic factor에 의한 EIK-1/TCF의 인산화 및 활성화 과정에 Rho GTPase family protein이 관여하는 것으로 생각된다. 예를 들면, LPA에 의한 SRF의 activation은 Rho dominant negative mutant에 의해 특이적으로 억제되나, Rac dominant negative mutant로는 억제되지 않는다. 반면에 C2-ceramide에 의한 SRF의 activation은 Rac dominant negative mutant로 억제되나, Rho dominant negative mutant로는 억제되지 않는다(38, 39). 그리고 SRF activation에서 EIK-1 phosphorylation에 관계할 가능성이 높은 kinase는 Rac에 의해 activation되는 SAPK/JNK인데, SAPK/JNK가 EIK-1을 직접 phosphorylation시켜 SRF를 activation시킨다는 증거는 아직 없다. 최근 Rac에 의한 SRF activation에 Rac의 downstream에서 영향을 받는 PLA2가 관여한다는 보고가 나와(41), growth factor-Rac에 의한 SRF activation에는 여러 가지 signal pathway가 관련된 것으로 생각된다.

(5) NFkB activation

NFkB는 세포의 성장, 분화, 발생 과정에서 중요한 작용을 하는 transcription factor일 뿐만 아니라, 여러 가지 stress agents에 의해 활성화되는 단백질로 anti-apoptotic activity를 지니고 있는 것으로 생각된다(45). resting 상태의 세포에서 NFkB는 Ikb라는 inhibitory protein과 결합하여 inactive한 상태로 존재하며, cytokines, infection, protein synthesis inhibitors, UV, X-ray irradiation, PMA, nitric oxide 등의 매우 다양한 stress agents에 의해 NFkB는 activation된다(42, 43). 이들 inducers에 의한 NFkB activation이 antioxidants에 의해 억제되기 때문에 이들 inducers에 의해 생성된 ROS가

중요한 trigger가 아닌가 생각된다(44). 실제로 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 NFkB를 효율적으로 activation 시킨다는 보고도 나와 있다. 그러나 아직까지 ROS에 의한 NFkB activation에 관련된 신호전달계는 정확히 밝혀져 있지 않다.

최근 cytokine에 의해 활성화되는 redox-dependent pathway가 NFkB를 activation시키고, 이 pathway에 Rac이 관계하는 것으로 보고되어 있다(44, 45). Rac의 dominant positive mutant를 expression시킨 HeLa cell에서는 NFkB가 activation되는 반면, 반대로 이의 dominant negative mutant를 사용한 실험에서는 NFkB의 activation이 억제되는 것으로 나타났다. 그리고 Rac의 downstream target protein 중의 하나인 NADPH oxidase p67<sup>Phox</sup>가 바로 ROS를 생성하는 효소로, Rac은 phagocytic cell에서 NADPH oxidase system을 활성화시켜 NADPH의 electron을 molecular oxygen에 전달시켜 ROS를 생성하게 된다. 뿐만 아니라, 다른 종류의 세포에서도 growth factor나 cytokine 등에 의한 ROS 생성 과정에 Rac-NADPH oxidase p67<sup>Phox</sup>가 관여하는 것으로 알려져 있다. NADPH oxidase p67<sup>Phox</sup> activation을 통한 ROS 생성은 다른 Rho GTPase family에서 관찰할 수 없는 Rac의 아주 특수화된 기능의 하나인 것으로 여겨진다.

Ras도 activation되면 Rac을 경유하여 ROS를 증가시키는 것으로 알려져 있다(40). oncogenic Ras-dependent cancer cell에서 superoxide가 증가하여, 그 결과 NFkB가 activation되는데, antioxidants를 처리하면 이들 cancer cell의 증식이 억제되는 것으로 알려져 있다. 따라서 Ras에 의한 transformation 현상에 ROS가 중요한 역할을 담당하며, Rac이 Ras에 의한 ROS 생성과정이 관련된 것으로 보인다. 실제로 Rac dominant negative mutant는 Ras dominant negative mutant와 마찬가지로 ROS 생성이 억제된다. 그러나, Rac은 NFkB를 activation 시키기도 하지만 POSH를 경유하여 apoptosis도 일으킨다는 보고도 있다. 이 경우, NFkB activation은 Rac과 POSH와의 상호작용 없이도 일어날 수 있는 것으로 알려져 있다. 따라서 Rac-POSH-NFkB/Rac-ROS-NFkB cascade에 대한 비교 연구는 cell survival과 apoptosis 조절에 대한 새로운 정보를 제공하게 될 것으로 기대된다.

### 3. 맺음말

세포의 형태적 변화는 세포생물학자들에게만 제한된 관심사로 머물러 있었으나, 이들의 형태적 변화에 관계하는 signal transduction pathway가 생각보다 복잡하고, 여기에 관계하는 regulatory protein들이 transformation, transcription, kinase activation, cell cycle, apoptosis 등과 같은 세포내 주요 기능들과 맞물리면서 새로운 관심을 불러일으키고 있다. 외부 자극에 의한 세포구조 변화는 단순한 형태적 변화가 아니라, 여러 가지 environmental signal들에 대해 적응하는 mechanism으로 취급되어야 할 것이고, 이들간의 상호관계는 분명히 세포생물학에 새로운 paradigm을 줄 것임에 틀림없다.

### 참 고 문 헌

1. Hall A.(1998) Rho GTPases and the actin cytoskeleton. *Science*. 279: 509-514.
2. Aelst, L. V., and D'Souza-Schorey, C.(1997) Rho GTPases and signaling networks. *Genes & Dev*. 11: 2295-2322.
3. Boguski, M. S., and McCormick, F.(1993) Proteins regulating ras and its relatives. *Nature*. 366: 643-654.
4. Ridley, A.J., Paterson, H.F., and Hall, A.(1992). The small GTP-binding protein rac regulates growth factor-induced membrane ruffling. *Cell* 70: 401-410.
5. Ridley, A. J., and Hall, A.(1992) The small GTP-binding protein rho regulates the assembly of focal adhesion and actin stress fibers in response to growth factors. *Cell*. 70: 389-399.
6. Tom, J., Michael, A.W. and Dafna, B.S.(1996). Stimulation of membrane ruffling and MAP kinase activation by distinct effectors of Ras. *Science* 271: 810-812.
7. Mutsuki, A., Kazuyasu, C., Kazushi, K., Yuko, F. and Kozo, K.(1997). Formation of actin stress fibers and focal adhesions enhanced by Rho-kinase. *Science* 275: 1308-1311.
8. Hotchin, N. A., and Hall, A.(1995). The assembly of integrin adhesion complex requires both extracellular matrix and intracellular rho/rac GTPases. *J. Cell. Biol.* 131: 1857-1865.
9. Takaishi, K., Sakai, T., and Takai, Y.(1997). Regulation of cell-cell adhesion by rac and rho small G proteins in MDCK cells. *J. Cell. Biol.* 139: 1047-1059.
10. Cerione, R. A., and Zheng, Y.(1996) The Dbl family of oncogenes. *Curr. Opin. Cell. Biol.* 8: 216-222.
11. Matthew, J.H., Alessandra, E., Tony, E., Sauart, A.A. and Richard, A.C.(1991). Catalysis of guanine nucleotide exchange on the cdc42Hs protein by the dbl oncogene product. *Nature* 354: 311-314.
12. Fritts, M., Gaston, G.M., Jord, C.S., Rob, A.V. and John G.C.(1995). A role for rac in Tiam1-induced membrane ruffling and invasion. *Nature* 375: 338-340.
13. Crespo, P., Schuebel, K. E. and Bustelo, X. R. (1997) Phosphotyrosine-dependent activation of Rac-1 GDP/GTP exchange by the vav proto-oncogene product. *Nature*. 385: 169-172.
14. Gulbin, E., Coggeshall, K. M., and Altman, A. (1993) Tyrosine kinase-stimulated guanine nucleotide exchange activity of Vav in T cell activation. *Science* 260: 822-825.
15. Pablo, R.V., Wame, P.H. and Downward, J.(1997). Role of phosphoinositide 3-OH kinase in cell transformation and control of the actin cytoskeleton by Ras. *Cell* 89: 457-467.
16. Ishizaki, T. M., and Narumiya, S.(1996) The small GTP-binding protein Rho binds to and activates a 160kDa ser/thr protein kinase homologous to myotonic dystrophy kinase. *EMBO J.* 15: 1885-1893.
17. Linda, V.A., Tom, J. and Dafna, B.S.(1996). Identification of a novel rac1-interacting protein involved in membrane ruffling. *EMBO J.* 15: 3778-3786.
18. Bagrodia, S., Derizard, B., Davis, R.J. and Cer-

- ione, R.A.(1995(a)). Cdc42 and PAK-mediated signaling leads to jun-kinase and p38 mitogen-activated protein kinase activation. *J. Biol. Chem.* 270: 27995-27998 .
19. Lamarch, N., Tapon, N., Stowers, L. and Hall, A.(1996). Rac and cdc42 induce actin polymerization and G1 cell cycle progression independently of p65PAK and the JNK/SAPK MAP kinase cascade. *Cell.* 87: 519-529.
  20. Hersleowitz, I.(1995) MAP kinase pathways in yeast: for mating and more. *Cell.* 80: 187-197.
  21. Tapon, N., Nagata, K. and Hall, A.(1998). A new rac target POSH is an SH3-containing scaffold protein involved in the JNK and NF- $\kappa$ B signalling pathways. *EMBO J.* 17: 1395-1404.
  22. Dorseuil, O., Reibel, L., Bokoch, G. M., Camonis, J. and Gacon, G.(1996). The rac target NADPH oxidase p67phox interacts preferentially with rac2 rather than rac1. *J. Biol. Chem.* 271: 83-88.
  23. Hirao, M., Sato, N., Kondo, T., Yonemura, S., Monden, M., Sasaki, T., Takai, Y., Tsukita, S., and Tsukita, S.(1996) Regulation mechanism of ERM (ezrin/radixin/moesin) protein/plasma membrane association: possible involvement of phosphatidylinositol turnover and Rho-dependent signaling pathway. *J. Cell. Biol.* 135: 37-51.
  24. Hartwig, J.H., Bokoch, G.M., and Stossel, T.P. (1995). Thrombin receptor ligation and activated Rac uncouple actin filament barbed ends through phosphoinositide synthesis in permeabilized human platelets. *Cell* 82: 643-653.
  25. Bokoch, G.M., Vlahos, C.J. and Traynor-kaplan, A.E.(1996). Rac GTPase interacts specifically with phosphatidylinositol 3-kinase. *Biochem. J.* 315: 775-779.
  26. Peppelenbosch, M., L. G. Tertoolen, William J. Hage, and S. W. de Laat (1993) Epidermal Growth Factor-induced actin remodeling is regulated by 5-Lipoxygenase and cyclooxygenase products. *Cell* 75: 565-575.
  27. Brenner, B., Koppenhoefer, U., and Gulbins, E.(1997). Fas- or ceramide-induced apoptosis is mediated by a rac1-regulated activation of Jun N-terminal kinase/p38 kinases and GADD153. *J. Biol. Chem.* 272: 22173-22181.
  28. Gulbin, E., Coggeshall, K. M., and Lang, F.(1996). Fas-induced apoptosis is mediated by activation of a ras and rac protein-regulated signaling pathway. *J. Biol. Chem.* 271: 26389-26394.
  29. Teramoto, H., Coso, O.A. and Gutkind, J.S.(1996). Signaling from the small GTP-binding proteins Rac-1 and Cdc42 to the c-Jun N-terminal kinase/stress-activated protein kinase pathway. *J. Biol. Chem.* 271: 27225-27228.
  30. Irma S., Rowland T. H., Bruce J. M., Karen Y., James R. W., Joseph A., John M. K., and Leonard I. Z., (1994) Role of SAPK/ERK kinase-1 in the stress-activated pathway regulating transcription factor c-Jun. *Nature* 372: 794-800.
  31. John M. K., Papia B., Eleni N., Tianang Dai, Elizabeth A. R., Mir F. A., Joseph A., and James R. W., The stress-activated protein kinase subfamily of c-Jun kinases. *Nature* (1994) 369: 156-160.
  32. Liu, Z. G., Hsu, H., and Karin, M.(1996) Dissection of TNF receptor1 effector functions: JNK activation is not linked to apoptosis while NF $\kappa$ B activation prevents cell death. *Cell* 87: 565-576.
  33. Grimm, S., Bauer, M.K., Baeuerle, P.A. and Schulz-Osthoff, K.(1996) Bcl-2 down-regulates the activity of transcription factor NF-kappaB induced upon apoptosis. *J. Cell. Biol.* 134: 13-23.
  34. Perona, R., Montaner, S., Sanchez-Perez, I., Bravo, R. and Lacal J.C.(1997). Activation of the nuclear factor-kappaB by Rho, CDC42, and Rac-1 proteins. *Genes & Dev.* 11: 463-475.
  35. Maundrell, K., Antonsson, B., Magnenat, E., Camps, M., and Arkinstall, S.(1997) Bcl-2 undergoes phosphorylation by c-Jun N-terminal kinase/stress-activated protein kinases in the presence of the constitutively active GTP-binding protein Rac1. *J. Biol. Chem.* 272: 25238-25242.
  36. Alan, J.W., Paul, S., Andrew, D.S. and Davis, R.J.(1995). Integration of MAP kinase signal

- transduction at the serum response element. *Science* 269: 403-407.
37. Toshiro, S., Stewart, S., and Guan, K. L.(1998) The kinase suppressor of Ras(KSR) modulates growth factor and Ras signaling by uncoupling Elk-1 phosphorylation from MAP kinase activation. *EMBO J.* 17: 1717-1727.
38. Caroline, S.H., Judy, W. and Richard, T.(1995). The rho family GTPases rhoA, rac1 and cdc42 Hs regulate transcriptional activity by SRF. *Cell* 81: 1159-1170.
39. Kim, B.C. and Kim, J.H.(1998). Exogenous c2-ceramide activates *c-fos* serum response element via Rac-dependent signalling pathway. *Biochem. J.* 330: 1-6.
40. Pennisi, E.(1997). Superoxides relay ras protein's oncogenic message. *Science* 275: 1567-1568.
41. Kim, B. C., Lim, C. J., and Kim, J. H.(1997) Arachidonic acid, a principal product of Rac-activated phospholipase A2, stimulates *c-fos* serum response element via Rho-dependent mechanism. *FEBS Lett.* 415: 325-328.
42. Verma, I. M., Stevenson, J. K., Schwarz, E. M., Antwerp, D. V., and Miyamoto, S.(1995) Rel/NF-kB/IkB family : intimate tales of association and dissociation. *Genes & Dev.* 9: 2713-2735.
43. Siebenlist, U., Franzoso, G., and Brown, K.(1994) Structure, regulation and function of NFkB. *Annu. Rev. Cell Biol.* 10: 405-455.
44. Sulciner, D.J., Irani, K., Yu, Z., Ferrans, V.J., Goldschmidt-Clermont, P. and Finkel, T.(1996) rac1 regulates a cytokine-stimulated, redox-dependent pathway necessary for NFkB activation. *Mol. Cell Biol.* 16: 7115-7121.
45. Mayo, M.W., Wang, C.Y., Cogswell, P.C., Rogers-Graham, K.S., Lowe, S.W., Der, C.J. and Baldwin, A. S. Jr.(1997). Requirement of NF-kappa B activation to suppress p53-independent apoptosis induced by oncogenic ras. *Science* 578: 1812-1815.
46. Fuchs, A., Dagher, J. and Vignais, P. V.(1996). Topological organization of the cytosolic activating complex of the superoxide-generating NADPH-oxidase. Pinpointing the sites of interaction between p47phox, p67phox and p40phox using the two-hybrid system. *Biochem. Biophys. Acta. Gene. Struct. Expr.* 1312: 39-47.
47. Nathalie, L. and Hall, A.(1996). Rac and Cdc42 induce actin polymerization and G1 cell cycle progression independently of p65<sup>PAK</sup> and the JNK/SAPK MAP kinase cascade. *Cell* 87: 519-529.