RAS基因与脂代谢在恶性肿瘤中的相互调控

张明仝, 潘俊辰, 黄 蓬

中山大学肿瘤防治中心, 广东 广州 510060

[摘 要] RAS基因是恶性肿瘤中常见的驱动基因,在多种恶性肿瘤中高频率突变并异常活化,是驱动肿瘤发生发展的重要因素。代谢重编程作为恶性肿瘤重要特征之一,是抗肿瘤治疗的关键靶点。RAS基因可通过蛋白激酶B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物1信号轴或其他多条信号通路调控脂代谢,如脂质合成途径和降解途径等。同样,脂代谢也能修饰并激活RAS蛋白及其下游信号通路。因此,本文概述了现阶段脂代谢与RAS之间相互调控的研究,旨在为靶向脂代谢在RAS驱动型肿瘤的临床应用提供思路。

[关键词] RAS基因;脂代谢;肿瘤;治疗;综述

[中图分类号] R730.23 [文献标志码] A

Interaction between RAS gene and lipid metabolism in cancer

ZHANG Mingquan, PAN Junchen, HUANG Peng(Cancer Center, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510060, China)

Corresponding author: HUANG Peng, E-mail: huangpeng@sysucc.org.cn, <https://orcid.org/0000-0002-2152-9152>

[Abstract] The RAS gene is frequently mutated and abnormally activated in many cancers, and plays an important role in cancer development. Metabolic reprogramming occurs in malignant tumors, which can be one of the key targets for anti-tumor therapy. RAS gene can regulate lipid metabolism through AKT-mTORC1 single axis or multiple pathways, such as lipid synthesis pathways and degradation pathways. Similarly, lipid metabolism can also modify and activate RAS protein and its downstream signaling pathways. This article overviews the current research progress on the interaction between lipid metabolism and RAS, to provide insight in therapeutic strategies of lipid metabolism for RAS-driven tumors.

[Key words] RAS gene; Lipid metabolism; Tumor; Therapy; Review

[J Zhejiang Univ (Med Sci), 2021, 50(1): 17-22.]

收稿日期: 2020-12-14 接受日期: 2021-02-20

基金项目: 中山大学国家自然科学基金重大项目培育专项

第一作者: 张明仝, 博士研究生, 主要从事肿瘤代谢及干预研究; E-mail: zhangmq@sysucc.org.cn; <https://orcid.org/0000-0002-1853-935X>

通信作者: 黄 蓬, 教授, 博士生导师, 主要从事肿瘤代谢和抗肿瘤药物研究; E-mail: huangpeng@sysucc.org.cn; <https://orcid.org/0000-0002-2152-9152>

[缩略语] 鸟苷三磷酸(guanosine triphosphate,GTP); 鸟嘌呤核苷酸交换因子(guanine nucleotide exchange factors,GEF); GTP酶激活蛋白(GTPase-activating protein,GAP); 鸟苷二磷酸(guanosine diphosphate,GDP); 磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphoinositide 3-kinase,PI3K); 蛋白激酶B(protein kinase B,AKT); 丝裂原激活的蛋白激酶激酶(mitogen-activated protein kinase kinases,MEK); 胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinases,ERK); 固醇调节元件结合蛋白(sterol regulatory element-binding protein,SREBP); 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin,mTOR)

20世纪70年代末期人们发现RAS基因的激活突变能够使正常细胞发生恶性转化,并由此开启了分子靶向药时代。然而经过几十年的研究,靶向RAS的抗癌药物研发却进展缓慢。直至近日,针对KRAS(RAS家族成员之一)特定突变的药物进入临床试验,但该药物仅对KRAS^{G12C}突变型肿瘤有效^[1]。目前已知人类恶性肿瘤中高达30%的恶性肿瘤存在RAS基因激活突变,其中胰腺癌、结直肠癌和肺癌等肿瘤RAS突变频率和恶性程度均较高^[2-3]。

代谢重编程是恶性肿瘤(特别是KRAS驱动型)的重要特征之一,许多肿瘤细胞即使在有氧条件下仍然显示出异常活跃的糖酵解代谢活性,通过该代谢途径产生能量(三磷酸腺苷)及代谢中间产物以满足肿瘤细胞的存活和增殖需求,而肿瘤细胞这种活跃的有氧糖酵解特性被称为瓦博格效应^[4]。研究发现,KRAS的激活突变在促使细胞从以氧化磷酸化产能的代谢模式转向以糖酵解为主的代谢模式的过程中起重要作用。然而,目前脂代谢在恶性肿瘤发生发展中所发挥的功能仍未阐明。脂质不仅参与细胞膜的组成,还可以存储能量和作为信号分子传递等,功能繁多且复杂。因此,脂质的合成、修饰、摄取和降解途径对于维持细胞的正常生命活动至关重要,干扰脂质的代谢或外源的供应过程会明显影响细胞的存活。

随着脂质代谢成为恶性肿瘤研究领域的前沿焦点,阐明RAS基因与脂代谢之间的内在关系十分重要。对脂代谢重塑的相关表征及其与RAS激活突变关系的深入研究,有望为RAS驱动型肿瘤的治疗提供新策略。

1 RAS 基因

目前已知RAS基因主要包括KRAS、NRAS和HRAS,它们编码四种高度同源的RAS蛋白:NRAS、HRAS、KRAS4A和KRAS4B。其中KRAS突变在肿瘤中最为常见,其次是NRAS和HRAS。KRAS突变

常见于胰腺癌、结直肠癌和肺癌,NRAS突变多见于黑色素瘤和急性髓细胞白血病,而HRAS突变则常发生于膀胱癌和头颈癌^[5]。

RAS蛋白具有GTP水解酶活性和分子开关的作用。当其与GTP结合时被激活,呈“开启”状态,而当GTP被水解时RAS失活,呈“关闭”状态(图1)。该过程受GEF或GAP调控:GEF刺激GDP与GTP交换,而GAP则促进GTP水解。研究表明,肿瘤中RAS基因的错义突变频率较高,其中有三个突变热点,分别位于G12、G13和Q61。这些突变能使RAS蛋白长期与GTP结合从而持续激活下游的效应信号,驱动肿瘤的发生发展。KRAS是RAS家族的重要成员之一,其主要下游信号通路包括PI3K/AKT等重要信号转导途径^[6]。如图1所示,RAS的激活可通过PI3K/AKT和RAF/MEK/ERK信号轴等调控细胞的多种代谢过程,包括糖酵解代谢、三羧酸循环及脂代谢等。

2 RAS 对脂质的调控

一般情况下,人体体细胞的脂质既可以从饮食中获得,也可以从肝脏合成的脂质中获得。而肿瘤细胞可激活脂质的原始合成途径以至于无须完全依赖外界提供的脂质。有研究表明,肿瘤中脂肪酸和脂质合成途径的相关酶系处于高表达状态,有利于肿瘤的快速增殖^[7-8]。但也有研究显示,肿瘤依然需要从外界摄取一定量的脂质^[9],其摄取方式可通过低密度脂蛋白受体介导的内吞等途径完成^[10-11]。脂质的分解代谢(如脂肪酸的氧化分解)对于多种肿瘤细胞的存活和增殖也同样重要,抑制脂肪酸的氧化分解可减缓肿瘤生长并延长患者的存活期^[12-13]。

SREBP作为脂质合成途径的上游转录因子,能够调控多种脂质代谢相关代谢酶的表达。该家族共有三种亚型,分别是SREBP1a、SREBP1c和SREBP2,其中SREBP1主要参与脂肪酸合成途径,

RAS具有分子开关的作用;其与鸟苷三磷酸(GTP)结合时被激活,呈“开启”状态;当GTP被水解时RAS失活,呈“关闭”状态。该过程受鸟嘌呤核苷酸交换因子(GEF)或GTP酶激活蛋白(GAP)的调控;GEF刺激鸟苷二磷酸(GDP)与GTP交换,而GAP促进GTP水解。磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(AKT)信号轴和RAF/丝裂原激活的蛋白激酶激酶(MEK)/胞外信号调节激酶(ERK)信号轴是RAS的主要下游信号通路,调控多种代谢过程,包括糖酵解、三羧酸循环及脂代谢等。PIP3;3,4,5-三磷酸磷脂酰肌醇;mTOR:哺乳动物雷帕霉素靶蛋白。

图1 RAS的分子开关功能

Figure 1 Molecular switch function of RAS

而SREBP2主要调控胆固醇生物合成途径^[14]。mTOR能够与特定蛋白质分子结合并形成两种结构和功能不同的复合物,即mTORC1和mTORC2,其中mTORC1对代谢的影响尤为重要。活化的mTOR能够促进细胞的合成代谢并抑制分解代谢^[15]。如图2所示,在生长因子或激活的RAS作用下,细胞通过PI3K/AKT或RAF/MEK/ERK等信号通路激活mTORC1,后者能够诱导成熟的SREBP进入并累积于细胞核,促进与脂质代谢相关基因的转录,从而促进细胞内脂质的合成或细胞外脂肪酸的利用,以满足肿瘤细胞生长代谢的需要^[16-17]。有研究表明,靶向与脂质代谢相关的基因(如乙酰辅酶A羧化酶、长链酰基辅酶A合成酶3或脂肪酸合酶等)能有效阻碍非小细胞肺癌的生长。此外,也有研究报道脂肪酸合酶在三阴性乳腺癌和胰腺癌等恶性肿瘤中发挥重要作用^[18]。

在正常细胞中,mTORC1的活性受到生长因子的严格控制,但在RAS突变型肿瘤细胞中,mTORC1常被高活性的PI3K/AKT或RAF/MEK/ERK持续激活。呈“开启”状态的RAS能够诱导PI3K与细胞膜结合并通过其激酶活性将4,5-二磷酸磷脂酰肌醇转化为3,4,5-三磷酸磷脂酰肌醇;也能与RAF氨基末端的RAS结合区域相互作用,

促进RAF在细胞质膜上的累积和活化。被活化的RAF激活MEK,后者进一步通过磷酸化激活ERK,被激活的ERK可通过磷酸化激活多种蛋白底物(包括mTORC1)从而调控多种代谢过程。目前已知PI3K/AKT途径和RAF/MEK/ERK途径是RAS下游调控代谢的两条主要信号通路^[6]。有趣的是,近期研究发现依赖高活性RAS/RAF/MEK信号轴的肿瘤细胞可能对铁死亡更加敏感^[19]。铁死亡是一种以依赖铁离子和脂质过氧化为特征的细胞死亡形式,与细胞凋亡、坏死和自噬等形式均不同^[20]。多不饱和脂肪酸容易被亚铁离子通过芬顿反应生成的自由基或活性氧化,随后生成的脂质过氧自由基会继续氧化邻近的多不饱和脂肪酸,该过程若得不到抗氧化系统的有效阻止,脂质过氧化将迅速蔓延并最终导致细胞发生铁死亡^[21]。有学者认为,含大量由多不饱和脂肪酸组成的膜脂质的肿瘤细胞更容易被诱导发生铁死亡^[22]。因此,通过药物或其他方式诱导肿瘤细胞发生铁死亡有望成为干预RAS突变型肿瘤的新方法。如胱氨酸转运蛋白x_C-的抑制剂爱拉斯汀通过阻断胱氨酸进入细胞从而降低细胞内半胱氨酸含量,促使细胞内谷胱甘肽合成减少,活性氧增高,最终导致细胞膜脂质过氧化从而引发铁死

激活状态的RAS主要通过其下游信号通路磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(AKT)和RAF/丝裂原激活的蛋白激酶激酶(MEK)/胞外信号调节激酶(ERK)调控细胞代谢。被激活的哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物(mTORC)1能够促进成熟的固醇调节元件结合蛋白(mSREBP)在细胞核中累积从而引导脂质合成。P:磷酸化;PIP2;4,5-二磷酸磷脂酰肌醇;PIP3;3,4,5-三磷酸磷脂酰肌醇;PTEN;10号染色体缺失磷酸酶及张力蛋白同源物;PDK;丙酮酸脱氢酶激酶;TSC;结节性硬化症蛋白;Rheb;RAS蛋白脑组织同源类似物;GF:生长因子;ACAT;乙酰辅酶A乙酰转移酶;HMGCR;3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A还原酶;FASN;脂肪酸合酶;SCD;硬脂酰辅酶A去饱和酶;OMe;甲氧基。

图2 RAS调控脂代谢的主要途径

Figure 2 Main pathways of RAS regulating lipid metabolism

亡^[23]。值得注意的是,RAS突变型肿瘤细胞对爱拉斯汀有较高的敏感性。然而,由于目前对RAS与多不饱和脂肪酸代谢之间的关系及调控机制在肿瘤发生发展中的功能尚未明确,如何有效靶向RAS驱动型肿瘤的脂代谢从而发挥抗肿瘤作用还有待进一步研究。

除了诱导mTORC1激活SREBP促进脂质合成外,RAS还可通过其他途径调节脂代谢。有研究表明,RAS既能调控与磷脂代谢相关的酶(如磷脂酶A2、磷脂酶D以及胆碱激酶等)^[24-25],也能激活鞘氨醇激酶1从而调控鞘脂代谢^[26]。但目前针对磷脂代谢和鞘脂代谢影响肿瘤细胞存活和增殖的机制尚不明确。此外,也有研究显示,低氧环境下磷脂酶C γ 1的抑制有利于肺癌细胞的增殖^[27]。

3 脂质对RAS的调控

早期研究发现,RAS蛋白需要与膜结合才能发挥其生物学活性,因此靶向这种结合也成为抗RAS药物的研发策略之一。如图3所示,RAS与质膜或其他内膜的结合需要通过RAS蛋白羧基端的CAAX氨基酸序列发生一系列翻译后修饰完成,其中C代表半胱氨酸,A通常代表脂肪族氨基酸,X

为可变氨基酸(S或M)。有研究表明,法尼基转移酶能够催化法尼基类异戊二烯与CAAX基序的半胱氨酸结合,随后RAS转换酶1切去AAX氨基酸,而异戊二烯半胱氨酸羧基甲基转移酶将羧基端法尼基化半胱氨酸的羧基甲基化,最终生成具有疏水尾巴的RAS蛋白。该疏水区域对脂膜具有亲和力,因此能够锚定在细胞膜上从而促进RAS的活化过程^[28-30]。抑制RAS蛋白修饰从而阻止其与质膜结合曾经被认为是治疗RAS驱动型肿瘤的重要策略,但大量实验研究以及临床试验表明法尼基转移酶抑制剂未能发挥预期的抗肿瘤作用。这是由于在法尼基转移酶抑制剂的作用下,RAS蛋白可通过其他修饰方式与膜结合来发挥功能^[31]。有研究表明,除了CAAX序列的翻译后修饰外,RAS与质膜的结合还需要一个近端的“第二信号”,如HRAS和NRAS通过半胱氨酸的棕榈酰化或KRAS通过赖氨酸残基的延伸加强与质膜内磷脂的相互作用^[32]。因此,棕榈酰化抑制剂也可能是抗RAS的研究靶标,但是由于人类基因组中存在大量棕榈酰化蛋白质,针对蛋白质棕榈酰化的抑制剂可能具有较大的非特异性毒副作用。

RAS蛋白的翻译后修饰及其与质膜结合的过

法尼基转移酶(FTase)催化法尼基类异戊二烯与RAS蛋白羧基端的CAAX基序的半胱氨酸结合,随后RAS转换酶1(RCE1)切去AAX氨基酸,而异戊二烯半胱氨酸羧基甲基转移酶(ICMT)将羧基端法尼基化半胱氨酸的羧基甲基化,最终生成具有疏水性的尾巴。该疏水区域使RAS蛋白易于锚定在细胞膜从而促使RAS活化。法尼基转移酶抑制剂(FTI)通过阻断RAS蛋白的法尼基类异戊二烯修饰而抑制RAS的活性。OMe;甲氧基。

图3 脂质对RAS活性的调控及干预策略

Figure 3 The regulation of lipids on RAS activity

程并非单向的,可通过高尔基体的棕榈糖基转移酶催化后返回到内膜进行回收。已有研究表明NRAS和HRAS在质膜处发生去棕榈酸酯化会启动回收过程^[33-34]。

4 结 语

RAS基因的突变激活是促进多种肿瘤发生发展的重要分子基础,RAS蛋白分子通过PI3K/AKT和RAF/MEK/ERK等信号通路调控细胞的代谢、生存和增殖。近年的研究表明,RAS能影响肿瘤细胞的脂质代谢,而细胞的脂质代谢及脂质膜对KRAS的功能也有重要影响。另外,细胞膜脂质的脂肪链饱和度在一定程度上决定了细胞对活性氧介导铁死亡的敏感性。因此,靶向RAS及其下游信号通路、干预脂质代谢及细胞氧化还原平衡等均可成为抑制RAS驱动型肿瘤的治疗策略,其生物学意义和临床应用价值也随着分子生物学的研究手段和脂质代谢分析技术的发展日益受到关注。目前,RAS基因与脂质代谢的相互调控研究仍有许多问题亟需探索和回答,包括:①RAS基因对细胞脂质代谢及对线粒体脂膜的组分有何影响?其调控机制是什么?②RAS介导的脂质代谢改变及线粒体功能的改变对肿瘤细胞生物学行为有何

影响?这种脂质代谢的改变是否影响肿瘤细胞的干性、增殖和转移能力?③怎样利用RAS介导脂质代谢改变的生物学特性研发有效的干预策略用于RAS驱动型肿瘤治疗?脂肪酸饱和度的改变对活性氧介导铁死亡敏感性的影响有望成为设计杀灭含KRAS突变型肿瘤细胞新策略的基础,这对研发RAS驱动型肿瘤治疗药物具有重要意义。

参考文献

- [1] CANON J, REX K, SAIKI A Y, et al. The clinical KRAS(G12C) inhibitor AMG 510 drives anti-tumour immunity[J]. *Nature*, 2019,575(7781):217-223. DOI:10.1038/s41586-019-1694-1.
- [2] SPIEGEL J, CROMM P M, ZIMMERMANN G, et al. Small-molecule modulation of Ras signaling[J]. *Nat Chem Biol*, 2014,10(8):613-622. DOI:10.1038/nchembio.1560.
- [3] PAPKE B, DER C J. Drugging RAS:know the enemy [J]. *Science*, 2017,355(6330):1158-1163. DOI:10.1126/science.aam7622.
- [4] HANAHAN D, WEINBERG R A. Hallmarks of cancer;the next generation[J]. *Cell*, 2011,144(5):646-674. DOI:10.1016/j.cell.2011.02.013.
- [5] COX A D, FESIK S W, KIMMELMAN A C, et al. Drugging the undruggable RAS;mission possible?[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2014,13(11):828-851. DOI:10.1038/nrd4389.
- [6] WATERS A M, DER C J. KRAS;the critical driver and therapeutic target for pancreatic cancer[J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2018,8(9):a031435. DOI:10.1101/cshperspect.a031435.
- [7] SNAEBJORNSSON M T, JANAKI-RAMAN S, SCHULZE A. Greasing the wheels of the cancer machine;the role of lipid metabolism in cancer[J]. *Cell Metab*, 2020,31(1):62-76. DOI:10.1016/j.cmet.2019.11.010.
- [8] RÖHRIG F, SCHULZE A. The multifaceted roles of fatty acid synthesis in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2016,16(11):732-749. DOI:10.1038/nrc.2016.89.
- [9] MEDES G, THOMAS A, WEINHOUSE S. Metabolism of neoplastic tissue. IV. A study of lipid synthesis in neoplastic tissue slices *in vitro* [J]. *Cancer Res*, 1953, 13:27-29.
- [10] BROWN M S, GOLDSTEIN J L. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis[J]. *Science*, 1986, 232(4746):34-47. DOI:10.1126/science.3513311.
- [11] KAZANTZIS M, STAHL A. Fatty acid transport proteins,implications in physiology and disease[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012,1821(5):852-857. DOI:10.1016/j.bbalip.2011.09.010.
- [12] CAMARDA R, ZHOU A Y, KOHNZ R A, et al.

- Inhibition of fatty acid oxidation as a therapy for MYC-overexpressing triple-negative breast cancer[J]. **Nat Med**, 2016,22(4):427–432. DOI:10.1038/nm.4055.
- [13] LIN H, PATEL S, AFFLECK V S, et al. Fatty acid oxidation is required for the respiration and proliferation of malignant glioma cells[J]. **Neuro Oncology**, 2017,19(1):43–54. DOI:10.1093/neuonc/now128.
- [14] HORTON J D, SHAH N A, WARRINGTON J A, et al. Combined analysis of oligonucleotide microarray data from transgenic and knockout mice identifies direct SREBP target genes[J]. **Proc Natl Acad Sci USA**, 2003,100(21):12027–12032. DOI:10.1073/pnas.1534923100.
- [15] GONZÁLEZ A, HALL M N, LIN S C, et al. AMPK and TOR: the yin and yang of cellular nutrient sensing and growth control[J]. **Cell Metab**, 2020,31(3):472–492. DOI:10.1016/j.cmet.2020.01.015.
- [16] RICOULT S J H, YECIES J L, BEN-SAHRA I, et al. Oncogenic PI3K and K-Ras stimulate de novo lipid synthesis through mTORC1 and SREBP[J]. **Oncogene**, 2016,35(10):1250–1260. DOI:10.1038/ncr.2015.179.
- [17] KAMPHORST J J, CROSS J R, FAN J, et al. Hypoxic and Ras-transformed cells support growth by scavenging unsaturated fatty acids from lysophospholipids[J]. **Proc Natl Acad Sci USA**, 2013,110(22):8882–8887. DOI:10.1073/pnas.1307237110.
- [18] LIANG C, QIN Y, ZHANG B, et al. Metabolic plasticity in heterogeneous pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. **Biochim Biophys Acta**, 2016,1866(2):177–188. DOI:10.1016/j.bbcan.2016.09.001.
- [19] CAO J Y, DIXON S J. Mechanisms of ferroptosis[J]. **Cell Mol Life Sci**, 2016,73(11-12):2195–2209. DOI:10.1007/s00018-016-2194-1.
- [20] DIXON S J, LEMBERG K M, LAMPRECHT M R, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death[J]. **Cell**, 2012,149(5):1060–1072. DOI:10.1016/j.cell.2012.03.042.
- [21] YANG W S, STOCKWELL B R. Ferroptosis: death by lipid peroxidation[J]. **Trends Cell Biol**, 2016,26(3):165–176. DOI:10.1016/j.tcb.2015.10.014.
- [22] ZHENG J, CONRAD M. The metabolic underpinnings of ferroptosis[J]. **Cell Metab**, 2020,32(6):920–937. DOI:10.1016/j.cmet.2020.10.011.
- [23] SHIOZAKI A, IITAKA D, ICHIKAWA D, et al. xCT, component of cysteine/glutamate transporter, as an independent prognostic factor in human esophageal squamous cell carcinoma[J]. **J Gastroenterol**, 2014,49(5):853–863. DOI:10.1007/s00535-013-0847-5.
- [24] LUCAS L, DEL PESO L, RODRÍGUEZ P, et al. Ras protein is involved in the physiological regulation of phospholipase D by platelet derived growth factor[J]. **Oncogene**, 2000,19(3):431–437. DOI:10.1038/sj.onc.1203323.
- [25] RAMÍREZ DE MOLINA A, PENALVA V, LUCAS L, et al. Regulation of choline kinase activity by Ras proteins involves Ral-GDS and PI3K[J]. **Oncogene**, 2002,21(6):937–946. DOI:10.1038/sj.onc.1205144.
- [26] GAULT C R, EBLEN S T, NEUMANN C A, et al. Oncogenic K-Ras regulates bioactive sphingolipids in a sphingosine kinase 1-dependent manner[J]. **J Biol Chem**, 2012,287(38):31794–31803. DOI:10.1074/jbc.M112.385765.
- [27] SALIAKOURA M, ROSSI SEBASTIANO M, POZZATO C, et al. PLC γ 1 suppression promotes the adaptation of KRAS-mutant lung adenocarcinomas to hypoxia[J]. **Nat Cell Biol**, 2020,22(11):1382–1395. DOI:10.1038/s41556-020-00592-8.
- [28] WILLUMSEN B M, CHRISTENSEN A, HUBBERT N L, et al. The p21 ras C-terminus is required for transformation and membrane association[J]. **Nature**, 1984,310(5978):583–586. DOI:10.1038/310583a0.
- [29] WRIGHT L P, PHILIPS M R. Thematic review series: lipid posttranslational modifications CAAX modification and membrane targeting of Ras[J]. **J Lipid Res**, 2006,47(5):883–891. DOI:10.1194/jlr.R600004-JLR200.
- [30] SCHMIDT W K, TAM A, FUJIMURA-KAMADA K, et al. Endoplasmic reticulum membrane localization of Rce1p and Ste24p, yeast proteases involved in carboxyl-terminal CAAX protein processing and aminoterminal a-factor cleavage[J]. **Proc Natl Acad Sci USA**, 1998,95(19):11175–11180. DOI:10.1073/pnas.95.19.11175.
- [31] WHYTE D B, KIRSCHMEIER P, HOCKENBERRY T N, et al. K- and N-Ras are geranylgeranylated in cells treated with farnesyl protein transferase inhibitors[J]. **J Biol Chem**, 1997,272(22):14459–14464. DOI:10.1074/jbc.272.22.14459.
- [32] HANCOCK J F, PATERSON H, MARSHALL C J. A polybasic domain or palmitoylation is required in addition to the CAAX motif to localize p21ras to the plasma membrane[J]. **Cell**, 1990,63(1):133–139. DOI:10.1016/0092-8674(90)90294-o.
- [33] GOODWIN J S, DRAKE K R, ROGERS C, et al. Depalmitoylated Ras traffics to and from the Golgi complex via a nonvesicular pathway[J]. **J Cell Biol**, 2005,170(2):261–272. DOI:10.1083/jcb.200502063.
- [34] ROCKS O, PEYKER A, KAHMS M, et al. An acylation cycle regulates localization and activity of palmitoylated Ras isoforms[J]. **Science**, 2005,307(5716):1746–1752. DOI:10.1126/science.1105654.