

Молекулярные механизмы апоптоза

Апоптоз (Программируемая смерть клетки) - генетически регулируемая, морфологически определяемая форма гибели клетки, которая может быть инициирована многими физиологическими и патологическими факторами. Такой важный внутриклеточный процесс часто инициируется во время нормального жизненного цикла клетки с целью поддержания гомеостаза в организме. Однако апоптоз играет важную роль при различных патологических состояниях, в частности при нейродегенеративных и сердечно-сосудистых заболеваниях, аутоиммунной патологии, раке. В связи с этим, возможность понять механизмы апоптоза и уметь воздействовать на них является важнейшей целью современной медицинской науки. В данной статье мы освещаем основные компоненты системы программируемой клеточной смерти, а так же обсуждаем возможные пути активизации апоптоза и их взаимодействие. Ключевые слова: апоптоз, программируемая смерть клетки, каспазы, рецепторы смерти, митохондрии

Apoptosis (Programmed Cell Death) is a genetically regulated, morphologically distinct form of cell death that can be initiated by many different physiological and pathological stimuli. Such strategic intracellular programming is initiated in many instances during normal life cycle and development in order to maintain the homeostasis of a multicellular organism, to eliminate unwanted cells. However, apoptosis is also involved in a wide range of pathologic conditions, including neurodegenerative and cardiovascular diseases, cancer and autoimmune diseases. Therefore, the ability to understand and manipulate the cell death machinery is an obvious goal of medical research. Here we review the basic components of the death machinery, discuss their interaction in regulation of apoptosis, and describe the main pathways that are used to activate apoptosis. Key Words: apoptosis, programmed cell death, caspases, mitochondria, death receptors

Апоптоз или запрограммированная смерть клетки, является звеном многих биологических процессов у многоклеточных организмов. Было установлено, что для иммунной и нервной систем, например, за счет гибели строго определенных клеток в процессах развития и гомеостаза происходит удаление ненужных структур и неполноценных нефункционирующих клеток. Именно процессы запрограммированной гибели клеток отвечают в данном случае за создание дифференцированных клеток без внутриклеточных органелл, формирование структур, управление числом клеток /11/. Индукторы апоптоза относительно разнообразны и включают такие внутренние и внешние факторы как ассоциированные с фибробластами лиганды (FasL), факторы некроза опухолей (TNF), TNF-подобные лиганды вызывающие апоптоз, генотоксические агенты типа у-облучения, противоопухолевых препаратов и прооксидантов /7/. В отличие от пассивного патологического процесса - некротической гибели клетки, апоптоз - активная реакция. В большинстве случаев он характеризуется сморщиванием клетки, перестройкой мембранных структур (появление на поверхности клеточной мембраны фосфатидилсерина), уменьшением объема клетки, конденсацией ядра,

разрывами нитей ядерной ДНК с последующим распадом ядра на части. Во время завершающей стадии небольшие остатки клеток в форме мембранных везикул с внутриклеточным содержимым ("апоптозные тельца") захватываются фагоцитами, что предотвращает развитие воспалительной реакции /12/.

Апоптоз – высокорегулируемый и сложный процесс. Активность многих генов и сигнальных путей влияет на решение клетки включить программу самоликвидации. Хотя исследования последнего времени предлагают новые и иногда неожиданные механизмы, при помощи которых клетка принимает решения о продолжении жизни или о смертном приговоре. Мы находимся все еще в начале пути, ведущему к полному пониманию этого процесса. Каспазы

Непосредственными «исполнителями» апоптоза в клетке являются белки особого семейства протеаз, так называемые каспазы. Каспазы - семейство эволюционно консервативных цистеиновых протеаз, которые специфически активируются в апоптозных клетках и играют ключевую роль в механизмах программируемой смерти клетки. В своих субстратах они катализируют гидролиз пептидных связей образованных карбоксильными группами аспарагиновой кислоты. В связи с чем они и получили свое название(Cys + Asp + протеАза = CASPAS). В настоящее время выделяют несколько подсемейств каспаз, основываясь на их структурной схожести, идентичности аминокислотных последовательностей и субстратной специфичности. Более десятка каспаз было идентифицировано у человека. Эти белки составляют целый каскад, в котором они активируют друг друга. Результатом действия каспаз является активация белка или его инактивация, но никогда действие каспаз не приводит к деградации белков. Наиболее известными субстратами каспаз являются цитоплазматические белки гельсольвин и фодрин, ядерные белки ламин А и В, поли (АДФ-рибоза) полимеразы, протеинкиназы типа р21- активированная киназа 2, киназа фокальной адгезии и другие белки, которые включаются в механизмы экспрессии генов и внутриклеточной передачи сигналов /6/. Подвергается протеолизу каспазами и ингибитор ДНКазы, ответственный за фрагментацию ДНК. В нормальных клетках апоптозная ДНКаза CAD (caspase-activated DNAase) образует неактивный комплекс с ингибитором CAD, обозначаемым ICAD или DFF (DNA fragmentation factor). При апоптозе ингибитор ICAD с участием каспаз инактивируется, и свободная CAD, вызывая межнуклеосомальные разрывы хроматина, ведет к образованию фрагментов ДНК с молекулярной массой, кратной молекулярной массе ДНК в нуклеосомных частицах - 180-200 пар нуклеотидов. Эти фрагменты при электрофоретическом разделении в агарозном геле дают характерную "лесенку ДНК"/16, 18/. Действие на другие специфические субстраты объясняет также некоторые характерные признаки апоптоза. Например, расщепление ядерных ламинов, которые армируют ядерную мембрану, приводит к конденсации хроматина и сморщиванию ядра, а действие на белки цитоскелета возможно является причиной изменения формы клетки.

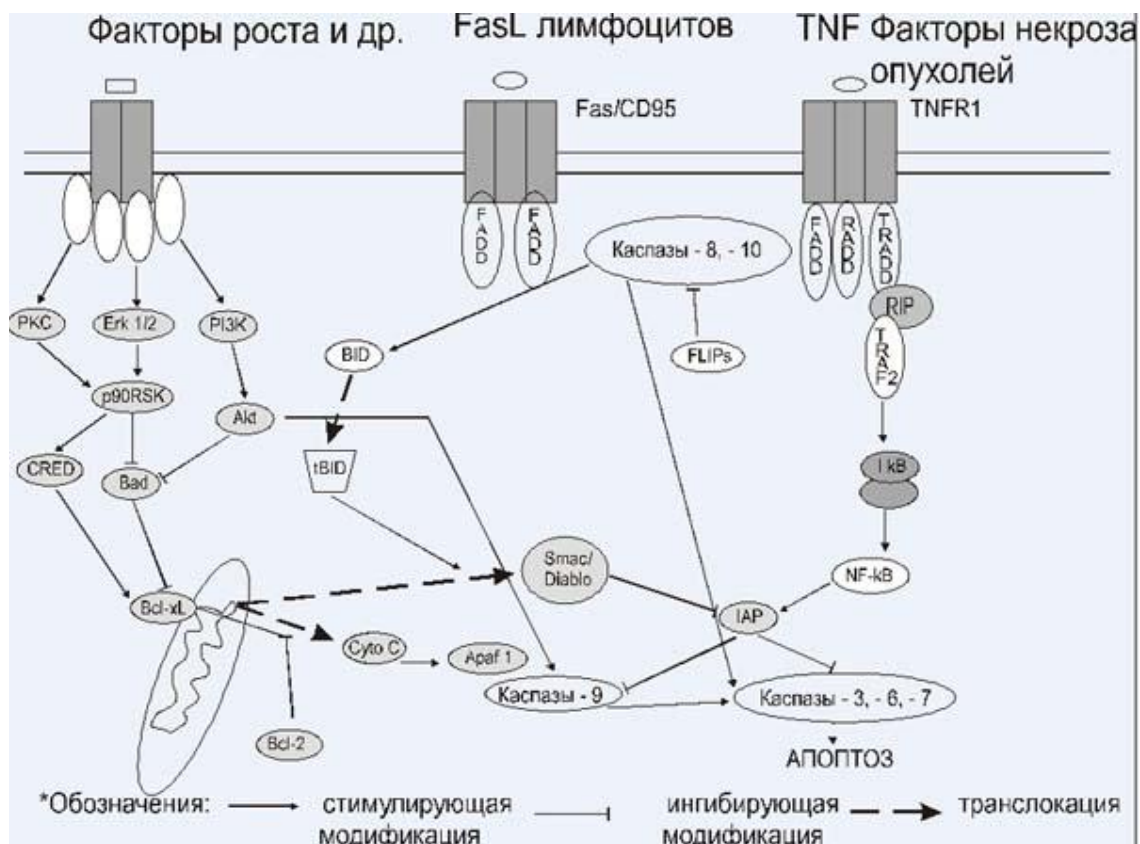


Рис.1. Образование активного холофермента каспазы 9.

Каспазы синтезируются в форме проферментов. В настоящее время интенсивно изучаются механизмы их активирования, среди которых следует назвать такие как образование холофермента, модель индуцированного сближения и расщепление эффекторных каспаз.

В образовании холофермента (каспаза 9) принимает участие цитоплазматический белок фактор активации протеаз Араф-1 (apoptotic protease activating factor 1) и цитохром с. Араф-1 - белок с молекулярной массой 130 кДа, содержит на N-конце CARD-домен (caspase activation and recruitment domain) и 12 повторяющихся аминокислотных WD-40-последовательностей (WD - дипептид, состоящий из триптофана и аспарагиновой кислоты) на С-конце. Из этих повторов собираются жесткие, симметричные структуры, наподобие веера или пропеллера. В нормальных здоровых клетках Араф-1 существует как компактный мономер в цитоплазме. Компактность достигается тем, что домены CARD прикрываются и одновременно ингибируются веероподобными структурами WD40 повторов. Выходящий из митохондрий под действием апоптозных сигналов цитохром с связывается с доменами WD40, высвобождая N-концевые домены CARD из ингибированного состояния.

Такие перемены конформации позволяют присоединиться к своим специфическим участкам молекулам дАТФ (без гидролиза), что благоприятствует созданию устойчивой Y-формы Араф-1. Освободившиеся домены CARD семи мономерных молекул Араф-1 ассоциируют друг с другом формируя гептамерную структуру (> 700 кДа), названную апоптосомой [17]. Формирование этого комплекса приводит к превращению прокаспазы 9 в каспазу 9, запускающую апоптозный каскад. К центру

указанной структуры с высокой плотностью CARD доменов присоединяются своими CARD доменами молекулы прокаспазы 9. Благодаря тесному сближению этих молекул, несмотря на довольно низкую их протеолитическую активность происходит автокаталитическое активирование прокаспазы /20/. В отличие от других каспаз, процессируемая каспаза-9 в физиологических концентрациях существует как мономер в растворе и конфигурация ее каталитического центра напоминает неактивный профермент. CARD домены способствуют формированию димеров, необходимых для образования активной конформации /18/. Это как раз и происходит в центре апоптосомы, где образуется активная каспаза -9, которая в дальнейшем обеспечивает рекрутизацию и активирование эффекторных прокаспаз-3,-6 и-7. У последних отсутствуют собственные CARD домены и поэтому они не могут быть присоединены к апоптосоме в отсутствие каспазы-9.

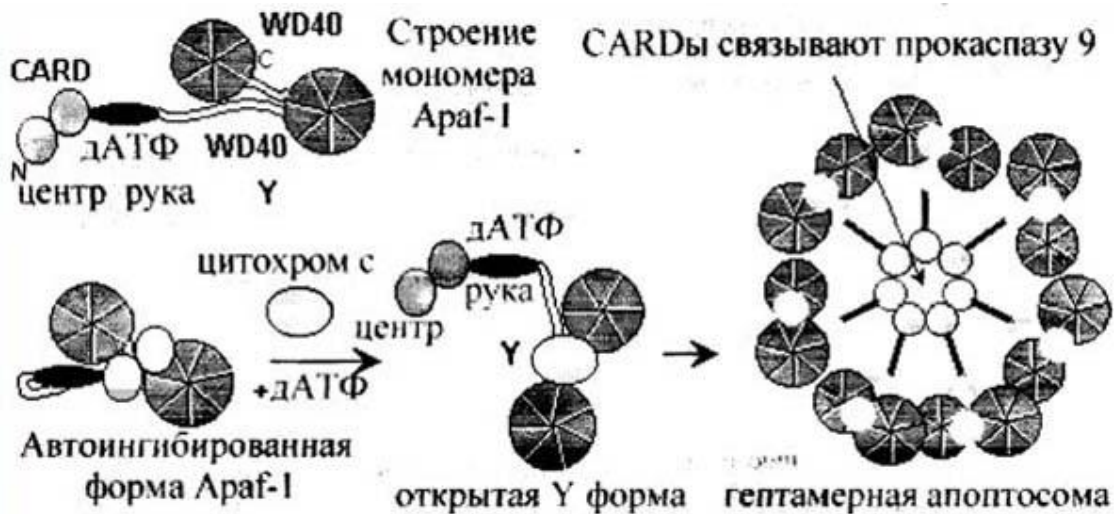


Рис.2. Сигнальные пути апоптоза.

Регуляция активирования прокаспаз и активности каспаз происходит на нескольких уровнях: регуляция транскрипции гена прокаспаз; блокада индуцируемого сближением активирования некоторых прокаспаз антиапоптотными клеточными белками (белки семейства В-клеточной лейкемии 2, Bcl-2 белки) и полипептидами; связывание и торможение активных каспаз клеточными белковыми ингибиторами апоптоза (cIAPs) /6/.

Однако, в последнее время получены доказательства того, что ингибиторы каспаз не блокируют полностью некоторые морфологические проявления апоптоза типа сморщивания клеток, изменения структуры мембран и т.д. /2/. Это дает основание утверждать, что каспазы не охватывают все аспекты апоптоза у млекопитающих. Создаются новые адекватные независимые от каспаз клеточные модели апоптоза и результаты последних исследований могут помочь объяснять эти модели.

Сигнальные пути при апоптозе

В зависимости от стимулов, инициирующих апоптоз, можно выделить два главных внутриклеточных апоптотных сигнальных каскада: митохондриальный путь и путь рецепторов смерти.

Растущее число подсемейство рецепторов смерти является частью суперсемейства рецепторов фактора некроза опухолей (TNF). Для внеклеточной части рецепторов

этого суперсемейства характерны от 2 до 5 повторов, богатых цистеинами /22/. Напротив, их цитоплазматические области имеют небольшое подобие среди различных членов семейства. Наиболее изученные рецепторы смерти приведены в табл.1. У многих рецепторов смерти (фактор некроза опухолей-рецептор 1 (TNF-R1), DR3, DR4, DR5 и CD95,) во внутриклеточной части имеются домены смерти (DD), которые существенны для передачи апоптозного сигнала после связывания с родственным лигандом /14, 21/. Большинство лигандов рецептора смерти - тип II трансмембранных белков, из которых образуются соответствующие растворимые формы под действием металлопротеаз. Правда, не было доказано все же, способны ли все эти формы к стимуляции апоптоза.

Таблица

1

Рецепторы смерти

Рецептор	Лиганд	Адаптер	Мишень
Fas/CD95/APO-1	Fas-L/APO-1L	FADD/MORT1	Прокаспаса-8, апоптоз
TNF-R1	TNF α	TRADD+FADD	Прокаспаса-8, апоптоз
TNF-R1	TNF α	TRADD+RIP1+TRAF2	MEKK, Jun/Ap1, пролиферация, IKK, NF- κ B, воспаление c-IAPs
TNF-R2/CD40	TNF α	TRAF2+TRAF1	MEKK, Jun/Ap1, пролиферация, IKK, NF- κ B, воспаление c-IAPs
DR3/APO-3	APO-3L	FADD?	Прокаспаса-8, апоптоз
DR4	TRAIL/APO-2L	FADD	Прокаспаса-8, апоптоз
DR5	TRAIL/APO-2L	FADD	Прокаспаса-8, апоптоз
DcR1	TRAIL/APO-2L	нет	Рецептор ловушка (decoy receptor), лиганд секьюстрации
DcR2	TRAIL/APO-2L	нет	Рецептор ловушка, лиганд секьюстрации
DcR3	Fas-L/APO-1L	нет	Рецептор ловушка, лиганд секьюстрации

*TRADD -белок, ассоциированный с доменом смерти рецептора фактора некроза опухолей (TNF receptor associated death domain protein);

RIP - белок, взаимодействующий с рецептором (receptor interacting protein);

TRAF - фактор ассоциированный с рецептором фактора некроза опухолей (TNF receptor associated factor);

TRAIL - лиганд, индуцирующий апоптоз с участием фактора некроза опухолей (TNF-related apoptosis inducing ligand).

Большинство, но не все, рецепторы семейства TNF обладают способностью вызывать апоптоз в клетках-мишенях. Хотя регуляция смерти клетки - важная функция рецепторов семейства TNF, некоторые из них также участвуют в формировании путей передачи сигнала, ведущие к иным эффектам /15/.

Последовательность событий после стимуляции рецептора наиболее изучена в настоящее время для CD95 - трансмембранного рецептора первого типа. Тримеризация, или более вероятно олигомеризация рецептора после связывания лиганда, приводит к формированию сигнального комплекса, вызывающего смерть. С олигомерным рецептором связывается Fas-адапторный белок FADD (Fas-associated protein with death domain) при помощи одинаковых по структуре доменов

смерти DD (death domains). На другом конце FADD находится участок, названный эффекторный домен смерти DED (death effector domains), который связывает аналогичный домен каспазы 8 и активирует ее. Каспаза 8 затем активирует каскад каспаз, которые разрушают множество клеточных субстратов, вызывая апоптозную смерть клетки. Этот механизм используется среди клеток иммунной системы, чтобы уничтожить исполнившие свою роль лимфоциты и, тем самым, погасить иммунную реакцию.

Интересно, что у некоторых опухолевых клеток активность каспазы 8 может быть ингибирована специальным белком FLIP (FLICE inhibitory protein), который способен узнавать и связываться с сигнальным комплексом, образованным при участии CD95 и, таким образом спасти опухолевую клетку от апоптоза /10/.

Сравнение уровней членов про-и антиапоптозных семейств происходит в клетке постоянно. Клетки с большим количеством проапоптозных белков чувствительны к смерти. Клетки с избытком членов антиапоптозных семейств обычно выживают /4/. Клетки, которые одновременно получают конфликтующие сигналы о продолжении или прекращении цикла деления также переходят в апоптоз.

Несколько сообщений появилось в последнее время предполагающих, что рецепторы смерти или их регуляторы, участвуют в механизмах роста клеток и их дифференцировки /5, 19/. Среди них, рецептор фактора некроза опухолей (TNF-R1), который в дополнение к участию в путях, вызывающих апоптоз может активировать факторы транскрипции, в частности, ядерный фактор каппа В (NF-κB), который ведет к экспрессии антиапоптозных молекул. Активирование NF-κB членами семейства рецепторов TNF опосредуется белками семейства TRAF (TNF receptor-associated factor). К настоящему времени идентифицированы пять членов этого семейства, и каждый из них имеет консервативный TRAF-домен, состоящий из приблизительно 230 аминокислот. Среди членов этого семейства, TRAF2 связывается непосредственно с TNF-R2 и косвенно с TNF-R1 при участии DD доменов белка ассоциируемого с TNF-R1 - TRADD (TNF receptor-1-associated death domain) и белка, взаимодействующего с рецептором -RIP (receptor-interacting protein) /15/. В покоящейся клетке NF-κB состоит из двух субъединиц и связан в комплексе с белком-ингибитором I-κB. После активирования TRAF2 вызывает фосфорилирование I-κB и его последующий распад в протеасоме. Освободившись таким образом от своего ингибитора NF-κB перемещается в ядро, где активирует различные гены, с которыми он может специфически связываться. Это - только один белок из множества, которые регулирует решение клетки умереть или выживать на транскрипционном уровне. Некоторые из них – хорошо изученные белки, типа протеина p53 фактора транскрипции, который может как блокировать процессы деления клетки, так и запускать апоптоз. Другие ждут своего открытия.

Недавно появилось сообщение о некоторых молекулярных связях между путями выживания и сигнальными апоптозными путями /22/. Выживание требует активного ингибирования процессов апоптоза. Показано, что путь фосфоинозитид-3 киназа (PI3-K) / протеинкиназа В (PKB) поставляет антиапоптозные сигналы, так же как и внеклеточные регулируемые сигналом киназы ERK 1/2 (extracellular signal-regulated kinases), протеинкиназа С (PKC), митогенами активируемые протеинкиназы /22, 13/. Действительно, протеинкиназы и члены их семейств являются не только сигнал- и субстратспецифичными, но и связаны с определенным типом клеток. Это делает

очень трудным рассмотрение всех возможных путей и взаимодействий. Понимание механизмов взаимодействия между сигнальными путями при апоптозе может помочь воссоздать нормальный уровень программируемой клеточной смерти в патологических процессах.

Митохондрии и апоптоз

Хотя в течение долгого времени отсутствие митохондриальных изменений рассматривали как характерный признак апоптоза, митохондрии сегодня рассматриваются как ведущий палач - исполнитель запрограммированной смерти клетки. Это ключевое положение митохондрий в контроле программируемой смерти клетки связано не столько с простой утратой их функции, сколько с активным участием митохондрий в регуляции эффекторных механизмов. Широкий круг ключевых событий программируемой смерти клетки завязан на митохондриях, включая высвобождение активаторов каспаз (типа цитохрома с), изменения транспорта электронов, снижение митохондриального трансмембранного потенциала, дефицит энергоснабжения и участия белков про-и антиапоптотического семейства Bcl-2 /7/.

Впервые белок Bcl-2 был выделен при исследовании В-клеточной лимфомы, отсюда и его название. Белки семейства Bcl-2 являются самыми известными интрацеллюлярными регуляторами апоптоза и характеризуется различными гомологичными α -спиральными отрезками аминокислот, называемыми BH 1-4 - домены. Согласно их функции, члены Bcl-2 семейства разделяются на анти- и проапоптотические. Антиапоптотическая группа характеризуется наличием BH 4 домена (Bcl-2, Bcl-XL), а проапоптотическая (Bid, Bad, Bim) – BH 3 домен.

Члены Bcl-2 семейства белка регулируют митохондриальный путь в механизмах программируемой смерти клетки. Когда клетки подвергнуты действию активаторов апоптоза, проапоптотические Bcl-2 белки активируются путем посттрансляционной модификации или изменением их конформации /1/. Главным местом действия мультидоменных белков являются митохондрии, где эти белки индуцируют высвобождение проапоптотических белков, включая цитохром с, из межмембранного пространства.

Несколько конкурирующих гипотез были выдвинуты для объяснения влияния Bcl-2 белков на выход цитохрома с. Согласно одной из гипотез члены проапоптотического семейства взаимодействуют с белками внешней мембраны митохондрий и ускоряют открытие потенциалзависимого анионного канала (VDAC -voltage-dependent anion channel), в то время как антиапоптотические белки закрывают эти каналы, связываясь с ними /23/. Белок VDAC -субъединица гигантской митохондриальной поры, открытие которой вызывает деполяризацию митохондрий, разобщение окислительного фосфорилирования и набухание митохондрий /8/.

Однако утечка цитохрома с может также происходить и без изменений мембранного потенциала, предполагается наличие нескольких независимых механизмов:

- 1) Bcl-2 белки могут действовать, внедряясь, после конформационных изменений, во внешнюю митохондриальную мембрану, формируя каналы или даже большие отверстия; или могут контролировать гомеостаз митохондрий и индуцировать разрыв внешней мембраны;
- 2) Bcl белки индуцируют разрыв внутренней митохондриальной мембраны.

Напрямую с белками каспазного каскада Bcl-2 не связывается.

Промоторы апоптоза Bax и Bid – действуют прямо противоположным образом – они блокируют деятельность ингибиторов апоптоза, способствуют высвобождению цитохрома с. Так, несколько предполагаемых механизмов были предложены для высвобождения цитохрома с индуцированного белком ингибитором апоптоза Bid. В одном предполагаемом механизме, Bid, один из ключевых регулирующих компонентов апоптоза, вызывает олигомеризацию Bax и облегчает его внедрение во внешнюю митохондриальную мембрану. В другом, Bid вызывает внутримембранную олигомеризацию Bax и, возможно, формирование поры /3, 25/.

Несколько других белков с проапоптозной активностью были обнаружены в митохондриях, типа вызывающего апоптоз фактора (AIF); несколько прокаспаз, включая прокаспазы -2, -3, и -9; второй происходящий из митохондрий активатор каспазы (Smac) и прямой ингибитор апоптозного связывающего белка с низким p_i (DIABLO) /24/. Например, Smac/DIABLO белки связываются с ингибитором белков апоптоза (IAP) и устраняют его ингибирующую активность. Высвобождение таких ускоряющих смерть молекул может быть необходимо для страховки в случае если активирование каскада апоптоза является односторонним /9/.

Таким образом, белки семейства Bcl-2 могут действовать подобно контрольно-пропускным пунктам, через которые сигналы о выживании или смерти должны пройти прежде, чем судьба клетки определена.

Заключение

Хотя многие из ключевых белков, обеспечивающих процессы апоптоза, были идентифицированы, некоторые молекулярные механизмы действия или активирования этих белков не совсем ясны. Возможно, что уже в ближайшем будущем будут открыты новые факторы, системы рецепторов или другие активные соединения, которые действуя в клеточно- или тканеспецифичной манере или неспецифически, участвуют в регуляции апоптоза. Остается открытым вопрос о том, сможет ли клетка выйти из апоптоза, включенного физиологическим апоптотическим сигналом, особенно в случае, если каспазы уже были активированы. Итак, смерть клетки продолжает быть областью жизни, способной принести еще много неожиданностей.

Литература

1. Antonsson B, Martinou J-C. The Bcl-2 Protein family// Exp. Cell Res.-2000.-vol. 256.- P. 50-57.
2. Borner C, Monney L. Apoptosis without caspases: an inefficient molecular guillotine?// Exp. Cell Res.- 1999.- vol.6 (6). - P. 497-507.
3. Brustovetsky N, Dubinsky JM, Antonsson B, Jemmerson R Two pathways for tBID-induced cytochrome c release from rat brain mitochondria: BAX- versus BAX-dependence// J.Neurochem.-2003.-vol. 84.- P. 196-207.
4. Budd RC. Death receptors couple to both cell proliferation and apoptosis// J.Clin.Invest.-2002.- vol.109(4).- P. 437-442.
5. Desbarats J, Newell MK. Fas engagement accelerates liver regeneration after partial hepatectomy// Nat.Med.- 2000.- vol. 6.- P.920-923.

6. Earnshaw WC, Martins LM, Kaufmann SH. Mammalian Caspases: Structure, Activation, Substrates, and Functions during Apoptosis// *Annu.Rev.Biochem.*-1999.- vol. 68.- P.383-424.
7. Green DR, Reed JC. Mitochondria and apoptosis// *Science.*-1998.- vol. 281(5381).- P. 1309-12.
8. Gross A, McDonnell J, Korsmeyer SJ. Bcl-2 family members and the mitochondria in apoptosis// *Genes Dev.*- 1999. - vol. 13.- P.1899-1911.
9. Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis// *Nature.*-2000.-vol. 407.- P.770-776.
10. Hussein MR, Haemel AK, Wood GS. Apoptosis and melanoma: molecular mechanisms// *J.Patho.*-2003.- vol. 199.- P.275-288.
11. Jacobson MD, Weil M, Raff MC. Programmed Cell Death in Animal Development// *Cell.* 1997.- vol. 88.- P. 347-354.
12. Krammer PH. CD95 (APO-1/FAS)-mediated apoptosis: live and let die// *Adv. Immunol.* 1999. - vol. 71.- P.163-210.
13. Lin A. Activation of the JNK signaling pathway: breaking the brake on apoptosis// *BioEssays.*- 2002.- vol. 25.- P.17-24.
14. Magnusson C, Vaux DL. Signaling by CD95 and TNF receptors: not only life and death. *Immunol//Cell.Biol.*-1999. - vol. 77(1).- P. 41-6.
15. Nagata S. Apoptosis by Death Factor// *Cell.*- 1997.- vol. 88.- P. 355-365.
16. Nagata S. Apoptotic DNA Fragmentation// *Exp. Cell Res.*-2000. - vol. 256. -P.12-18.
17. Rodriguez J, Lazebnik Y. Caspase 9 and APAF-1 form an active holoenzyme// *Genes Dev.*-1999.- vol. 13(24).- P. 3179-3184.
18. Sakahira H, Enari M, Nadata S. Cleavage of CAD inhibitor in CAD activation and DNA degradation during apoptosis.//*Nature.*- 1998.- vol. 391.- P.96-99.
19. Sakata K, Sakata A, Vela-Roch N, Espinosa R, Escalante A, Kong L, Nakabayashi T, Cheng J, Talal N, Dang H. Fas (CD95)-transduced signal preferentially stimulates lupus peripheral T lymphocytes// *Eur.J.Immunol.*- 1998.-vol. 28(9).- P. 2648-2660.
20. Salvesen GS, Dixit VM. Caspase activation: The induced-proximity model// *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.* -1999.- vol. 96.- P. 10964-10967.
21. Sartorius U, Schmitz I, Krammer PH Molecular Mechanisms of Death-Receptor-Mediated Apoptosis//*Chembiochem.*-2001.- vol. 2.- P.20-29
22. Schmitz I, Kirchhoff S, Krammer PH. Regulation of death receptor-mediated apoptosis pathways// *Intern.J.Biochem. Cell Biol.*-2000.- vol. 32.- P. 1123-1136.
23. Shimizu S, Narita M, Tsujimoto Y, Tsujimoto Y. Bcl-2 family proteins regulate the release of apoptogenic cytochrome c by the mitochondrial channel// *VDAC.* -1999.- vol. 399.- P.483-487.
24. Verhagen AM, Ekert PG, Pakusch M, Silke J, Connolly LM, Reid GE, Moritz RL, Simpson RJ, Vaux DL. Identification of DIABLO, a mammalian protein that promotes apoptosis by binding to and antagonizing IAP proteins//*Cell.*-2000.- vol. 102(1).- P. 43-53.
25. Wei MC, Lindsten T, Mootha VK, Weiler S, Gross A, Ashiya M, Thompson CB, Korsmeyer SJ. TBID, a membrane-targeted death ligand, oligomerizes BAK to release cytochrome c// *Gen.Dev.* -2000.- vol. 14.- P.2060-2071.