

УДК 615.3

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ СУБСТАНЦИЙ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ НА АКТИВНОСТЬ КАСПАЗ (ОБЗОР)

Е. С. Кокарева¹, В. В. Морозов¹, Я. М. Станишевский^{1*}, М. А. Журавлева¹, А. В. Зубков²

Резюме. В работе представлен обзор строения и функций ферментов семейства каспаз. Рассмотрены основные этапы и пути развития программируемой клеточной гибели – апоптоза. Продемонстрированы механизмы ингибирования и активации каспаз, и их роль в апоптозе клеток. Отдельные этапы активации каспаз в организме остаются ещё недостаточно исследованными. В настоящее время, подробно изучены строение, свойства, ключевые моменты функционирования и регуляции каспаз в организме, однако на молекулярном и клеточном уровнях, недостаточно для непосредственного регулирования их деятельности. Современные исследования влияния искусственно созданных субстанций различной природы на эти ферменты, в свою очередь, открывают перспективы для дальнейшего поиска методов их регуляции что, в свою очередь, позволило бы использовать полученные знания в лечении онкологических, аутоиммунных и нейродегенеративных заболеваний.

Ключевые слова: апоптоз, каспаза, нуклеотиды, субстанции нуклеотидно-пептидной природы, программируемая клеточная смерть.

RESEARCH ON THE INFLUENCE OF VARIOUS SUBSTANCES ON CASPASE ACTIVITY (REVIEW)

E. S. Kokareva¹, V. V. Morozov¹, Ya. M. Stanishevskiy^{1*}, M. A. Zhuravleva¹, A. V. Zubkov²

Abstract. The paper presents an overview of the structure and functions of caspase group enzymes. The main stages and ways of development of programmed cell death – apoptosis were demonstrated. The mechanisms of inhibition and activation of caspases and their role in cell apoptosis are demonstrated. The different stages of caspase activation in the body are still insufficiently studied. At present, the structure, properties, key points of the functioning and regulation of caspases in the body have been studied in detail, but at the molecular and cellular levels it is not enough to directly regulate their activity. Modern studies of the effect of artificially created substances of different nature on these enzymes, in turn, open up prospects for further search for methods of their regulation, which in turn would allow using the knowledge gained in the treatment of oncological, autoimmune and neurodegenerative diseases.

Keywords: apoptosis, caspase, nucleotides, nucleotide-peptide substances, programmed cell death.

1 – ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН), 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

2 – ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова» (ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова), 105064, Россия, г. Москва, Малый Казённый переулок, д. 5а

1 – Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), 6, Miklukho-Maklaya str., Moscow, 117198, Russia

2 – Federal State Budgetary Scientific Institution «Research Institute of Vaccines and Sera, I. I. Mechnikov's» (FSBSI RIVS I. I. Mechnikov's), 5a, Malyi Kazennyi pereulok, Moscow, 105064, Russia,

* адресат для переписки:
E-mail: stanyar@yandex.ru
Тел.: 8 (499) 936 85 99

ВВЕДЕНИЕ

Изучение механизмов программированной гибели клеток, является одной из актуальных проблем современной биологии, биохимии, генетики, медицины и ряда смежных дисциплин. Центральной компонентой в механизме осуществления апоптоза является протеолитическая система, состоящая из семейства белков, называемых каспазами. Каспазы обнаружены в большинстве живых организмов, и подразделяются на инициаторные и эффекторные. Эти энзимы участвуют в последовательности процессов, запускаемых в ответ на проапоптотические сигналы, и расщепляют аминокислотные последовательности белков, что приводит, в итоге, к гибели клетки. За последнее десятилетие

многие ключевые моменты функционирования и регуляции каспаз были изучены на молекулярном и клеточном уровнях.

В настоящее время установлены основные механизмы реализации процесса апоптоза в эукариотических клетках, активно ведутся исследования регуляторов и активаторов апоптоза. Интерес учёных связан с возможностью применения знаний о программируемой клеточной смерти при лечении онкологических, аутоиммунных и нейродегенеративных заболеваний. В данной работе представлен обзор последних достижений и описание современных представлений о регуляции каспаз в процессе апоптоза.

МЕХАНИЗМ АПОПТОЗА

Апоптоз представляет собой генетически запрограммированную, форму гибели клетки и является необходимым условием нормального существования организма. Назначение апоптоза состоит в поддержании постоянства численности клеток, обеспечении правильного соотношения клеток различных типов и удалении генетически дефектных.

Процесс апоптоза характеризуется особенностями морфологии – ядро и цитоплазма уменьшаются в размерах, конденсируются, фрагментируются, клетка распадается на несколько частей (апоптотические тельца), содержащих элементы ядра [1, 3, 4]. Ядро подвергается разрушению через образование крупных фрагментов с последующей их межнуклеосомной деградацией. Плазматическая мембрана клетки претерпевает ряд изменений, в результате чего апоптотические тельца быстро поглощаются макрофагами [2, 3]. Структурная целостность биологических мембран в ходе апоптоза не нарушается, что препятствует выходу содержимого цитоплазмы во внеклеточную среду и развитие воспаления [1, 2]. Процесс апоптоза, как правило, происходит без макроскопических признаков, структурных и функциональных дефектов ткани и без развития воспаления [2].

Условно весь процесс гибели клеток может быть разделен на две фазы: формирование и проведение апоптотических сигналов и демонтаж клеточных структур [1, 3]. Пути, которыми достигается конечная цель апоптоза – гибель клетки, различны и включают сложное взаимодействие большой группы веществ, центральное место среди которых занимают особые протеазы – каспазы.

В клетках млекопитающих классическая передача сигнала апоптоза осуществляется либо внутренним, либо внешним путем, в зависимости от происхождения «стимулов смерти». Внутренний (митохондриальный) сигнал запускается в ответ на широкий диапазон «стимулов смерти», которые генерируются в самой клетке, таких как онкогенная активация и повреждение ДНК.

Генерация сигнала апоптоза внутри клетки осуществляется митохондриями: в ответ на сигналы апоптоза, несколько белков высвобождаются из внутримембранного пространства митохондрий в цитоплазму. Некоторые из этих белков хорошо охарактеризованы (рисунок 1):

- цитохром с;
- SMAC (второй митохондриальный фактор, активирующий каспазы)/ DIABLO (белок с низким значением изоэлектрической точки непосредственно связывающийся с ингибитором апоптоза IAP);

- AIF (фактор, вызывающий апоптоз);
- EndoG (эндонуклеаза G);
- OMI/HTRA2 (белок A2; белок теплового шока).

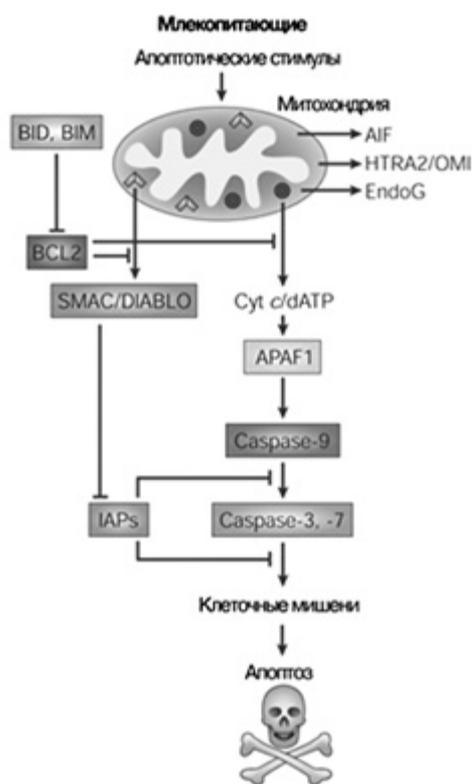


Рисунок 1. Классические пути апоптоза в клетках млекопитающих [6]

Возможно, наиболее интересным из этих проапоптотических белков является цитохром с, который в цитоплазме связывается с белком APAF1 и активирует его [5]. Связывание цитохрома с с APAF1 вызывает такое конформационное изменение, которое позволяет APAF1 связываться с АТФ/дезоксид-АТФ и сформировать апоптосому, которая в свою очередь обеспечивает активацию каспазы-9 [6], таким образом вызывая каскад реакций активации других каспаз.

Внешний путь передачи сигнала апоптоза инициируется связыванием внеклеточного лиганда смерти, а именно –FasL–, с «рецептором смерти», таким как Fas34, на поверхности клетки. «Лиганды смерти» являются конститутивными гомотримерами и, следовательно, связывание их с соответствующими рецепторами приводит к формированию как минимум гомотримерного комплекса лиганд-рецептор, который присоединяет в дальнейшем цитозольные факторы, такие как FADD и каспазы-8, формируя олигомерный индуцирующий смерть сигнальный комплекс (DISC). Формирование DISC приводит к активации инициирующей каспазы (каспаза-8), которая в свою оче-

редь катализирует гидролиз и, как следствие, активацию каспазы-3. Функция DISC в активации каспазы-8 считается аналогичной функции, выполняемой апоптосомой при активации каспазы-9, хотя детальные молекулярные механизмы этих процессов остаются неизвестными. Внешний путь передачи сигнала может пересекаться с внутренним на стадии гидролиза BID (BH3 – единственный представитель семейства BCL2 белков), осуществляемом каспазой-8 [7], что приводит к высвобождению митохондриальных белков и повышению проницаемости наружной мембраны митохондрий.

После инициации процесса апоптоза происходит активация каскада взаимодействий иницирующих и эффекторных каспаз, который заканчивается полной деградацией клетки.

СТРОЕНИЕ И ОСНОВНЫЕ ФУНКЦИИ КАСПАЗ

Каспазы – цистеиновые протеазы, которые катализируют гидролиз субстрата после остатка аспартата. Первая каспаза, интерлейкин-1-конвертирующий (превращающий) фермент (ICE; также известный как каспаза-1), был идентифицирован у человека. Ключевая роль каспаз в процессе апоптоза была установлена при изучении клеток нематоды *Caenorhabditis elegans*. В этих клетках ген *ced-3* (cell-death abnormality-3) кодировал цистеиновую протеазу, сходную с каспазой-1 (ICE) из клеток млекопитающих [8]. В настоящее время идентифицированы 14 различных каспаз млекопитающих, из которых 11 присутствуют в клетках человека.

По крайней мере, 7 из 14 известных каспаз млекопитающих играют важную роль в апоптозе [9]. Апопто-

тические каспазы обычно подразделяют на два класса: иницирующие каспазы: каспазы -2, -8, -9, -10, и эффекторные каспазы: каспазы-3, -6 и -7 (рисунок 2). Иницирующие каспазы характеризуются продоменным N-концевым участком, включающим один или несколько специальных адапторных участков, важных для ее функционирования, тогда как эффекторные каспазы содержат 20–30 остатков в аминокислотной последовательности продомена.

Положение первого активационного гидролиза внутри цепи (между большой и малой субъединицами, ~p20 и ~p10, соответственно) указано черной стрелкой, тогда как другие места гидролиза показаны серыми стрелками. Полагают, что гидролиз в этих местах модулирует активность каспазы и регуляцию каспаз ингибитором белков апоптоза (IAP) и другими белками. В отличие от других проферментов (зимогенов) протеаз, удаление N-концевого продомена каспазы не является необходимым условием для проявления ее каталитической активности. Продомены иницирующих каспаз неизменно содержат мотивы гомотипичного белок-белкового взаимодействия, такие как домен рекрутирования каспазы (CARD) и домен эффектора смерти (DED). Четыре поверхностных петли (L1-L4), которые формируют каталитическое углубление, обозначены на схеме. Каталитический остаток цистеина (Cys) показан в виде темной линии в начале L2. Субъединицы P20 и p10 формируют номер каспазы.

Активация эффекторных каспаз, таких как каспаза-3, выполняется иницирующими каспазами – каспазой-9, путем гидролиза в месте локализации специфических остатков аспарагиновой кислоты, которые отделяют большую (~p20) и малую (~p10) субъединицы. Субъединицы P20 и p10 тесно связываются друг

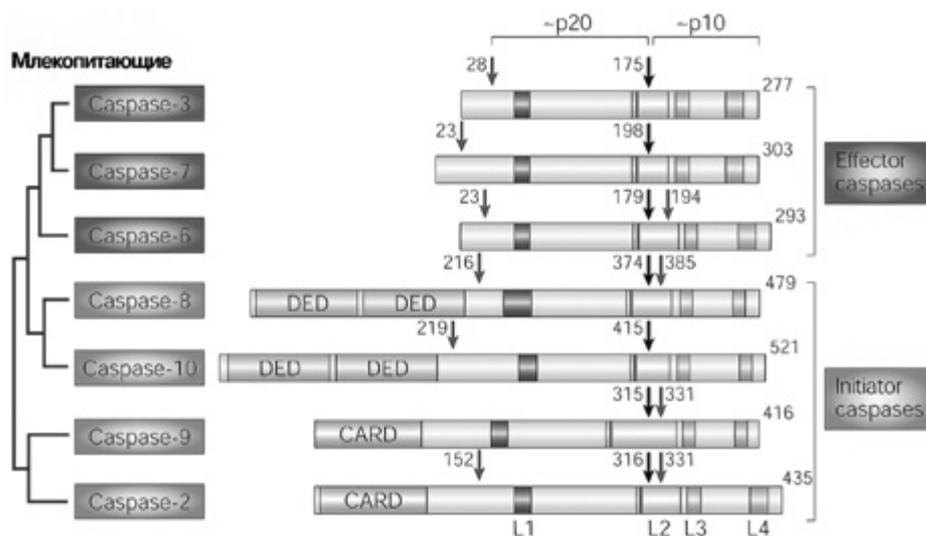


Рисунок 2. Каспазы млекопитающих, участвующие в процессе апоптоза [9]

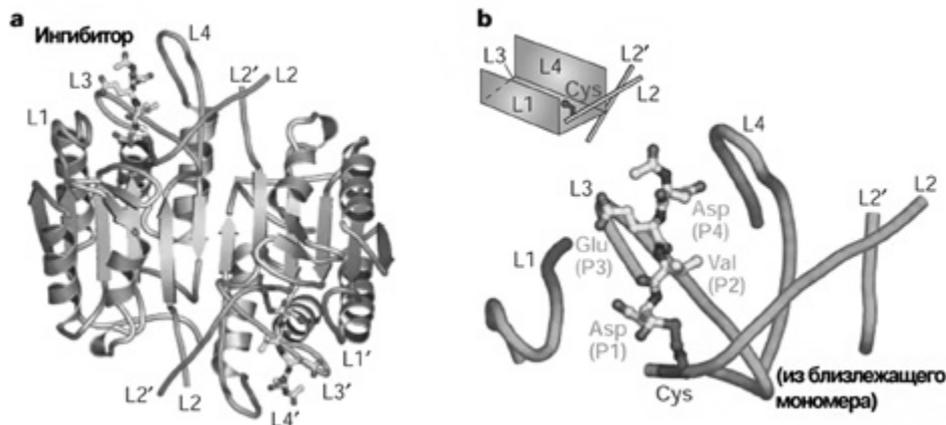


Рисунок 3. Структурные особенности каспаз [10].

а) Структура каспаз на примере каспазы – 7; б) Активный центр каспаз

с другом, формируя мономер каспазы. Иницирующие каспазы, наоборот, аутоактивируются. Поскольку активация иницирующих каспаз неизбежно запускает каскад реакций активации других каспаз в клетках, этот процесс тщательно регулируется и часто требует сборки многокомпонентного комплекса в условиях апоптоза.

Для каспаз-1, -2, -3, -7, -8, -9 [53] млекопитающих были получены данные о пространственной структуре. Указанные каспазы были кристаллизованы в виде гомодимеров (рисунок 3а). Основная структура мономера каспазы консервативна и включает большую (~20 kDa) и малую (~10 kDa) субъединицы. Гомодимеризация обеспечивается гидрофобными взаимодействиями, в которых принимают участие по шесть β -нитей от каждого мономера, формирующие единый непрерывный 12-нитевой β -лист (рисунок 3а). Несколько α -спиралей и коротких β -нитей расположены по обе стороны от центрального β -листа, который дает начало фолдингу глобулы. Активные центры, сформированные четырьмя выступающими из структурного

скелета петлями (L1-L4), расположены в двух противоположных концах β -листа (рисунок 3а).

Исследование таких структур показало, что базовая конфигурация активного центра имеет высококонсервативное строение для всех изученных каспаз (рисунок 3б). Сохранение конформации активного центра одного мономера обеспечивается L2' петлей соседнего мономера. Такая структура является ключевым элементом сохранения функциональной активности каспаз (рисунок 3).

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ КАСПАЗ

Каспазы синтезируются в виде профермента (зимогена), содержащего одну полипептидную цепь. Эффекторные каспазы существуют конститутивно в виде гомодимера. Механизм активации эффекторных каспаз установлен на примере каспазы-7 и представляет собой последовательные изменения конформации активного центра после активационного гидролиза (рисунок 4а).

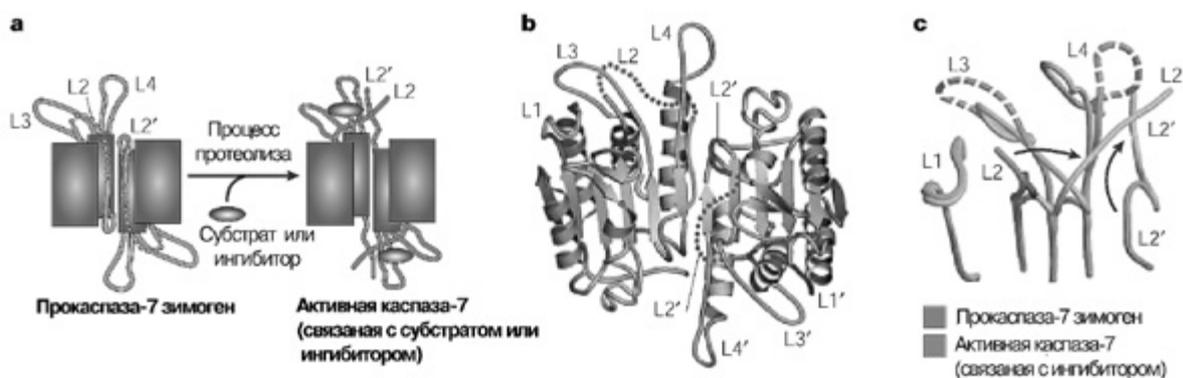


Рисунок 4. Молекулярный механизм активации прокаспазы-7 [10].

а) Схема процесса активации прокаспазы-7; б) Структура профермента прокаспазы-7

Сравнение неактивной структуры и структуры комплекса активной каспазы-7 с ингибитором (рисунок 4а) показывает стабильность структуры ядра (базовой части) прокаспазы-7 (зимогена). Однако петли, формирующие активный центр, изменяют конформационные изменения после гидролиза. Петля L2 искривляется, сдвигая каталитически активный цистеин в неоптимальное для катализа положение (рисунок 4с). Поражающим фактом является изменение конформации, а именно поворот почти на 180° петли L2', которая обеспечивает сохранение конформации активного центра соседнего мономера каспазы. Кроме того, L3 и L4 становятся очень гибкими (рисунок 4с). Эти конформационные перегруппировки в зимогене каспазы-7 предотвращают формирование субстрат-связывающего кармана. Таким образом, полученные данные объясняют, почему прокаспазы-7 (зимоген) не обладает каталитической активностью.

Гидролитическое расщепление цепи позволяет петлям L2' и L2 принять открытую конформацию, которую можно наблюдать в структуре комплекса каспазы-7 с ингибитором (рисунок 4а). Поскольку механизм взаимодействия между петлями L2', L2 и L4 высококонсервативен, его можно считать общим для всех каспаз. Эта гипотеза была подтверждена для каспаз-3 и -6.

ИНГИБИТОРЫ КАСПАЗ

Синтез каспаз подчиняется транскрипционной регуляции и пост-трансляционной модификации. Кроме того, представители консервативного семейства IAP белков могут потенциально ин-

гибировать ферментативную активность каспаз и постоянно удалять каспазы через метаболический путь – убиквитин-протеосома[11].

Известны следующие IAP белки млекопитающих:

- XIAP (X-linked IAP);
- c-IAP1, c-IAP2;
- ML-IAP (IAP меланомы)/Livin;
- ILP2 (IAP-подобный белок-2);
- NAIP (белок-ингибитор апоптоза нейронов);
- Bruce/Apollon и сурвивин.

В клетках млекопитающих, каспазы-3, -7 и -9 ингибируются белками IAP (рисунки 2, 5). Интересно, что каспаза-9, прежде всего, ингибируется XIAP, хотя она связывается с несколькими IAP. В отличие от этого, каспаза-3 и-7 ингибируются XIAP и, в меньшей степени, c-IAP1, c-IAP2 и NAIP [12].

Признаком IAP белков является наличие повторяющегося домена бакуловирусного IAP (BIR), представляющего собой ~80 аминокислотный цинк связывающий домен. XIAP, c-IAP1 и c-IAP2 содержат три BIR домена каждый, при этом различные BIR домены имеют различные функции (рисунок 5). Сурвивин [13], содержащий единственный BIR домен, не ингибирует активность каспазы *in vitro*.

Молекулярный механизм ингибирования IAP белками эффекторных каспаз установлен путем анализа кристаллических структур каспазы-3 и каспазы-7 связанных с ингибиторным фрагментом XIAP. В этих струк-

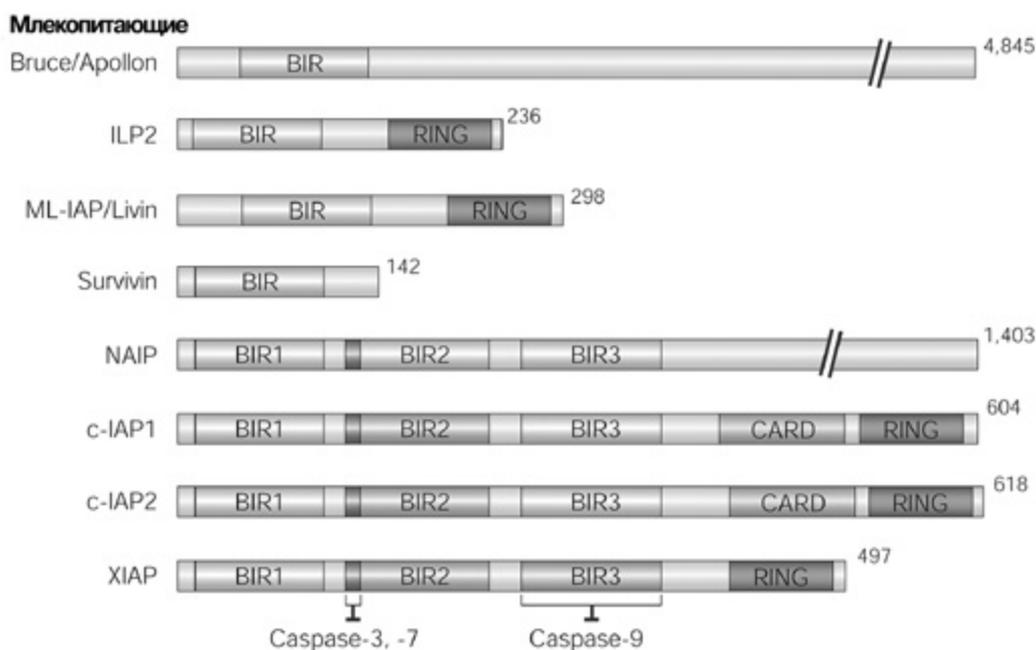


Рисунок 5. IAP белки [12]

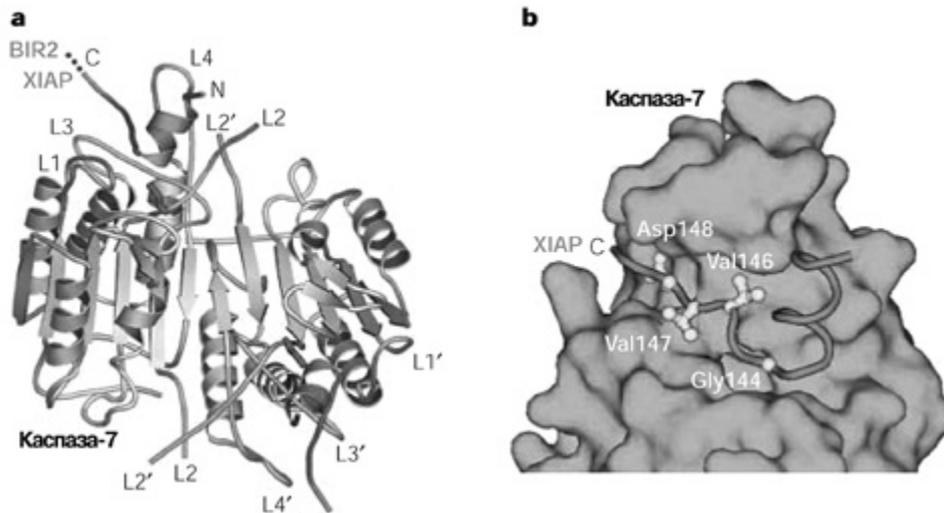


Рисунок 6. Молекулярный механизм IAP опосредованного ингибирования эффекторных каспаз [12].

а) Кристаллическая структура каспазы-7; б) Крупным планом представлен активный центр каспазы-7 со связанным фрагментом XIAP

турах, короткий линкерный пептид, предшествующий BIR2 домену в XIAP, формирует идентичные взаимодействия с каспазой-3 или -7 (рисунок 6а). По сравнению с ковалентными пептидными ингибиторами, линкерный пептид молекулы XIAP обратно-ориентированно блокирует активный центр каспазы-3 или -7 закрывая места входа субстрата (рисунок 6б).

Линкерный пептид, расположенный перед доменом BIR2 в XIAP, играет важную роль в ингибировании каспазы-3 или -7. Рекombинантный белок с линкерным пептидом соединенным или с N-или с C-концом BIR1 был способен связываться и ингибировать каспазу-3, тогда как ни BIR1, ни BIR2 в гомогенном состоянии не ингибировали фермент.

Активированная каспаза-9 может ингибироваться BIR3 доменом XIAP. Мутационный анализ идентифицировал три остатка в молекуле XIAP – Trp310, Glu314 и His343 – которые являются обязательными для XIAP-опосредованного ингибирования каспазы-9 [12].

Этот перехваченный мономер каспазы-9 имеет каталитически неактивную конформацию активного центра. Так, XIAP ингибирует каспазу-9, «поддерживая» ее в мономерном состоянии, которое предотвращает проявление каталитической активности.

В отличие от XIAP, для которого мишенями являются каспазы-3, -7 и -9 млекопитающих, белок бакуловируса р35 является эффективным ингибитором большинства каспаз и *in vivo* и *in vitro*. Ингибирование каспазы белком р35 коррелирует с гидролизом после остатка Asp87 в полипептидной цепи, образующей петлю в активном центре, и последующим формированием комплекса протеазы с ковалентно связанным ингибитором. Аналогичный принцип действия установлен для другого бакуловирусного белка – р49. Кроме того, серпин (ингибитор сериновых протеаз) CrmA, выделенный из вируса коровьей оспы, также ингибирует активность ряда каспаз, нарушая структуру их активного центра, вероятно по

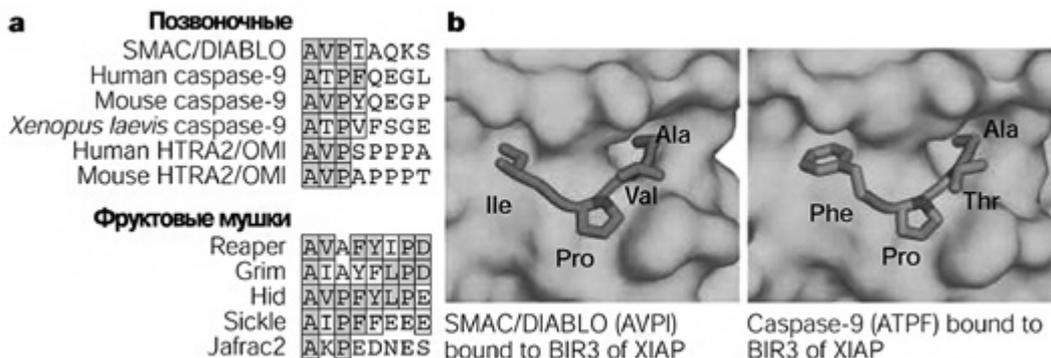


Рисунок 7. SMAC/DIABLO-опосредованное снятие ингибирования каспазы-9 белком XIAP [17]

тому же механизму, который был установлен для процесса ингибирования серпином активности сериновых протеиназ.

СНЯТИЕ ИНГИБИРОВАНИЯ КАСПАЗ

В процессе апоптоза по IAP-опосредованному ингибированию каспаз противодействует семейство белков, которые содержат тетрапептидный мотив, обеспечивающий связывание IAP [15] (рисунок 7а). У млекопитающих это митохондриальный белок SMAC/DIABLO. Благодаря направленному расщеплению митохондриальной последовательности, зрелый белок SMAC/DIABLO содержит в N-концевой последовательности тетрапептид – Ala-Val-Pro-Ile – который связывается с консервативным углублением на поверхности BIR3 домена XIAPa [16]. Другой митохондриальный белок, HTRA2/OMI, также содержит связывающий IAP тетрапептид в N-концевой последовательности (рисунок 7а) и может в высоких концентрациях противодействовать XIAP-опосредованному ингибированию каспазы-9 [16].

Участок связывания этого консервативного тетрапептида находится на поверхности доменов BIR2 и BIR3 в XIAP (93,94), с-IAP1 и с-IAP2. (рисунок 7б). Мутационная замена Ala на любую другую аминокислоту, например метионин (Met) или глицин (Gly), приводит к блокированию взаимодействий с BIR доменами. В последовательности трех других аминокислот тетрапептида возможны замены, однако наличие пролина третьем положении и гидрофобного остатка с большими геометрическими размерами в четвертом положении является обязательным (рисунок 7а).

Тетрапептид SMAC/DIABLO способен удалять XIAP-опосредованное ингибирование каспазы-9, но не снимает IAP- ингибирование каспаз. Причины очевидны – участок связывания тетрапептида находится на поверхности BIR2 или BIR3 домена XIAP (или с-IAP1 или с-IAP2), а участок его связывания при ингибировании каспазы-3 или-7 расположен между BIR1 и BIR2 доменами XIAP (или с-IAP1 или с-IAP2). Важно, что для SMAC/DIABLO-опосредованного снятия ингибирования каспазы-7 необходимо связывание и с BIR2 и с BIR3 доменами [17]. Согласно этой модели, связывание с BIR доменами обязательно не только для N-терминального тетрапептида SMAC/DIABLO, но и для обширного поверхностного участка, который доступен только в димерном SMAC/DIABLO из «дикого типа». Эта модель подтверждается данными о слабом взаимодействии мономерных мутантов SMAC/DIABLO с BIR2 доменом и их неспособностью снимать IAP-опосредованное ингибирование каспазы-3.

АКТИВАЦИЯ КАСПАЗ

В отличие от эффекторных каспаз, у которых и проферменты (зимогены) и активированные ферменты существуют в виде гомодимера, ситуация с формами существования иницирующих каспаз оказалась значительно сложнее. Каспаза-9 и до и после протеолиза в основном существует в виде мономера. В отличие от нее каспаза-8 согласно литературным данным существует в виде мономеров и димеров в равновесном состоянии [18]. Существование каспазы-9 в форме мономером позволяет предсказать, что ее активный центр находится в конформации неоптимальной для катализа из-за отсутствия формирующей активный центр L2> петли. Восстановление оптимальной для катализа конформации активного центра является важным для активации каспазы-9. В клетках этот процесс активации происходит в результате образования комплекса каспазы-9 и апоптосомы и сопровождается увеличением ее в активности в 2000 раз.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время отдельные механизмы активации каспаз в организме остаются малоисследованы. Подробно изучены строение, свойства, ключевые моменты функционирования и регуляции каспаз в организме, но недостаточно сведений о непосредственной регуляции их активности.

Современные исследования влияния искусственно созданных субстанций различной природы на ферменты семейства каспаз открывают перспективы для дальнейшего поиска методов их регуляции активности ферментов семейства каспаз, что позволит разработать новые методы лечения пациентов с онкологическими, аутоиммунными и нейродегенеративными патологиями.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ по Программе реализации комплексных проектов по созданию высокотехнологичного производства (Постановление Правительства РФ № 218 от 09.04.2010 г. шифр конкурса 2016-218-09). Договор № 03.G25.310258.

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимирская Е. Б. Механизмы апоптотической смерти клеток. Гематология и трансфузиология. 2002. Т. 47. № 2. С. 35–40. [Vladimirskaia E. B. Mehanizmy apoptoticheskoi smerti kletok. Gematologija i transfuziologija. [Mechanisms of apoptotic cell death. Hematology and transfusiology.] 2002. T. 47. № 2. P. 35–40.]
2. Григорьев М. Ю., Имянитов Е. Н., Хансон К. П. Апоптоз в норме и патологии. Медицинский академический журнал. 2003. Т. 3. № 3. С. 3–11. [Grigor'ev M. Ju., Imjanitov E. N., Hanson K. P. Apoptoz v norme i patologii. Medicinskij akademicheskij zhurnal. 2003. [Apoptosis is normal and pathological. Medical Academic Journal.] T. 3. № 3. P. 3–11.]
3. Нагорнев В. А., Восканьянц А. Н. Апоптоз и его роль в атерогенезе. Медицинский академический журнал. 2003. Т. 3. № 4. С. 3–18.

- [Nagornev V. A., Voskan'janc A. N. Apoptoz i ego rol' v aterogeneze. Medicinskij akademicheskij zhurnal. [Apoptosis and its role in atherogenesis. Medical Academic Journal.] 2003. T. 3. № 4. P. 3–18.]
4. Робинсон М. В., Труфакин В. А. Апоптоз клеток иммунной системы. Успехи современной биологии. 1991. Т. 3. Вып. 2. С. 246–259. [Robinson M. V., Trufakin V. A. Apoptoz kletok immunnoj sistemy. Uspehi sovremennoj biologii. [Apoptosis of cells of the immune system. Successes of modern biology.] 1991. T. 3. Vyp. 2. P. 246–259.]
 5. Rodriguez J., Lazebnik Y. Caspase-9 and Apaf-1 form an active holoenzyme. *Genes Dev.* 1999. № 13. P. 3179–3184.
 6. Saleh A., Srinivasula S. M., Acharya S., Fishel R., Alnemri E. S. Cytochrome c and dATP-mediated oligomerization of Apaf-1 is a prerequisite for procaspase-9 activation. *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. P. 17941–17945.
 7. Yang X., Chang H. Y., Baltimore D. Essential role of CED-4 oligomerization in CED-3 activation and apoptosis. *Science.* 1998. V. 281. P. 1355–1357.
 8. Kumar S., Doumanis J. The fly caspases. *Cell Death Differ.* 2000. № 7. P. 1039–1044.
 9. Shi Y. Apoptosome: the cellular engine for the activation of caspase-9. *Structure.* 2002. № 10. P. 285–288.
 10. Wei Y. The structures of caspases-1, -3, -7 and -8 reveal the basis for substrate and inhibitor selectivity. *Chem. Biol.* 2000. № 7. P. 423–432.
 11. Salvesen G. S., Duckett C. S. IAP proteins: blocking the road to death's door. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 2002. № 3. P. 401–410.
 12. Sun C. NMR structure and mutagenesis of the inhibitor-of-apoptosis protein XIAP. *Nature.* 1999. V. 401. P. 818–822.
 13. Ashhab Y., Alian A., Polliack A. Two splicing variants of a new inhibitor of apoptosis gene with different biological properties and tissue distribution pattern. *FEBS Lett.* 2001. V. 495. P. 56–60.
 14. Zoog S. J., Schiller J. J., Wetter J. A. Baculovirus apoptotic suppressor P49 is a substrate inhibitor of initiator caspases resistant to P35 in vivo. *EMBO J.* 2002. V. 21. P. 5130–5140.
 15. Srinivasula S. M. A conserved XIAP-interaction motif in caspase-9 and Smac/DIABLO mediates opposing effects on caspase activity and apoptosis. *Nature.* 2001. V. 409. P. 112–116.
 16. Shi Y. A conserved tetrapeptide motif: potentiating apoptosis through IAP-binding. *Cell Death Differ.* 2002. № 9. P. 93–95.
 17. Wu G. Structural basis of IAP recognition by Smac/DIABLO. *Nature.* 2000. V. 408. P. 1008–1012.
 18. Yang X., Chang H. Y., Baltimore D. Autoproteolytic activation of procaspases by oligomerization. *Mol. Cell.* 1998. № 1. P. 319–325.
 19. Boatright K. M., Salvesen G. S. Mechanisms of caspase activation. *Boatright, Curr. Opin. Cell Biol.* 2003. № 15. P. 725–731.
 20. Olivera S.-C. M., Caballero B. M., Argent R., Alonso J. C., Centeno F., Lorenzo M. J. JNK signaling pathway regulates sorbitol-induced Tau proteolysis and apoptosis in SH-SY5Y cells by targeting caspase-3. *Arch Biochem Biophys.* 2017. № 15. V. 636. P. 42–49.
 21. Lou M., Zhang L. N., Ji P. G., Feng F. Q., Liu J. H., Yang C., Li B. F., Wang L. Quercetin nanoparticles induced autophagy and apoptosis through AKT/ERK/Caspase-3 signaling pathway in human neuroglioma cells: *In vitro* and *in vivo*. *Biomed Pharmacother.* 2016. V. 84. P. 1–9.
 22. Liu R., Shih T.-C., Deng X., Anwar L., Ahadi S., Kumaresan P., Lam K. S. Design, Synthesis, and Application of OB2C Combinatorial Peptide and Peptidomimetic Libraries, *Methods Mol. Biol.* 2015. V. 1248. P. 3–22.
 23. Allaman-Pillet N., Oberson A., Schorderet D. F. BIR01, a Cell-Permeable BH3 Peptide, Promotes Mitochondrial Fragmentation and Death of Retinoblastoma Cells, *Mol. Cancer Res.* 2015. V. 13. №1. P. 86–97.
 24. Russo P., Arzani D., Trombino S., Falugi C. C-myc Down-Regulation Induces Apoptosis in Human Cancer Cell Lines Exposed to RPR-115135 (C31H29NO4), a Non-Peptidomimetic Farnesyltransferase Inhibitor, *The journal of pharmacology and experimental therapeutics.* 2003. V. 304. P. 37–47.