

PROTEÍNY Ras: KLÚČOVÉ REGULÁTORY BUNKOVÉHO CYKLU

HELENA GBELCOVÁ^{a,b}, SILVIE RIMPELOVÁ^a,
ZDENĚK KNEJZLÍK^a, VANDA REPISKÁ^b,
TOMÁŠ RUML^a a DANIEL BÖHMER^b

^a Ústav biochemie a mikrobiologie, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6,

^b Ústav lékařské biologie, genetiky a klinické genetiky, Lékařská fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Sasinkova 4, 811 08 Bratislava
helen.gbelcova@fmed.uniba.sk

Došlo 15.12.14, prijaté 8.1.15.

Klíčové slová: Ras, aktivačná mutácia, farnezylácia, nádorové ochorenia, RASopatie

Obsah

1. Úvod
2. Štruktúra Ras proteínov a ich posttranslačná modifikácia
3. Vnútrobunkový transport Ras proteínov
4. Signálne dráhy zahŕňajúce Ras proteíny, ich regulácia a úloha v ľudských chorobách
5. Záver

1. Úvod

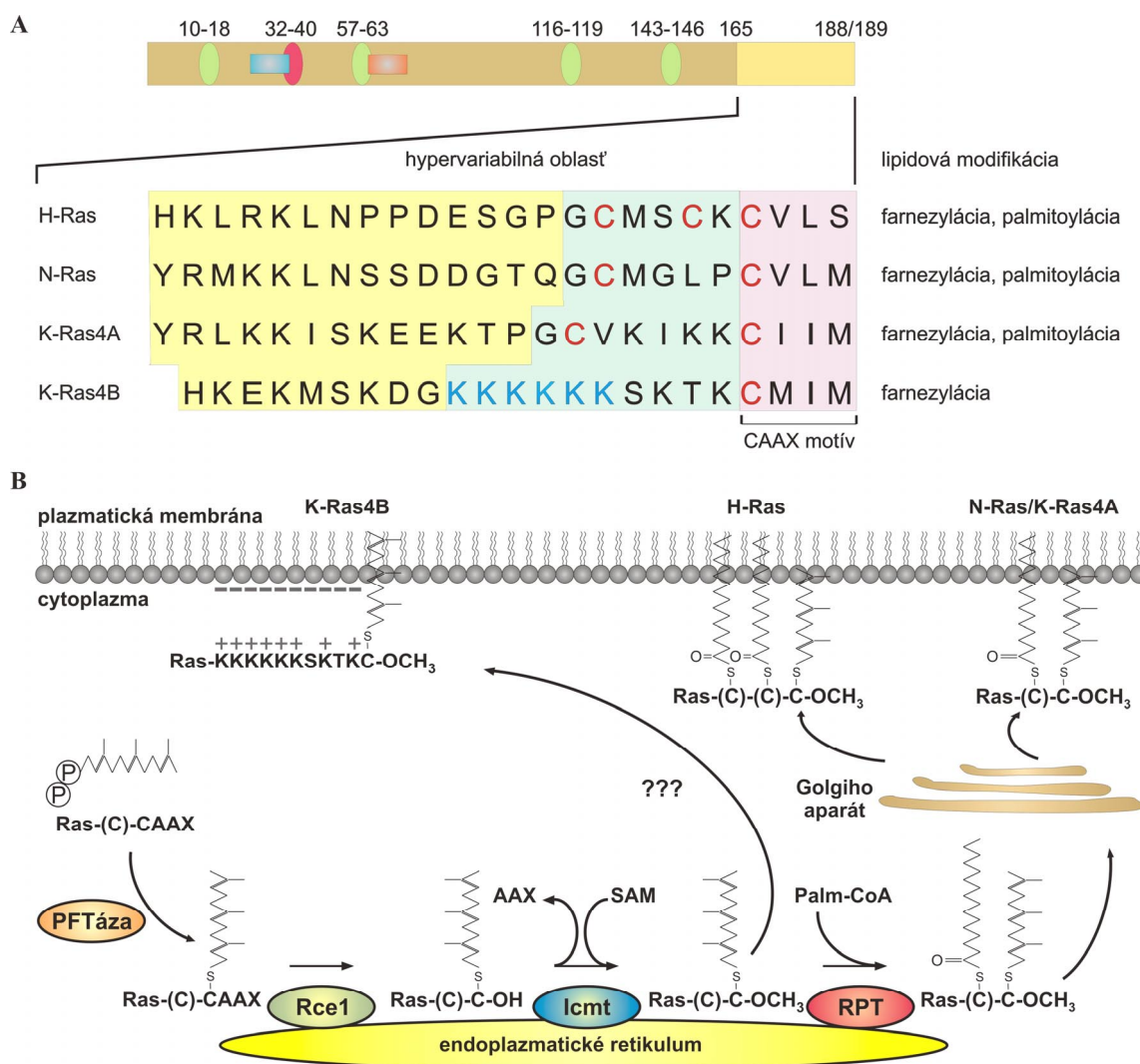
Od objavenia aktivačnej mutácie *ras* génu v nádorových bunkách ľudí, ktoré odštartovalo intenzívny výskum zameraný na pochopenie štruktúry, kinetiky a signalizácie Ras proteínov, ubehlo viac ako 30 rokov. Počas tohto obdobia bolo uverejnených viac ako 40 000 odborných publikácií popisujúcich objavy súvisiace s *ras* génmi alebo Ras proteínmi. A hoci by sa zdalo, že daná téma je vyčerpaná, mesačne sa objaví 200–300 ďalších prác popisujúcich skutočnosti v danej oblasti úplne nové alebo aspoň v nových súvislostiach. V tomto prehľadovom článku prinášame stručný súhrn objavov ostatných troch dekád stavajúcich *ras* gény a Ras proteíny do úlohy diagnostických biomarkerov, a to nielen vo vzťahu k nádorovým ochoreniam, ale aj k menej referovaným vrodeným chybám, ktoré sú manifestované ako syndróm.

2. Štruktúra Ras proteínov a ich posttranslačná modifikácia

Tri *ras* gény (*K-ras*, *N-ras* a *H-ras*) kódujú štyri Ras proteíny (*H-Ras*, *N-Ras*, *K-Ras4A* a *K-Ras4B*), nízkomolekulové guanozíntrifosfatázy (GTPázy), ktoré regulujú bunkový rast, diferenciáciu, proliferáciu, prežívanie a bunkovú smrť¹.

Okrem *K-Ras4B*, ktorý pozostáva zo 188 aminokyselín, všetky Ras proteíny sú tvorené zo 189 aminokyselín². Ras proteíny majú mimoriadne podobnú sekvenciu v oblasti domén viažucich efekty, výmenné faktory a guanín nukleotidy. Jediná oblasť Ras izoform, ktorá vykazuje významné rozdiely v sekvenciách, je tzv. hypervariabilný región (HVR) na C-konci proteínov pozostávajúci z 24 aminokyselín. Ten obsahuje dve signálne sekvencie spolupracujúce na celení Ras proteínov k plazmatickej membráne (PM). Prvou z nich je CAAX motív (C – cysteín, A – alifatická aminokyselina, X – serín alebo metionín)^{3,4}, druhú tvorí polybázický úsek šiestich lyzínových zvyškov (175–180) v *K-Ras4B*, alebo cysteín 180 v *K-Ras4A*, 181 v *N-Ras*, a 181 a 184 v *H-Ras*^{2,3,5} (obr. 1A).

Ras proteíny sú syntetizované v cytoplazme na voľných ribozómoch ako prekurzorové proteíny s molekulovou hmotnosťou 21 kDa. Prekurzory podstupujú sériu posttranslačných modifikácií na C-konci, ktorými sa zvyšuje ich hydrofóbnosť, čo umožňuje následnú asociáciu s vnútornou stranou PM. PM je jedno z miest, kde Ras proteíny interagujú s ich aktivátormi a interakčnými partnermi, a preto posttranslačné procesovanie Ras proteínov (obr. 1B) predstavuje jeden z dvoch kľúčových dejov, potrebných pre ich biologickú aktivitu. Novosyntetizované prekurzory Ras proteínov sú najskôr farnezylované v cytoplazme farnezyltransferázou (FTáza), ktorá pridáva farnezylovú skupinu k cysteínovému zvyšku (Cys186) v aminokyselinovom motíve CAAX. Prenylná reakcia je nasledovaná proteolytickým odstránením AAX motívu pomocou Ras meniaceho enzýmu (*Rce1 – Ras converting enzyme 1*)³. Vzniknutá karboxylová skupina na Cys186 je metylovaná izoprenylcysteínkarboxylmetyltransferázou (*Icmt*)⁶. Zodpovedajúce kroky posttranslačných modifikácií Ras proteínov prebiehajú na cytoplazmovej strane membrány endoplazmatického retikula (ER), kde sú oba vyššie zmienené enzýmy lokalizované. Po metylácii sú cysteínové zvyšky (Cys184 a Cys181 v *H-Ras*, Cys181 v *N-Ras* a Cys180 v *K-Ras4A*) reverzibilne palmitoylované pomocou palmitoyltransferázy lokalizovanej na ER⁷ alebo na Golgiho aparáte (GA)⁸. *K-Ras4B*, ktorý má namiesto cysteínových zvyškov polylyzínovú sekvenciu, nie je palmitoylovaný.



Obr. 1. A. Štruktúra Ras izoforiem a Ras hypervariabilnej oblasti. B. Posttranslačná modifikácia a konvenčný vnútrobunkový transport Ras proteínov. ■ – GEF interakčná oblasť, ■ – efektor/GAP interakcia, ■ – oblasť viažuca efekto, ■ – oblasť zodpovedná za väzbu s guaninnukleotidom, GEF – guaninnukleotid výmenný faktor (guanine nucleotide-exchange factor), GAP – guanozintrifosfát aktivujúci proteín (guanosinetriphosphatases-activating protein), C – cysteín, A – alifatická aminokyselina, X – serín alebo metionín, FTáza – farnezyltransferáza, ER – endoplazmatické retikulum, GA – Golgiho aparát, Icmt – izoprenylcysteínkarboxylmetyltransferáza, Rce1 – Ras meniaci enzým, Palm-CoA – palmitoyl koenzým A, SAM – S-adenozylmetionín, RPT – ER-lokalizovaná palmitoyltransferáza, PM – plazmatická membrána (upravené podľa³⁹⁻⁴¹)

3. Vnútrobunkový transport

3.1. Transport Ras proteínov k plazmatickej membráne

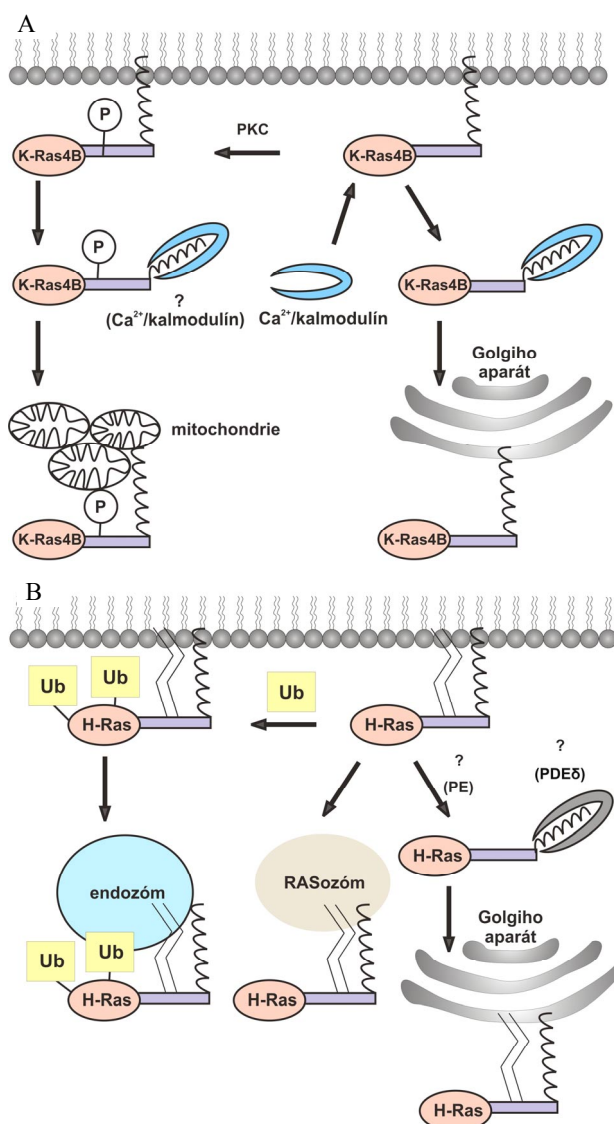
Farnezylácia Ras proteínov je nevyhnutná pre ich transport k PM a ukotvenie v nej. Novosyntetizované prekursor Ras proteínov po farnezyláci v cytoplazme smerujú k ER. Zatiaľ čo H-Ras, N-Ras a K-Ras4A vyžadujú palmitoyláciu pre transport na ER a Golgiho aparát a následný vezikulárny transport k PM, nepalmitoylovaný

K-Ras4B nepodstupuje konvenčnú sekrečnú dráhu, ale smeruje z ER priamo na PM doteraz presne neopísaným, GA nezávislým spôsobom⁹ (obr. 1B).

Úsek šiestich susediacich lyzínov a päť ďalších lyzínových zvyškov v HVR spájajú K-Ras4B prostredníctvom iónových interakcií s negatívnym nábojom hláv fosfolipidových skupín v PM. Palmitát palmitoylovaných Ras proteínov tiež prispieva k membránovej interakcii jeho schopnosťou vložiť sa hlboko do lipidovej dvojvrstvy¹⁰.

3.2. Transport K-Ras4B z plazmatickej membrány

Za istých okolností je K-Ras4B transportovaný z PM k vnútrobunkovým štruktúram^{11,12} (obr. 2A). Interakcia K-Ras4B s kalmodulínom (CaM – calcium modulated protein-CaM – je malý proteín viažuci vápenaté ióny, ktorý reguluje rad kľúčových procesov, vrátane apoptózy, zápalových procesov, kontrakcie hladkého svalstva alebo pamäte) vedie k destabilizácii interakcie K-Ras4B s membránou, v dôsledku narušenia elektrostatickej interakcie medzi polybázickým regiónom a negatívne nabitými



Obr. 2. Úloha modifikácií proteínu K-Ras4B (A) a palmitoylovaných proteínov Ras (B) v retrográdnom transporte z plazmatickej membrány. ~ – farnesylová skupina, P – fosfátová skupina, PKC – proteínkináza C, ~ – dve skupiny palmitoylu, Ub – ubiquitín, PE – palmitoylsteráza, PDEδ – δ-podjednotka fosfodiesterázy (upravené podľa¹⁸)

fosfolipidmi v PM alebo priamou hydrofóbnou interakciou kalmodulínu s farnesylovou skupinou K-Ras4B. Disociácia K-Ras4B umožní transport ku GA alebo skorým endozómom^{12,13}.

Serín v pozícii 181 v polybázickej doméne K-Ras4B je cieľom pre fosforyláciu proteínkinázou C, ktorá podporuje rapidnú disociáciu K-Ras4B z PM a jeho asociáciu s vnútrobunkovými membránami vrátane vonkajšej membrány mitochondrií, kde indukuje bunkovú smrť prostredníctvom interakcie s mitochondriálnym proapoptickým faktorom Bcl-XL^{11,12}. K-Ras4B predstavuje izofornu najčastejšie spájanú s ľudskými nádormi. Preto látka podporujúca fosforyláciu K-Ras4B v pozícii S181 by mala byť schopná indukovať apoptózu K-Ras4B transformovaných buniek a tak slúžiť ako nový protinádorový liek¹⁴.

3.3. Transport palmitoylovaných Ras izoforiem z plazmatickej membrány

Palmitoylované H-Ras a N-Ras proteíny viazané na PM podstupujú depalmitoyláciu prostredníctvom palmitoylsterázy (PE), uvoľnia sa z PM a presúvajú sa ku GA zatiaľ neznámym mechanizmom, ktorý môže zahŕňať rôzne proteíny vrátane δ-podjednotky fosfodiesterázy alebo galektínu-1 (obr. 2B). Tento spôsob transportu a signalizácie je odlišný od endozomálneho spôsobu a je nezávislý od endocytózy¹⁵.

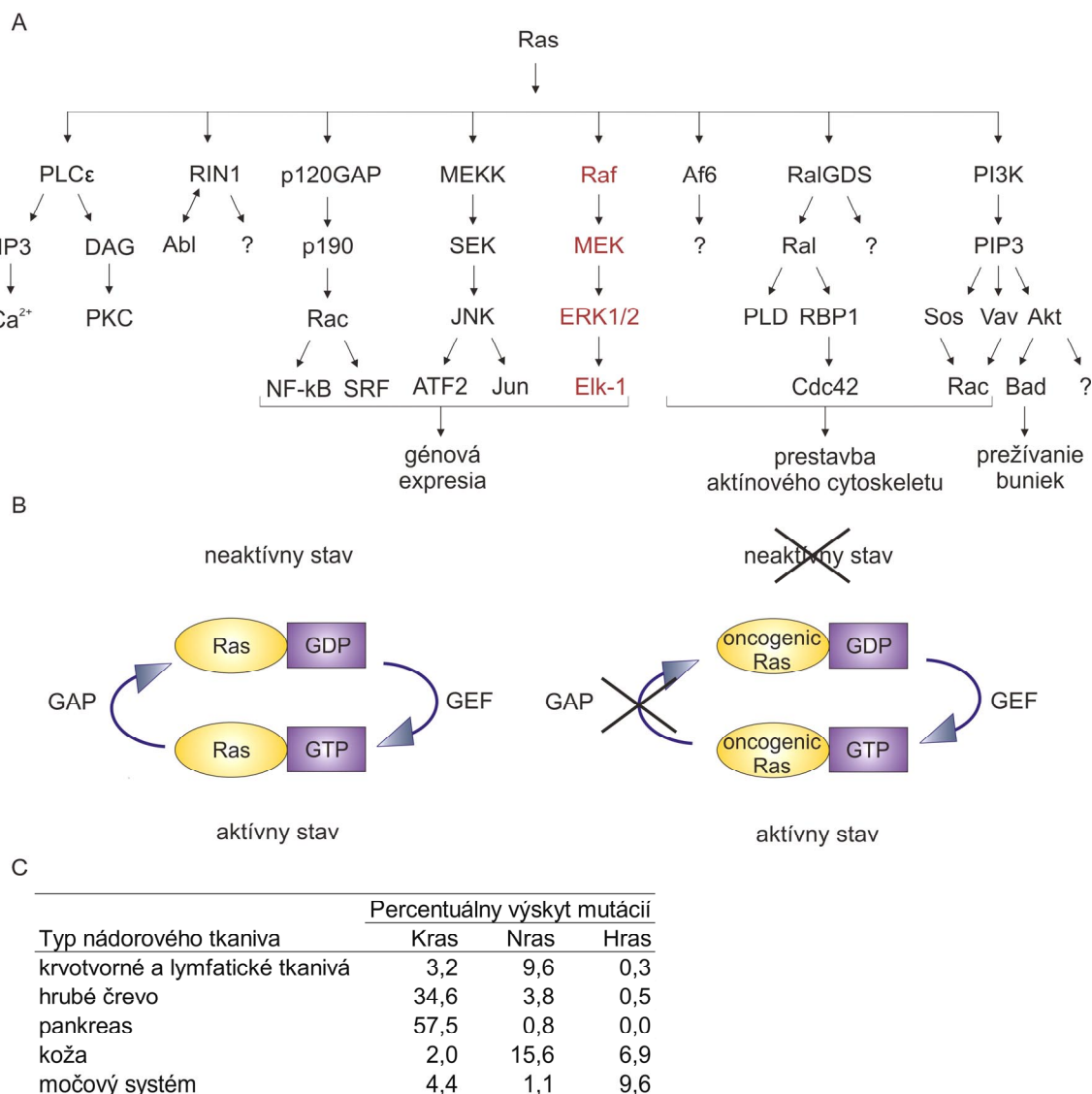
H-Ras podstupuje mono- a diubikvitináciu. HVR proteínu H-Ras obsahuje tri lyzíny, ktoré môžu byť ubikvitinované. Ubikvitinácia cieľi H-Ras k endozómu, stabilizuje asociáciu s ním a bráni jeho recirkulácii¹⁶.

Ďalším popísaným nekonvenčným transportom palmitoylovaných Ras proteínov je transport pomocou membránových častíc nanometrových rozmerov (cca 80 až 100 nm; angl. ramosomes)¹⁷, ktoré nesú viacero kópií H-Ras alebo N-Ras, ale nie K-Ras (čo súvisí s potrebou palmitoylovej skupiny pre interakciu s RASozómami¹⁷), šíria sa rýchlo v cytoplazme náhodným pohybom nezávislým od ATP. RASozómy nesú Ras proteíny v aktívnej a neaktívnej forme¹⁸, nekolokalizujú s endocytickými alebo exocytickými markermi a sú nezávislé od syntézy proteínov a GA¹⁹ (obr. 2B).

4. Signálne dráhy zahŕňajúce Ras proteíny a ich regulácia

Ras proteíny spúšťajú celý rad signálnych dráh (obr. 3A). Najintenzívnejšie z nich je študovaná mitogénom aktivovaná proteín-kinázová signálna dráha (MAPK – mitogen-activated protein kinase) a to najmä v súvislosti s onkogenézou, nakoľko jej deregulácia predstavuje jednu z primárnych príčin vzniku nádoru²⁰.

V nenádorových bunkách Ras proteíny cirkulujú medzi neaktívnym GDP – viazaným stavom a aktívnym GTP – viazaným stavom¹. Pretože GTP je v bunkách prítomné za fyziologických podmienok vo vyššej koncentrácii ako GDP, Ras proteíny prednostne viažu GTP a tvoria aktívne



Obr. 3. Signálne dráhy zahrňujúce proteíny Ras (A), regulácia aktivity proteínov Ras (B) a nádorové ľudské tkanivá s najvyšším percentuálnym výskytom mutácií v onkogénnoch *ras* (C). PLCε – fosfolipáza C, DAG – diacylglycerol, PKC – proteínkináza C, PLD – fosfolipáza D, IP3 – inozitol trifosfát, PIP3 – fosfatidylinozitol trifosfát, MEKK – MEK kináza, SEK – SAPK (stresom aktivovaná proteín kináza)/JNK (Jun N-terminálna kináza) kináza, ERK – extrabunkové signálregulujúce kinázy, p190 – GAP pre členov rodiny Rho, p120GAP – RasGTPázy aktivujúci proteín, Sos – RasGEF, RalGDS – rodina GEF pre Ral, GEF – guanínukleotid výmenný faktor, Akt = PKB – proteín kináza B, GDP – guanozín difosfát, GTP – guanozín trifosfát, GAP – GTPázy aktivujúci proteín, GEF – guanínukleotid výmenný faktor (upravené podľa^{21–23,40,42})

Ras-GTP. Rýchlosť prirodzenej hydrolýzy viazaného GTP samotnými Ras proteínmi (majú GTPázovú aktivitu) je veľmi nízka. Ukončenie aktívneho stavu je za fyziologických podmienok urýchľované GTPázy aktivujúcim proteínom (GAP). Onkogénne Ras proteíny sú rezistentné k aktivite GAP, čoho výsledkom je ich nepretržitá aktivita. Aby mohli byť Ras proteíny opätovne aktivované, guanínukleotid výmenné faktory (GEFs – guanine nucleotide-exchange factors) viažu Ras-GDP, pričom spôsobujú disociáciu viazaného GDP. Ras proteíny sú tak zase prístupné pre väzbu s GTP a cyklus sa uzatvára (obr. 3B).

Ras izoformy sú najčastejšie mutovanými génmi v nádorových tkanivách. Frekvencia výskytu *K-ras* mutácie je najvyššia v nádoroch pankreasu a hrubého čreva, mutovaný *H-ras* gén bol identifikovaný predovšetkým v močovom systéme a *N-ras* mutácie dominujú v melanómoch a v nádoroch lymfatického systému (COSMIC, Wellcome trust Sanger Institute, Cambridge, UK)^{21–23} (obr. 3C).

Mutácie, ktoré sa vyskytujú s najvyššou frekvenciou v géne *K-ras* nádorových buniek, sú lokalizované v kodónoch 12 a 13, menej často v kodónoch 61, 63, 117,

Tabuľka I

Genetické syndrómy spriahnuté s Ras/MAPK signálnou dráhou

Názov syndrómu	Genetická podstata	Kódovaný proteín	Funkcia proteínu
Noonanovej syndróm	PTPN11	SHP2	fosfatáza
	SOS1	SOS1	RasGEF
	RAF1	CRAF	kináza
	KRAS	KRAS	GTPáza
Leopard syndróm	PTPN11	SHP2	fosfatáza
	RAF1	RAF1/CRAF	kináza
Dedičná gingiválna fibromatóza	SOS1	SOS1	RasGEF
Noonanovej neurofibromatóza typ 1	NF1	Neurofibromín	RasGAP
Costellov syndróm	HRAS	HRAS	GTPáza
Autoimúnný lymfoproliferačný syndróm	NRAS	NRAS	GTPáza
Kardio-facio-kutánný syndróm	BRAF	BRAF	kináza
	MAP2K1	MEK1	kináza
	MAP2K2	MEK2	kináza
	KRAS	KRAS	GTPáza
Legius syndróm	SPRED1	SPRED1	inhibitor kináz
Syndróm kapilárnej malformácie - artériovenózne malformácie	RASA1	p120Gap	RasGAP

119 a 146 (cit.^{24–26}). Tieto mutácie sa nachádzajú v blízkosti miesta viažuceho GTP. Somatické zmeny mutácie v pozíciách 12, 13, 61 a 63 spôsobujú konformačné zmeny proteínu K-Ras a tým aj narušenie jeho prirodzenej GTPázovej aktivity, čo má za následok redukciiu GTP hydrolyzačnej kapacity²⁷. Mutácie v pozíciách 116, 117, 119 a 146 redukujú nukleotidovú afinitu proteínu K-Ras a tým ovplyvňujú rýchlosť výmeny GDP/GTP. Onkogénne formy Ras proteínu sú zodpovedné za oveľa vyššiu proliferáciu aktivitu nádorových buniek. Transformačná schopnosť onkogénu K-*ras* môže byť výsledkom nadexpresie mutovaných K-*ras* alieli alebo výsledkom delécie divého typu K-*ras* alely²⁸. Divý typ K-*ras* alely môže zároveň potlačiť onkogénnu funkciu mutovanej alely²⁹.

Existuje skupina ľudských genetických syndrómov súhrnne známych ako RASopatie, ktoré sú spôsobené zárodočnou mutáciou (mutácia na úrovni pohlavných buniek) v génoch kódujúcich zložky MAPK signálnej dráhy. Každá z týchto RASopatií na jednej strane vykazuje unikátne fenotypové rysy, na druhej strane mnohé tieto syndrómy zdieľajú charakteristické prekrývajúce sa rysy vrátane kraniofaciálnej dysmorfológie, malformácie srdca a kože, svalovokostenné a očné abnormality, s rôznym stupňom neurokognitívnych zhoršení, v prípade niektorých syndrómov dokonca zvýšené riziko vzniku nádorového ochorenia³⁰. Diagnostiku jednotlivých RASopatií sťažujú prekrývajúce sa klinické znaky a široké spektrum fenotypových prejavov³¹. Preto sa molekulárna analýza stala dôležitým kľúčom k potvrdeniu klinickej diagnózy u jednotlivých pacientov. Zoznam RASopatií spolu s ich molekulárnou charakteristikou je uvedený v tab. I.

5. Záver

Enzymy katalyzujúce jednotlivé kroky posttranslačnej úpravy Ras proteínov sa dostali na vrchol záujmu pri vývoji nových liekov použiteľných či už pri liečbe nádorových ochorení s výskytom mutovaných Ras proteínov alebo pri eliminácii príznakov RASopatií³². Ďalšie úsilie je venované testovaniu látok, ktoré inhibujú jednotlivé zložky Ras/MAPK signálnej dráhy^{33,34}. V neposlednej rade treba spomenúť vývoj inhibície mutovaných foriem Ras proteínov založených na eliminácii expresie Ras proteínov použitím anti-sense RNA³⁵, anti-Ras ribozýmov^{36,37} alebo aplikovaním anti-Ras reovirálnej terapie³⁸.

Publikácia bola pripravená vďaka podpore grantovej komisie VEGA pre lekárske a farmaceutické vedy – číslo projektu 1/0407/13 a za podpory projektu MŠMT CZ.1.07/2.3.00/30.0060 podporovaného Evropskými sociálnymi fondy.

Zoznam skratiek

CAAX	C – cysteín, A – alifatická aminokyselina, X – serín alebo metionín
ER	endoplazmatické retikulum
ERK	extrabunkové signálregulujúce kinázy
FTáza	farnezyltransferáza
GA	Golgiho aparát, Golgiho komplex
GAP	GTPázy aktivujúci proteín
GDP	guanozín difosfát

GEFs	guaninnukleotid výmenné faktory
GTP	guanozín trifosfát
GTPáza	guanozíntrifosfatáza
HVR	hypervariabilný región
Icmt	izoprenylcysteinkarboxylmetyltransferáza
MAPK	mitogénom aktivovaná proteín kináza
MEK	MAP a ERK kináza
PE	palmitoyleráza
PM	plazmatická membrána
p120GAP	RasGTPázy aktivujúci proteín
Rce1	Ras meniaci enzým
Sos	RasGEF

LITERATÚRA

- Boguski M. S., McCormick F.: *Nature* 366, 643 (1993).
- Lowy D. R., Willumsen B. M.: *Annu. Rev. Biochem.* 62, 851 (1993).
- Hancock J. F., Magee A. I., Childs J. E., Marshall C. J.: *Cell* 57, 1167 (1989).
- Willumsen B. M., Christensen A., Hubert N. L., Pageorge A. G., Lowy D.: *Nature* 310, 583 (1984).
- Hancock J. F., Cadwallader K., Marshall C. J.: *EMBO J.* 10, 641 (1991).
- Hancock J. F., Cadwallader K., Paterson H., Marshall C. J.: *EMBO J.* 10, 4033 (1991).
- Sefton B. M., Trowbridge I. S., Cooper J. A., Scolnick E. M.: *Cell* 31, 465 (1982).
- Goodwin J. S., Drake K. R., Rogers C., Wright L., Lippincott-Schwartz J., Philips M. R., Kenworthy A.K.: *J. Cell Biol.* 170, 261 (2005).
- Apolloni A., Prior I. A., Lindsay M., Parton R. G., Hancock J. G.: *Mol. Cell. Biol.* 20, 2475 (2000).
- Murray D., Ben-Tal N., Honig B., McLaughlin S.: *Structure* 5, 985 (1997).
- Bivona T. G., Quatela S. E., Bodemann B. O., Ahearn I. M., Soskis M. J., Mor A., Miura J.: *Mol. Cell* 21, 481 (2006).
- Fivaz M., Meyer T.: *J. Cell Biol.* 170, 429 (2005).
- Villalonga P., López-Alcalá C., Bosch M., Chiloeches A., Rocamora N., Gil J., Marais R., Marshall C. J., Bachs O., Agell N.: *Mol. Cell. Biol.* 21, 7345 (2001).
- Philips M. R.: *Biochem. Soc. Trans.* 33, 657 (2005).
- Rockers O., Peyker A., Kahms M., Verveer P. J., Koerner C., Lumbierres M., Kuhlmann J., Waldmann H., Wittinghofer A., Bastiaens P. I.: *Science* 307, 1746 (2005).
- Jura N., Scotto-Lavino E., Sobczyk A., Bar-Sagi D.: *Mol. Cell* 21, 679 (2006).
- Grunwald A., Gottfried I., Cox A. D., Haklai R., Kloog Y., Ashery U.: *Cell Death Dis.* 4, e496. doi: 10.1038/cddis.2013.16 (2014).
- Ashery U., Yizhar O., Rotblat B., Elad-Sfadia G., Barkan B., Haklai R., Kloog Y.: *Cell. Mol. Neurobiol.* 26, 471 (2006b).
- Rotblat B., Yizhar O., Haklai R., Ashery U., Kloog Y.: *Cancer Res.* 66, 1974 (2006).
- Santarpia L., Lippman S. M., El-Naggar A. K.: *Expert Opin. Ther. Targets* 16(1), 103 (2012).
- <http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/gene/analysis?ln=HRAS#histo>, stiahnuté 10. januára 2014.
- <http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/gene/analysis?ln=NRAS#histo>, stiahnuté 10. januára 2014.
- <http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/gene/analysis?ln=KRAS#histo>, stiahnuté 10. januára 2014.
- Barbacid M.: *Eur. J. Clin. Invest.* 20, 225 (1990).
- Rodenhuis S., Slebos R. J.: *Am. Rev. Respir. Dis.* 142(6), 2:S27 (1990).
- Beránek M., Bureš J., Šácha M., Sákra L., Rajman M., Jandík P., Rudolf E., Landt O.: *Chem. Listy* 101, 738–741 (2007).
- Scheffzek K., Ahmadioan M. R., Kabsch W.: *Science* 277, 333 (1997).
- Marshall C. J.: *Trends Genet.* 7, 91 (1991).
- Zhang Z., Wang Y., Vikis H.G., Johnson L., Liu G., Li J., Anderson M. W., Sills R. C., Hong H. L., Devereux T. R., Jacks T., Guan K. L., You M.: *Nat. Genet.* 29, 25 (2001).
- Tydyman W. E., Rauen K. A.: *Genet. Dev.* 19, 230 (2009).
- Tartaglia M., Gelb B. D., Zenker M.: *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 25, 161 (2011).
- Winter-Vann A. M., Baron R. A., Wong W., dela Cruz J., York J. D., Gooden D. M., Bergo M. O., Young S. G., Toone E. J., Casey P. J.: *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 102, 4336 (2005).
- Sebolt-Leopold J. S., Dudley D. T., Herrera R., Van Becelaere K., Wiland A., Gowan R. C., Tecle H., Barrett S. D., Bridges A., Przybranowski S., Leopold W. R., Saltiel A. R.: *Nat. Med.* 5, 810 (1999).
- Bollag G., Freeman S., Lyons J. F., Post L. E.: *Curr. Opin. Investig. Drugs* 4, 1436 (2003).
- Mukhopadhyay T., Tainsky M., Cavender A. C., Roth J. A.: *Cancer Res.* 51, 1744 (1991).
- Zhang Y. A., Nemunaitis J., Scanlon K. J., Tong A. W.: *Gene Ther.* 7, 2041 (2000).
- Kijima H., Yamazaki H., Nakamura M., Scanlon K. J., Osamura R. Y., Ueyama Y.: *Int. J. Oncol.* 24, 559 (2004).
- Coffey M. C., Strong J. E., Forsyth P., Lee P. W.: *Science* 282, 1332 (1998).
- Prior I. A., Hancock J. F.: *Cell Sci.* 114, 1603 (2001).
- Midgley R. S., Kerr D. J.: *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 44, 109 (2002).
- Hancock J. F.: *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 4, 373 (2003).
- Vojtek A. B., Der C. J.: *Biol. Chem.* 273, 19925 (1998).

**H. Gbelcová^{a,b}, S. Rimpelová^a, Z. Knejzlík^a,
V. Repiská^b, T. Ruml^a, and D. Böhmer^b** (^a *Department of
Biochemistry and Microbiology, University of Chemistry
and Technology, Prague,* ^b *Institute of Medical Biology,
Genetics and Clinical Genetics, Faculty of Medicine, Co-
menius University, Bratislava*): **RAS Proteins – Key Re-
gulators of Cell Cycle**

RAS proteins are small guanosine triphosphatases controlling the cell growth, differentiation, proliferation, survival, and death. They are encoded by *ras* proto-oncogenes, frequently mutated, in many cancer tissues and in the whole group of congenital defects. Understanding the structure, kinetics and signaling of RAS proteins allow the use of *ras* genes and RAS proteins as diagnostic biomarkers.