

УДК 576. 32/36.577.4

## ЗАКОНОМЕРНОСТИ РЕГУЛИРОВАНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО АПОПТОЗА НЕЙТРОФИЛОВ

Тяжелова В.Г.

*Институт биофизики клетки РАН, Пушchino, e-mail: vgtiazh@itaec.ru*

Нейтрофилы играют важную роль в развитии различных воспалительных заболеваний, включая сепсис, сердечно-сосудистые и другие заболевания. При этих патологиях происходит ингибирование апоптоза этих клеток. В регуляции апоптоза нейтрофилов участвуют различные мембранные рецепторы (Fas, TNF- $\alpha$ , TRAIL), внутриклеточные каспазо-зависимые и независимые пути, а также митохондрии. В механизмах регуляции митохондриального апоптоза важная роль принадлежит различным семействам внутриклеточных белков (в том числе и BCL-2), которые регулируют баланс между ускорением апоптоза нейтрофилов и его ингибированием. В статье рассмотрено участие различных изоформ антиапоптотических и проапоптотических белков семейства BCL-2 в механизмах регуляции апоптоза нейтрофилов. Показано, как белки PUMA и NOXA взаимодействуют с белками семейства BCL-2 нейтрофилов при инициации апоптоза в этих клетках.

**Ключевые слова:** апоптоз, нейтрофилы, митохондрии, BCL-2

## LAWS OF REGULATION OF THE MITOCHONDRIAL APOPTOTIC NEUTROPHILS

Tyazhelova V.G.

*Institute of Cell Biophysics of RAS, Pushchino, e-mail: vgtiazh@itaec.ru*

Neutrophils play an important role in development of various inflammatory diseases, including sepsis, cardiovascular and other diseases. In these pathologies the apoptosis of these cells is inhibited. In the regulation of neutrophil apoptosis participate various membrane receptors (Fas, TNF- $\alpha$ , TRAIL), intracellular caspase-dependent and independent pathways, and mitochondria. In the mechanisms of regulation of mitochondrial apoptosis important role is played by the various families of intracellular proteins (including BCL-2) which regulate the balance between acceleration of neutrophil apoptosis and inhibition. The paper considers the involvement of different isoforms of antiapoptotic and proapoptotic protein BCL-2 family in the mechanisms of regulation of neutrophil apoptosis. Shown as proteins NOXA and PUMA interact with proteins of BCL-2 family of neutrophils in the initiation of apoptosis in these cells.

**Keywords:** apoptosis, neutrophils, mitochondria, BCL-2

В норме нейтрофилы в сосудистом русле существуют около 0,5–2 сут, затем стареют и подвергаются спонтанному (или конститутивному) апоптозу, который регулируется механизмом, заложенным в самих нейтрофилах [2]. Первым этапом изменений является расщепление находящейся в цитозоле молекулы Bid каспазой 3, обусловленное каспазой 2, а также гранзимами, кальпаином и катепсином. Расщепленные молекулы tBid перемещаются к митохондриям, где гетеродимеризуются с молекулами Bax. Комплекс tBid-Bax изменяет на внешней мембране митохондрий (ВММ) потенциал VDAC (voltage-dependent anion channel), что способствует образованию в ней пор (каналов) [25]. Диаметр неактивированной поры VDAC составляет 2,6–3 нм, что не позволяет выходить в цитозоль совокупности про- и антиапоптотических белков, располагающихся в межмембранном пространстве митохондрии. После встраивания во внешнюю мембрану митохондрии (МХ) комплекса tBid-Bax и использования липидной подложки происходит расширение пор МХ, через которые из межмембранного пространства МХ выходит ряд таких проапоптотических веществ, как AIF, эндонуклеаза G, Smac/Diablo, цитохром C, молекулы Bad, Omi/HtrA2, Smac/Diablo [1], а также анти-

апоптотические белки – Bcl-2 (21 кД), Bcl-xL (29 кД), Mcl-1 (37–44 кД), Bfl-1/A1 (20 кД). Антиапоптотические белки являются антиоксидантами и блокируют образование пор в мембране МХ. Они способны поддерживать целостность МХ напрямую, ингибируя инициаторные каспазы [1], которые модифицируют активность клеточных белков (полимераз, 2 эндонуклеаз), а также компонент ядерной мембраны, ответственных за фрагментацию ДНК в апоптотических клетках.

Белки Bcl-xL и Bcl-2 содержат 4 ВН-домена, а также loop- и трансмембранный (ТМ) домены, в результате образуется последовательность: N – ВН4 – loop – ВН3 – ВН1 – ВН2 – ТМ – COOH. Через домен ВН4 происходит связывание и ингибирование прокаспазы 9, а домен ВН3 используется при олигомеризации молекул. Свойства доменов ВН1 и ВН2 исследованы слабо. Домен loop у белков Bcl-2 и Bcl-xL различается в основном значением РI – изоэлектрической точки. Показано, что каспазное расщепление по домену loop превращает антиапоптотические белки Bcl-2 и Bcl-xL в Bax-подобные проапоптотические [28]. После миграции к МХ мембране функциональная активность белка Bcl-xL наблюдается только в комплексе с tBid. Показано, что белок Bcl-2 почти полностью отсутствует в зре-

лых клетках. Его потеря приводит к увеличению экспрессии генов каспаз 1 и 3 [4]. Белок Mcl-1 (myeloid cell leukemia-1) находится во многих тканях организма млекопитающих. Он необходим как для эмбрионального развития, так и для функционирования иммунной системы, и является одним из основных антиапоптозных белков в нейтрофилах, что способствует выживанию клетки на ранней стадии апоптоза. Белок Mcl-1 характерен коротким временем жизни и быстро расщепляется каспазами во время апоптоза [Michels 24]. Этот белок имеет три домена BHs ( $s = 1, 2, 3$ ), располагается на мембранах МХ и клеточного ядра, но при низком содержании МХ – преимущественно на ядерной мембране. Регулирование уровня содержания этого белка на мембране МХ происходит за счёт комплексов с трёхдоменными проапоптозными белками [39], на ядерной мембране – через протеасомы [12]. Показано, что усиление протеасомного расщепления определяется посттранскрипционным действием цитокинов и изменением локальной концентрации кислорода. Характерной особенностью белка Mcl-1 является малое время жизни, составляющее 2–3 ч, действие его проявляется только на ранней стадии апоптозных событий, а именно при выходе из митохондрий цитохрома *c*; во время апоптоза он быстро расщепляется [22].

Убиквитинизация белка Mcl-1 способствует белок, называемый Mule, который обеспечивает полиубиквитинизацию Mcl-1 по пяти лизинам. Взаимодействие белков Mcl-1 с Mule происходит через регион, схожий с BH3-доменом белков Bcl-2-семейства. Удаление Mule приводило к ослаблению апоптоза, вызываемого применением ДНК-повреждающих агентов [39], применение стауроспорина (ингибитора протеинкиназ) уменьшало уровень мРНК белка Mcl-1, применение оокаидной кислоты (фосфатазного ингибитора) существенно усиливало обращение белка Mcl-1 и его апоптоз, применение кальпаина не изменяло стабильности его уровня [16].

Белок Bfl-1/A1 – менее мощный антиапоптозный фактор, чем Mcl-1, он действует, ингибируя связь между молекулами Вах или Вак и молекулой tBid [20].

Этот белок имеет только два BH-домена – BH1 и BH2, гомологичных таким же доменам белка Bcl-xL, и присутствует преимущественно в клетках системы крови и эндотелии. Наличие Bfl-1/A1 удлиняет время жизни нейтрофилов. Особо отмечается роль этого фактора в защите от р53-обусловленного апоптоза [11].

### Белки, способствующие апоптозу

К проапоптозным белкам относятся следующие белки: Вах (24,2 кД), Вак (23,4 кД), Вок, Вад (18,4 кД), Вик (18 кД), Вид (26,8 кД), Вим (22,17 кД), Рума (20,5 кД), Ноха (6 кД), Вmf (21,5 кД), содержащие различное количество доменов BH (Bcl-2 homology), что определяет различие их функций. Эту группу белков подразделяют на мульти- и однодоменные. К мультидоменной группе относятся белки Вах, Вак и Вок, имеющих три BH<sub>*i*</sub>-домена ( $i = 1-3$ ). Белки Вах и Вак являются основными компонентами комплекса, приводящего к образованию пор в митохондриях. В физиологических условиях мультидоменный белок Вах находится в цитозоле, но при апоптозных стимулах перемещается к МХ. Показано, что к функциональной активности этого белка приводит прямое связывание с BH3-доменом модификации белка Bid (tBid), происходящее на поверхности МХ [35]. На ней же также активизируются и олигомеризируются проапоптозные белки Вах и Вак [Arniult? 3]. Также способствует апоптозу сравнительно недавно открытый белок Вок/Mtd (Bcl-2-related ovarian killer/Matador). Количество этих молекул незначительно в покоящихся клетках и увеличивается при появлении проапоптозных стимулов. Показано ингибирование апоптоза при гетеродимеризации проапоптозных белков Вах и Вак с антиапоптозными белками Bcl-2 и Bcl-xL, а белка Вок – с белком Mcl-1.

К группе проапоптозных белков, имеющих в своей структуре только один модуль BH3 (BH3-only) относятся: Bid, Vim, Vad, Вик, Нrk, Вlk, Рума, Ноха, Вmf. Специфика механизмов их действия определяется различиями по аминокислотным последовательностям.

**Bid.** При рецептор-зависимом апоптозе каспаза 8 расщепляет молекулу Bid на два фрагмента 6,5 кД (N-конец) и 15 кД, содержащий BH3 домен (tBid), который образует комплекс с трёхдоменными Вак или Вах, что способствует формированию пор МХ [4, 29]. Показано, что домен tBid способствует разрушению целостности клетки, воздействуя через кардиолипид МХ мембраны [32]. Однако известно образование комплекса tBid и с антиапоптозными белками – Bcl-2 или Bcl-xL, а также их взаимодействие с митохондриальными липидами, к числу которых относится лизофосфатидилхолин (LPC1). tBid связывается с Bcl-xL более сильно, чем Bid полной длины [13]. Получившийся комплекс влияет на проницаемость внешней мембраны МХ.

В динамике взаимодействия между Bid и Вах во время TNF $\alpha$ -апоптоза установле-

но различное его течение в разных клетках. В ASTCa1-клетках Bid полной длины индуцировал транслокацию Вах к МХ после непосредственного с ним взаимодействия. Расщепления белка Bid в ASTCa1- и HeLa-клетках не происходило даже при условии активации каспазы 8, а в MCF7-клетках – наблюдалось. В ASTCa1-клетках активация каспазы 3 была бифазна, и Bid был расщеплён только после вторичной активации каспазы 3. Поэтому считают, что нерасщеплённый Bid непосредственно регулирует активацию Вах в ASTCa1-клетках. Bid расщепляется при апоптозе, активированном ROS [7].

На примере белков семейства Bcl-2 выявлены некоторые различия в функциях различных однодоменных белков. Если белок Bid является как бы сенсором, подводящим сигнал к мультидоменным проапоптотным белкам Вах и Вак, то индуцируется олигомеризация названных молекул, в этом случае белки Vim, Vad и Vik, способствуют апоптозу, ингибируя антиапоптотные белки.

**Vad.** Выявлено, что проапоптотная функция белка Vad усиливается при дефосфорилировании и ослабляется под действием факторов роста, приводящих к фосфорилированию по серинам 112 и 136 через PI3k/Akt-сигнальный путь. Дефицит факторов роста воспринимается клеткой как сигнал к апоптозу. Будучи фосфорилированным, белок Vad теряет апоптогенные свойства, связываясь сильно с Bcl-xL и с Bcl-2 и Bcl-w. Также выявлено, что имеет место слабая связь с A1 и полное её отсутствие с Mcl-1, а также отсутствие связи с Bcl-2 и Bcl-w [9]. При дефосфорилировании происходит ослабление связывания белка Vad с Bcl-xL, что способствует транслокации комплекса с поверхности митохондрии в цитозоль [14].

Найдены три изоформы белка **Vim**: VimS (short) (112 аминокислот (ак)), 12,3 килodalтон (кД), VimL (long) (193 ак, 15,8 кД), VimEL (extra long) (198 ак, 22 кД). Короткая форма (VimS) мощно индуцирует апоптоз и нормально, но только преходяще экспрессируется в клетках при апоптозе. Длинные изоформы (VimL, VimEL) экспрессируются в нормальных клетках, их апоптотная активность угнетается связыванием с dynein motor-комплексом. В формах VimL и VimEL присутствует короткий пептидный мотив (DKSTQTP), отсутствующий в VimS. Этот мотив определяет связывание Vim с DLC1, его отсутствие в VimS относят на счёт очень высокой апоптотной активности этой изоформы. При апоптозе, обусловленном действием фактора TNF $\alpha$ , не наблюдали коиммунопреципитации Вах с VimL, это позволило предположить, что

VimL и сам перемещается к митохондрии и способствует перемещению Вах во время TNF $\alpha$ -апоптоза. Было отмечено увеличенное взаимодействие между Bcl-xL и VimL и слабое – между Bcl-xL и Вах [37]. Показано, что белок VimL может активировать проапоптотный Вах, который определяет митохондриальный путь апоптоза.

Близок к белку Vim по функциям белок Vmf, в котором содержится мотив (DKATQTLSP), связывающий DLC2-компоненту myosin V motor-комплекса. При нормальных условиях VH3-only белки Vim и Vmf секвестрируются во взаимодействующих с цитоскелетом motor-комплексах, из которых они выходят при апоптотных стимулах, механизм их выхода ещё не выяснен.

Белки **Noxa** и **Puma** нейтрализуют Mcl-1 и Bcl-xL и способствуют перемещению к митохондриям белков Вак и Vim [23]. Белок Vik, принадлежащий этому же семейству, противостоит антиапоптотным Mcl-1 и Bcl-xL и активирует Вак-обусловленный апоптоз в ответ на ингибирование синтеза белков [29].

Установлены следующие данные о специфике действия однодоменных проапоптотных белков. При апоптозе, обусловленном ингибированием синтеза белка, Vik (но не Vim, Puma или Noxa) противостоит антиапоптотным белкам Mcl-1 и Bcl-xL и активирует Вак-обусловленный апоптоз, а связывание Вак с Mcl-1 продолжается после экспрессии Vik и ингибирует Вик-индуцируемый апоптоз в Вах-дефицитных клетках. Напротив, белок Puma разрушает Mcl-1-Вак взаимодействие и запускает апоптоз через Вах и Вак. Показано, что при апоптозе нейронов, инициированном оксидативным стрессом, участвуют белки Vim, Puma, и Noxa, а в регулировании Вах-активации доминантную роль играет белок Puma. После ассоциации с Puma белок Вах приобретает способность проникать сквозь внешнюю митохондриальную мембрану [28].

Белки Noxa и Puma функционируют при p53-апоптозе. Noxa, Puma и VimL могут связывать антиапоптотный Bcl-xL, они нейтрализуют белки Mcl-1 и Bcl-xL и способствуют перемещению к митохондриям белков Вак и Vim. При эктопической экспрессии белка Noxa его локализация с митохондрией (также при взаимодействии с антиапоптотными членами Bcl-2 семейства) происходит через VH3 мотив Noxa. Показано, что блокирование эндогенной индукции Noxa приводит к угнетению апоптоза [15]. Известно, что белки VH3-only связываются с антиапоптотным Mcl-1 через амфипатические альфа-геликсы в гидрофобной канавке. При сравнении термодинамических па-

раметров этого связывания, определяемых калориметрическими методами, показано, что белки Noxa и Puma связывают с афинностью на 3 порядка выше белок Mcl-1, чем белки Bmf, Vim, Bid, Bak. Причём показано, что белок Noxa единолично связывает только Mcl-1 и A1 [38]. Белок Puma играет доминантную роль в регулировании Вах-активации, причём индукция этого белка, но не Vim или Noxa необходима и достаточна для индуцирования конформационных изменений в белке Вах при придании ему активного состояния и способности проникновения через мембрану. Интересны следующие данные. Белки и Puma и Vim могут связывать антиапоптозный Bcl-xL, но с Вах оказался способным связываться только белок Puma. Такое различие предполагает, что Puma может играть доминантную роль в комплексовании с Вах.

На примере белков семейства Bcl-2 выявлены некоторые различия в функциях различных однодоменных белков. Если белок Bid является как бы сенсором, подводящим сигнал к мультидоменным проапоптозным белкам Вах и Bak, то индуцируется олигомеризация названных молекул, в этом случае белки Vim, Bad и Bik способствуют апоптозу, ингибируя антиапоптозные белки.

#### **Взаимодействия про- и антиапоптозных белков при инициации апоптоза**

При нормальных условиях однодоменный белок Bak связывается с Mcl-1 и Bcl-xL, но не с Bcl-2, A1. Эта связь осуществляется через ВНЗ-домен белка Bak. Активированные белком Bak ВНЗ-only белки (Noxa или Bad), ассоциируясь с Mcl-1 или Bcl-xL, перемещаются к митохондриям и индуцируют апоптоз. Выяснено, что наличие ВНЗ-only белка запирает ВНЗ-домен в гидрофобной канавке антиапоптозной мишени (Bcl-2, Bcl-x<sub>L</sub>, Mcl-1, and A1) [8]. Белки Vim и Puma запирают все антиапоптозные белки, Bad – только Bcl-2, Bcl-x<sub>L</sub>, Bcl-w, а Noxa – преимущественно Mcl-1 и A1 [20]. Известны случаи индуцирования апоптоза белком Bak в отсутствие связывания с Mcl-1 или Bcl-xL [27].

В результате взаимодействия с другими про- и антиапоптозными белками у ВНЗ-only белков выявляется ряд новых свойств, чему способствует наличие белка tBid. За счёт этого после миграции к митохондриальной мембране функциональная активность белка Вах наблюдается только в комплексе с tBid. Другой особенностью является то, что 5,5 деградация белка Mcl-1 стабилизируется при ассоциации с Vim, но усиливается при ассоциации с Noxa. Mcl-1 содержит один специфический анти-

апоптозный Bcl-2-подобный регион BLR (50 ак) и другой такой же, как и во всех членах Bcl-2 семейства, который располагается в N-терминальном домене и содержит около 170 аминокислот [8]. Показано, что связывание Mcl-1 с ВНЗ-доменом белка VimS (или Noxa), приводит к потере у Mcl-1 последовательности, необходимой для его протеасомной деградации. Причём, хотя VimS и усиливает killing-способность нейтрофилов, но его сверхэкспрессия (как и белка Puma) не проявляется в киллинге Mcl-1 [8, 24]. Установлено также, что гетеродимеризация проапоптозного белка Bok с Mcl-1 или Bfl-1/A1 ингибирует апоптоз, а белок Bfl-1 взаимодействует с Bak и tBid, но не с Вах или Bid. Bfl-1 блокирует TNFα-индуцируемую активацию Вах через ассоциацию с tBid. Bfl-1 использует различные механизмы угнетения апоптоза в зависимости от стимула. Этот белок ассоциируется с tBid, препятствуя активации проапоптозных Вах и Bak, и также прямо взаимодействует с Bak при ингибировании Bak-обусловленного апоптоза подобно Mcl-1 [35]. Показано, что такой физиологический стимул, как увеличение содержания кальция специфически индуцирует эндогенный Vim, ведет к Vim-зависимой клеточной гибели без элиминации Mcl-1 [5].

#### **Список литературы**

1. Маянский Н. Субклеточное распределение Вах и его слияние с митохондриями при спонтанном апоптозе нейтрофилов // Иммунология. – 2001. – № 6. – С. 29–32.
2. Маянский Н.А., Блинк Э., Роос Д., Кайперс Е. // Цитокины и воспаление. – 2004. – № 2. – С. 47–51.
3. Тяжелова В.Г. Роль взаимодействия доменов сигнальных молекул в инициации апоптоза // Известия РАН. – 2007. – № 2. – С. 133–144.
4. Akgul C., Edwards S.W. Regulation of neutrophil apoptosis via death receptors // Cell. Mol. Life Sci. – 2003. – Vol. 60. – P. 2402–2408.
5. Arnoult D., Gaume B., Karbowski M., Sharpe J.C., Cecconi F., Youle R.J. // EMBO J. – 2003. – Vol. 22. – P. 4385–4399.
6. Blink E., Maianski N. A., Alnemri E. S. Intramitochondrial serine protease activity of Omi/HtrA2 is required for caspase-independent cell death of human neutrophils // Cell Death and Differ. – 2004. – Vol. 11. – P. 937–939.
7. Blomgran R., Zheng L., Stendahl O. J. Cathepsin-cleaved Bid promotes apoptosis in human neutrophils via oxidative stress-induced lysosomal membrane permeabilization // Leukoc. Biol. – 2007. – Vol. 81. – P. 1213–1223.
8. Canté-Barrett K., Gallo E.M., Winslow M.M., Crabtree G.R. // J. Immunol. – 2006. – Vol. 176. – P. 2299–2306.
9. Chen L., Willis S.N., Wei A., Smith B.J., Fletcher J.L., Hinds M.G., Colman P.M., Day C.L., Adams J.M., Huang D.C. // Mol Cell. – 2005. – Vol. 17. – P. 393–403.
10. Cheung H.H., Plenchette S., Kern C.J., Mahoney D.J., Korneluk R.G. // Mol Biol Cell. – 2008. – Vol. 19. – P. 2729–2740.
11. Cohen G.M., Ma L., Huang Y. Livin promotes Smac/DIABLO degradation by ubiquitin-proteasome pathway // Cell Death Differ. – 2006. – Vol. 13. – P. 2079–2088.

12. Cross F., Moots R.J., Edwards S.W. The dual effects of TNF $\alpha$  apoptosis are mediated via differential effects on expression of Mcl-1 and Bfl-1 // *Blood* – 2008. – Vol. 111. – P. 878–884.
13. Czabotar P.E., Lee E.F., van Delft M.F., Day C.L., Smith B.J., Huang D.C., Fairlie W.D., Hinds M.G., Colman P.M. // *Proc. Natl. Acad. Sci U S A.* – 2007. – Vol. 104. – P. 6217–6222.
14. Datta S.R., Katsov A., Hu L., Petros A., Fesik S.W., Yaffe M.B., Greenberg M.E. // *Mol. Cell.* – 2000. – Vol. 6. – P. 41–51.
15. Day C.L., Smits C., Fan F.C., Lee E.F., Fairlie W.D., Hinds M.G. // *J. Mol. Biol.* – 2008. – Vol. 380. – P. 958–971.
16. Derouet M., Thomas L., Cross A., Moots R.J., Edwards S.W. // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279. – P. 26915–26921.
17. Eckelman B.P., Salvesen G.S. The human anti-apoptotic proteins cIAP1 and cIAP2 bind but do not inhibit caspases // *J. Biol. Chem.* – 2006. – Vol. 281. – P. 3254–3260.
18. Hunter A.M., LaCasse E.C., Korneluk R.G. The inhibitors of apoptosis (IAPs) as cancer targets // *Apoptosis.* – 2007. – Vol. 12. – P. 1543–1568.
19. Kroemer G., Galluzzi L., Brenner C. Mitochondrial membrane permeability in cell death // *Physiol. Rev.* – 2007. – Vol. 87. – P. 99–163.
20. Lee E.F., Czabotar P.E., van Delft M.F., Michalak E.M., Boyle M.J., Willis S.N., Puthalakath H., Bouillet P., Colman P.M., Huang D.C., Fairlie W.D. // *J. Cell Biol.* – 2008. – Vol. 180. – P. 341–355.
21. Mei F.S., Cheng X. Interplay between exchange protein directly activated by cAMP and microtubule cytoskeleton // *Mol. Biosyst.* – 2005. – Vol. 1. – P. 325–331.
22. Michels J., Johnson P.W., Packham G. Mcl-1 // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* – 2005. – Vol. 37. – P. 267–271.
23. Morales A.A., Gutman D., Lee K.P., Boise L.H. BH3-only proteins Noxa, Bmf and Bim are necessary for arsenic trioxide-induced cell death in myeloma // *Blood.* – 2008. – Vol. 111. – P. 5152–5162.
24. Oh K.J., Barbuto S., Meyer N., Kim R.S., Collier R.J., Korsmeyer S.J. // *J. Biol. Chem.* – 2005. – Vol. 280. – P. 753–767.
25. Pei Y., Xing D., Gao X., Liu L., Chen T. // *Apoptosis.* – 2007. – Vol. 12. – P. 1681–1690.
26. Shimazu T., Degenhardt K., Nur-E-Kamal A., Zhang J., Yoshida T., Zhang Y., Mathew R., White E., Inouye M. // *Genes Dev.* – 2007. – Vol. 21. – P. 929–941.
27. Fan G., Simmons M.J., Ge S., Dutta-Simmons J., Kucharczak J., Ron Y., Weissmann D., Chen C.C., Mukherjee C., White E., Gélina C. // *Oncogene.* – 2008. – Vol. 27. – P. 1421–1428.
28. Srinivasula S.M., Ashwell J.D. IAPs: what's in a name? // *Mol. Cell.* – 2008. – Vol. 30. – P. 123–135.
29. Steckley D., Karajgikar M., Dale L.B., Fuerth B., Swan P., Drummond-Main C., Poulter M.O., Ferguson S.S., Strasser A., Cregan S.P. // *J. Neurosci.* – 2007. – Vol. 27. – P. 12989–12999.
30. Sun Y. E3 ubiquitin ligases as cancer targets and biomarkers // *Neoplasia.* – 2006. – Vol. 8. – P. 645–654.
31. Terradillos O., Montessuit S., Huang D.C., Martinou J.C. // *FEBS Lett.* – 2002. – Vol. 522. – P. 29–34.
32. Terrones O., Etxebarria A., Landajuela A., Landeta O., Antonsson B., Basañez G. // *J. Biol. Chem.* – 2008. – Vol. 283. – P. 7790–7803.
33. Yamaguchi R., Lartigue L., Perkins G., Scott R.T., Dixit A., Kushnareva Y., Kuwana T., Ellisman M.H., Newmeyer D.D. // *Mol. Cell.* – 2008. – Vol. 31. – P. 557–569.
34. Verhagen A.M., Kratina T.K., Hawkins C.J., Silke J., Ekert P.G., Vaux D.L. // *Death Differ.* – 2007. – Vol. 14. – P. 348–357.
35. Walensky L.D., Pitter K., Morash J., Oh K.J., Barbuto S., Fisher J., Smith E., Verdine G.L., Korsmeyer S.J. // *Cell Death Differ.* – 2006. – Vol. 13. – P. 1339–1350.
36. Willis S.N. Proapoptotic Bax is sequestered by Mcl-1 and Bcl-xL, but not displaced by BH3 only proteins // *Genes Dev.* – 2005. – Vol. 19. – P. 1294–1305.
37. Zhang H., Cowan-Jacob S.W., Simonen M., Greenhalf W., Heim J., Meyhack B. // *J. Biol. Chem.* – 2000. – Vol. 275 (15) – P. 11092–11097.
38. Zhong Q. // Mule/ARE-BP1, a BH3-only E3 ubiquitin ligase, catalyzes the polyubiquitination of Mcl-1 and regulates apoptosis. *Cell.* – 2005. – Vol. 121. – P. 1085–1095.
39. Zhou M., Liu Y., Payne G. Growth factors inactivate the cell death promoter BAD by phosphorylation of its BH3 domain on Ser155 // *J. Biol. Chem.* – 2000. – Vol. 275. – P. 25046–25051.

## References

- Mayanskii N. Subkletochnoe raspredelenie Bax i ego slivanie s mitohondriyami pri spontannom apoptoze neutrofilov. // *Immunologiya.* 2001. 6. pp. 29–32.
- Mayanskii N.A., Blink E., Roos D., Kaipers E. // *Citokiny i vospalenie.* 2004. 2. pp. 47–51.
- Tyazhelova V.G. Rol' vzaimodeistviya domenov signal'nyh molekul v iniciacii apoptoza. // *Izvestiya Rossiiskoi Akademii Nauk -Seriya Biologicheskaya.* 2007. 2. pp. 133–144.
- Akgul C., Edwards S.W. Regulation of neutrophil apoptosis via death receptors // *Cell. Mol. Life Sci.* 2003. Vol. 60. pp. 2402–2408.
- Arnould D., Gaume B., Karbowski M., Sharpe J.C., Cecconi F., Youle R.J. // *EMBO J.* 2003. Vol. 22. pp. 4385–4399.
- Blink E., Maiani N. A., Alnemri E. S. Intramitochondrial serine protease activity of Omi/HtrA2 is required for caspase-independent cell death of human neutrophils // *Cell Death and Differ.* 2004. Vol. 11. pp. 937–939.
- Blomgran R., Zheng L., Stendahl O. J. Cathepsin-cleaved Bid promotes apoptosis in human neutrophils via oxidative stress-induced lysosomal membrane permeabilization // *Leukoc. Biol.* 2007. Vol. 81. pp. 1213–1223.
- Canté-Barrett K., Gallo E.M., Winslow M.M., Crabtree G.R. // *J. Immunol.* 2006. Vol. 176. pp. 2299–2306.
- Chen L., Willis S.N., Wei A., Smith B.J., Fletcher J.I., Hinds M.G., Colman P.M., Day C.L., Adams J.M., Huang D.C. // *Mol Cell.* 2005. Vol. 17. pp. 393–403.
- Cheung H.H., Plenchette S., Kern C.J., Mahoney D.J., Korneluk R.G. // *Mol Biol Cell.* 2008. Vol. 19. pp. 2729–2740.
- Cohen G.M., Ma L., Huang Y. Livin promotes Smac/DIABLO degradation by ubiquitin-proteasome pathway // *Cell Death Differ.* 2006. Vol. 13. pp. 2079–2088.
- Cross F., Moots R.J., Edwards S.W. The dual effects of TNF $\alpha$  apoptosis are mediated via differential effects on expression of Mcl-1 and Bfl-1 // *Blood* 2008. Vol. 111. pp. 878–884.
- Czabotar P.E., Lee E.F., van Delft M.F., Day C.L., Smith B.J., Huang D.C., Fairlie W.D., Hinds M.G., Colman P.M. // *Proc. Natl. Acad. Sci U S A.* 2007. Vol. 104. pp. 6217–6222.
- Datta S.R., Katsov A., Hu L., Petros A., Fesik S.W., Yaffe M.B., Greenberg M.E. // *Mol. Cell.* 2000. Vol. 6. pp. 41–51.
- Day C.L., Smits C., Fan F.C., Lee E.F., Fairlie W.D., Hinds M.G. // *J. Mol. Biol.* 2008. Vol. 380. pp. 958–971.
- Derouet M., Thomas L., Cross A., Moots R.J., Edwards S.W. // *J. Biol. Chem.* 2004. Vol. 279. pp. 26915–26921.
- Eckelman B.P., Salvesen G.S. The human anti-apoptotic proteins cIAP1 and cIAP2 bind but do not inhibit caspases // *J. Biol. Chem.* 2006. Vol. 281. pp. 3254–3260.
- Hunter A.M., LaCasse E.C., Korneluk R.G. The inhibitors of apoptosis (IAPs) as cancer targets // *Apoptosis.* 2007. Vol. 12. pp. 1543–1568.
- Kroemer G., Galluzzi L., Brenner C. Mitochondrial membrane permeability in cell death // *Physiol. Rev.* 2007. Vol. 87. pp. 99–163.

20. Lee E.F., Czabotar P.E., van Delft M.F., Michalak E.M., Boyle M.J., Willis S.N., Puthalakath H., Bouillet P., Colman P.M., Huang D.C., Fairlie W.D. // *J. Cell Biol.* 2008. Vol. 180. pp. 341–355.
21. Mei F.S., Cheng X. Interplay between exchange protein directly activated by cAMP and microtubule cytoskeleton // *Mol. Biosyst.* 2005. Vol. 1. pp. 325–331.
22. Michels J., Johnson P.W., Packham G. Mcl-1 // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2005. Vol. 37. pp. 267–271.
23. Morales A.A., Gutman D., Lee K.P., Boise L.H. BH3-only proteins Noxa, Bmf and Bim are necessary for arsenic trioxide-induced cell death in myeloma // *Blood.* 2008. Vol. 111. pp. 5152–5162.
24. Oh K.J., Barbuto S., Meyer N., Kim R.S., Collier R.J., Korsmeyer S.J. // *J. Biol. Chem.* 2005. Vol. 280. pp. 753–767.
25. Pei Y., Xing D., Gao X., Liu L., Chen T. // *Apoptosis.* 2007. Vol. 12. pp. 1681–1690.
26. Shimazu T., Degenhardt K., Nur-E-Kamal A., Zhang J., Yoshida T., Zhang Y., Mathew R., White E., Inouye M. // *Genes Dev.* 2007. Vol. 21. pp. 929–941.
27. Fan G., Simmons M.J., Ge S., Dutta-Simmons J., Kucharczak J., Ron Y., Weissmann D., Chen C.C., Mukherjee C., White E., Gélinas C. // *Oncogene.* 2008. Vol. 27. pp. 1421–1428.
28. Srinivasula S.M., Ashwell J.D. IAPs: what's in a name? // *Mol. Cell.* 2008. Vol. 30 pp. 123–135.
29. Steckley D., Karajgikar M., Dale L.B., Fuerth B., Swan P., Drummond-Main C., Poulter M.O., Ferguson S.S., Strasser A., Cregan S.P. // *J. Neurosci.* 2007. Vol. 27. pp. 12989–12999.
30. Sun Y. E3 ubiquitin ligases as cancer targets and biomarkers // *Neoplasia.* 2006. Vol. 8. pp. 645–654.
31. Terradillos O., Montessuit S., Huang D.C., Martinou J.C. // *FEBS Lett.* 2002. Vol. 522. pp. 29–34.
32. Terrones O., Etxebarria A., Landajuola A., Landeta O., Antonsson B., Basañez G. // *J. Biol. Chem.* 2008. Vol. 283. pp. 7790–7803.
33. Yamaguchi R., Lartigue L., Perkins G., Scott R.T., Dixit A., Kushnareva Y., Kuwana T., Ellisman M.H., Newmeyer D.D. // *Mol. Cell.* 2008. Vol. 31. pp. 557–569.
34. Verhagen A.M., Kratina T.K., Hawkins C.J., Silke J., Ekert P.G., Vaux D.L. // *Death Differ.* 2007. Vol. 14. pp. 348–357.
35. Walensky L.D., Pitter K., Morash J., Oh K.J., Barbuto S., Fisher J., Smith E., Verdine G.L., Korsmeyer S.J. // *Cell Death Differ.* 2006. Vol. 13. pp. 1339–1350.
36. Willis S.N. Proapoptotic Bcl-2 is sequestered by Mcl-1 and Bcl-xL, but not displaced by BH3 only proteins // *Genes Dev.* 2005. Vol. 19. pp. 1294–1305.
37. Zhang H., Cowan-Jacob S.W., Simonen M., Greenhalf W., Heim J., Meyhack B. // *J. Biol. Chem.* 2000. Vol. 275 (15) pp. 11092–11097.
38. Zhong Q. // Mule/ARE-BP1, a BH3-only E3 ubiquitin ligase, catalyzes the polyubiquitination of Mcl-1 and regulates apoptosis. *Cell.* 2005. Vol. 121. pp. 1085–1095.
39. Zhou M., Liu Y., Payne G. Growth factors inactivate the cell death promoter BAD by phosphorylation of its BH3 domain on Ser155 // *J. Biol. Chem.* 2000. Vol. 275. pp. 25046–25051.

**Рецензенты:**

Чемерис Н.К., д.б.н., профессор,  
главный научный сотрудник ИБК РАН,  
г. Пущино;

Винокуров М.Г., д.б.н., заведующий ла-  
бораторией ИБК РАН, г. Пущино.

Работа поступила в редакцию 07.06.2013.