

## ПОВСЕДНЕВНЫЕ И ИНДУЦИРУЕМЫЕ ФУНКЦИИ ГЕНА p53

©2010 г. А. О. ЖЕЛТУХИН и П. М. ЧУМАКОВ

*Институт молекулярной биологии им. В.А.Энгельгардта РАН,  
Москва*

I. Введение. II. Модуляция активности p53. III. p53 убивает или останавливает деления поврежденных клеток, тем самым снижая вероятность возникновения рака. IV. Контроль белком p53 тканевых и организменных реакций на поврежденные и измененные клетки. V. Участие p53 в процессе репарации ДНК. VI. Функции p53 при физиологических нагрузках. VII. Антиоксидантная функция p53. VIII. Роль белка p53 в регуляции метаболизма. IX. Белок p53 контролирует соблюдение оптимального баланса между гликолизом и аэробным дыханием. X. Белок p53 и гликолиз. XI. Стимуляция митохондриального дыхания. XII. p53 и эффект Варбурга. XIII. Регуляция баланса анаболических и катаболических процессов. XIV. Контроль энергетического статуса клетки. XV. Контроль соблюдения баланса между пролиферативными сигналами и доступностью питательных веществ. XVI. Роль белка p53 в контроле аутофагии. XVII. Белок p53 и старение организма. XVIII. Терапевтическое воздействие на p53-зависимые механизмы.

### I. ВВЕДЕНИЕ

Недавно исполнилось тридцать лет с момента открытия белка p53. Это время показало исключительную важность этого белка в организме, а кодирующий его ген оказался самым изучаемым геном человека. Новые данные о p53 несколько раз заставляли коренным образом

---

*Принятые сокращения:* Akt – принятое в современной литературе обозначение протеинкиназы B и ее гена; AMPK – АМР-зависимая киназа; АФК – активные формы кислорода; GSK3 $\beta$  – ген, кодирующий киназу гликогенсинтазы; IGF-1 – инсулин-подобный фактор роста; iPS – индуцированные стволовые клетки; Клоногенный индекс – число клонов, образующихся при рассадке на одну чашку 100 клеток; LKB1 – гена, кодирующий ПК, активирующую AMPK и несколько других киназ; MDM2 – ген, кодирующий белок Mdm2, убиквитиновую лигазу класса E3, участвующую в регуляции стабильности белка p53; НК – нуклеиновые кислоты; нутлины – (от Nutley, городок в США в котором расположена компания Хофман-Ларош, – малые молекулы, способные разрушать комплекс белков p53 и Mdm2; ПК – протеинкиназа; pRB – продукт гена-супрессора

*Окончание см. на сл. стр.*

пересматривать вопрос о его роли в организме. Каждый поворот исследований выявлял дополнительные аспекты функции белка p53, открывал новые перспективы использования полученных знаний для профилактики и лечения болезней. Сейчас происходит очередной поворот в представлениях о функции белка p53, так как стало ясно, что его роль не ограничивается защитой от последствий запредельных стрессов и повреждений клеток, но осуществляется в повседневной жизнедеятельности, способствуя оптимальному поддержанию гомеостаза клетки и организма в целом. Новейшими исследованиями выяснена также противоречивая роль p53 в развитии патологий. Являясь важным компонентом системы выбраковки поврежденных клеток, а также фактором, способствующим оптимальной настройке метаболических процессов, p53 выполняет важную функцию в профилактике злокачественных заболеваний. Однако, хотя многие функции p53 направлены на преодоление вредных воздействий, они вместе с тем могут создавать негативный фон для жизнедеятельности неповрежденных клеток, влияя на такие процессы как старение организма и развитие хронических патологий. Функция p53 тонко балансирует между «добром и злом», и поэтому углубленное понимание p53-зависимых процессов необходимо для разработки оптимальных профилактических мероприятий.

Белок p53 был открыт как «опухолевый антиген». В нормальных клетках белка p53 очень мало, однако он накапливается в клетках при трансформации некоторыми вирусами, а также в опухолях [1–8]. После того как ген p53 был клонирован появилась возможность вводить в клетки экспрессирующие конструкции. p53 оказался способным трансформировать и иммортализовать клетки, в результате чего он был отнесен к разряду онкогенов [9–15]. Однако спустя десять лет стало ясно, что онкогенные свойства p53 являются артефактом,

ретинобластомы; PIP2 и PIP3 – фосфатидилинозитол бисфосфат и фосфатидилинозитол трифосфат; PTEN – опухолевый супрессор, кодирующий «протеинфосфатазу гомологичную тензину»; TOR – ПК, являющаяся мишенью рапамицина; mTOR – гомолог TOR у млекопитающих и человека; TORC1 – первый киназный комплекс, содержащий TOR; TORC2 – второй киназный комплекс, содержащий TOR; TSC1 – туберин, продукт гена-супрессора TSC1, повреждаемого при наследственном туберозном склерозе; TSC2 – гамартин, продукт гена-супрессора TSC2, повреждаемого при наследственном туберозном склерозе.

*Адрес для корреспонденции:* peter@chumakov.com

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 08-04-00686-а, гранта Медицинского института Ховарда Хьюза № 55005603, гранта программы РАН «Молекулярная и клеточная биология» и фонда Дмитрия Зимина «Династия», грантов Национальных институтов здоровья США NIH R01 CA104903 и R01 AG025278.

вызванным тем, что первые клонированные последовательности p53 были получены из трансформированных клеток, содержащих мутации [16–18]. Выделенный из нормальных клеток ген p53 при введении в клетки проявлял себя как опухолевый супрессор. Практически не влияя на функцию нормальных клеток, он останавливал размножение трансформированных и опухолевых клеток [19–21]. При введении дикого p53 в опухолевые клетки, в зависимости от их тканевой принадлежности наблюдалось три типа воздействия – остановка делений клеток в сверхточных точках клеточного цикла [22, 23], индукция клеточной смерти (апоптоза) [24], или необратимое прекращение делений, сопровождающееся признаками клеточного старения [25–27]. По своей функции p53 удовлетворяет основным критериям опухолевого супрессора: (а) функция гена нарушена во многих опухолях, (б) дикий p53 подавляет рост опухолевых клеток, как культуре, так и в организме лабораторных животных, (в) врожденные мутации гена p53 при наследственном синдроме Ли-Фраумени [28] приводят к раннему развитию множественных злокачественных заболеваний и (г) мыши с делецией гена p53 умирают от опухолей (в основном лимфом) в возрасте до 9 месяцев [29]. В опухолях ген p53 часто имеет точечные мутации, затрагивающие структуру белка [30], в результате чего в клетках накапливается неполноценный белок p53, который подавляет функцию белка, кодируемого второй неповрежденной копией гена, то есть проявляет доминантно-негативное действие. Кроме того, мутантный белок p53 приобретает ряд новых активностей, не свойственных полноценному p53, и эти активности усугубляют онкогенные свойства опухолевых клеток [31]. В результате мутаций ген p53, в норме играющий роль опухолевого супрессора, начинает действовать как доминантный онкоген.

Уровень белка p53 и его активность в нормальных клетках незначительны, однако под воздействием стрессов, приводящих к повреждению ДНК (например, УФ или ионизирующего облучения) происходит накопление p53 и проявление его активности. Ряд других повреждающих воздействий (гипертермия, гипоксия) или нарушений физиологии клетки (повреждение митотического веретена, нарушения расхождения хромосом при митозах, повреждения актинового цитоскелета, клеточных контактов, внеклеточного матрикса) также способствует индукции активности p53. Заражение клетки вирусами или активация онкогенов также стимулирует p53 и сигнализирует о необходимости удаления поврежденной клетки [32]. Поскольку практически любое воздействие, угрожающее целостности генома клетки способно вызывать активность p53, Дэвидом Лейном было

сформулировано удачное определение функции p53 как «стража генома» [33]. Перед p53 стоит задача препятствовать размножению неполноценных клеток. Если в результате действия стресса (например облучения) возникают повреждения ДНК, то последующая репликация может закрепить эти повреждения в виде мутаций. Если клетка в незавершенном процессе расхождения хромосом начнет следующее деление, то дочерние клетки могут унаследовать неправильное число хромосом. p53 предотвращает такие ситуации, приостанавливая деления до исправления повреждения, или убивая поврежденную клетку до того, как она успеет поделиться.

Данная модель была положена в основу новой концепции поддержания генетической стабильности многоклеточных организмов, и дальнейшие эксперименты подтвердили ее правильность. По мере усложнения животных организмов возникает все большая потребность в системах контроля точности исполнения записанных в геноме программ. Нарушение любой отдельной стадии сложных регуляторных процессов может привести к существенным перекосам на всех последующих стадиях, что оборачивается развитием патологии. Для предотвращения таких ситуаций каждая отдельная клетка организма должна чувствовать, что ее состояние вышло за пределы дозволенного, за пределы генетически определенных границ нормы. Функция p53 состоит том, чтобы, по аналогии с аварийным тормозом, предотвращать угрозу аварии. Следя за правильностью выполнения генетических программ в каждой отдельной клетке, p53 выполняет важнейшую профилактическую функцию по очистке организма от потенциально опасных клеток, предотвращает образование опухолей или других патологий.

Правильность описанной выше модели функции p53 подтверждается все новыми данными, детализирующими механизмы индукции p53 в ответ на те или иные повреждения. Выявляются характерные особенности действия индуцированного p53 в зависимости от типа клеток, типа и степени повреждения. Новейшие данные заставили пересмотреть представления о p53 как, безусловно, индуцируемом белке. Первоочередное изучение сильных эффектов, наблюдаемых в ответ на повреждающие воздействия, заслоняли, до поры до времени, другие стороны функции p53 [34]. Изучение возможной роли p53 в нормальных клетках, или в условиях физиологических нагрузок практически не проводились. Считалось, что в нормальных клетках активность p53 практически отсутствует, так как она нужна исключительно для сдерживания делений неполноценных клеток, или для ускорения процесса репарации повреждений. Веским доводом

для такого заключения было практическое отсутствие фенотипа у p53-/- мышей. Ранняя гибель внешне нормальных p53-/- мышей от лимфом, служило лишь подтверждением роли p53 как опухолевого супрессора, препятствующего развитию рака путем выбраковки дефектных клеток.

Недавно был выявлен активности p53, проявляющиеся при физиологических условиях, в клетках, не подверженных экстремальным нагрузкам [35, 36]. Наряду с функцией «скорой помощи» p53 участвует в более мягких адаптивных процессах, вызывая плавную модуляцию обмена веществ, повышая активность антиоксидантной защиты и процессов детоксикации, влияя на интенсивность белкового синтеза, регулируя процесс репарации неделящихся клеток путем мобилизации процесса аутофагии и стимулируя репродуктивные функции организма [37–39]. Хотя указанные активности p53 проявляются не столь ярко, они постоянно, без значительной индукции p53, вносят свой вклад в охрану целостности генома. p53 функционирует также в эмбрионах, защищая от дефектов развития. В ответ на возникающие повреждения p53 останавливает плюрипотентность эмбриональных стволовых клеток путем репрессии ингибитора дифференцировки Nanog, останавливая дальнейшие деления клеток, не давая им участвовать в формировании организма [40]. Эта же функция p53 повышает генетическую стабильность организма путем предотвращения обратной дифференцировки (перепрограммирования) уже прошедших стадию дифференциации клеток. Искусственное перепрограммирование клеток является перспективным подходом к регенерации тканей и органов. Преодоление природного барьера на пути получения полностью совместимых стволовых клеток из организма самого пациента путем разработки способов временного отключения функции p53 исключительно важно не только в борьбе с болезнями, но и в подходах к продлению жизни.

В отличие от функции p53, направленной на ограничение делений неполноценных клеток, способность p53 регулировать процессы гомеостаза в нормальных клетках [41] играет свою роль в профилактике не только злокачественных заболеваний, но в предотвращении таких распространенных заболеваний как атеросклероз, метаболические расстройства (включая ожирение), диабет, нейродегенеративные патологии и преждевременное старение организма.

Однако, p53 имеет и «темную сторону», поскольку его чрезмерная активность может способствовать развитию патологий. Хронические стрессы и локальные воспалительные процессы постоянно стиму-

лируют p53, приводя к апоптозу отдельных клеток и выбросу умирающими клетками активного форм кислорода (АФК). В свою очередь, этот дополнительный стресс приводит к изменению межклеточного матрикса, запуску дальнейших патологических процессов. Участвуя в цепях патогенеза, p53 осложняет течение болезни. Другое нежелательное действие p53 проявляется при лучевой и химиотерапии рака. Хотя эти методы лечения позволяют высокоизбирательно убивать опухолевые клетки, стрессовая индукция p53 приводит к определенными нежелательными изменениями и в нормальных тканях. Знание закономерностей индукции p53 и изучение возможности ее временного отключения, безусловно, представляет интерес в плане профилактики указанных осложнений.

В ходе эволюции происходит «притирка» всех процессов таким образом, что системы организма в нормальных условиях находятся в состоянии гомеостаза. В идеальном организме, когда все гены полноценны и находятся в гомозиготном состоянии, такое равновесие возможно. Однако, индивидуальные организмы неидеальны, содержат много неполноценных аллелей и поэтому на разных этапах их существования процессы гомеостаза могут нарушаться даже без сильных внешних воздействий. В этих случаях возникают болезни, происходит запуск патогенетических механизмов, приводящих к прогрессированию хронических заболеваний. Практически все патологии сопровождаются стрессом в тканях, и не последний вклад в эти процессы вносит p53.

Таким образом, p53 играет двоякую роль – с одной стороны, он защищает организм от болезней, а с другой, усугубляет течение некоторых патологических процессов. На уровне отдельных клеток он также может либо убивать клетки, в том случае если они безнадежно повреждены, либо, напротив, способствовать восстановлению их нормальной функции в случае менее серьезных повреждений. Эти, на первый взгляд, взаимоисключающие свойства проявляются за счет сложной системы регуляции активности p53. Многие вопросы регуляции были затронуты в нашем недавнем обзоре [32]. Здесь мы попытались рассмотреть два сценария поведения p53, проявляющихся при экстремальных воздействиях и в условиях повседневной жизнедеятельности. Каждая из активностей p53 вносит весомый вклад в профилактические функции p53 и имеет огромное значение для медицины.

## II. МОДУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ p53

До недавнего времени считалось, что в нормальных клетках активность p53 практически отсутствует. На транскрипционном уровне ген p53 экспрессируется приблизительно с одинаковой интенсивностью во всех тканях, хотя вблизи промотора гена p53 и содержатся участки узнавания транскрипционных факторов AP1, YY1, NFkB, HOXA5 и PAX. Поэтому возможно, что транскрипционная регуляция гена p53 все таки существует, хотя этот вопрос еще малоизучен. Установлено, что за исключением HOXA5 указанные транскрипционные факторы способны репрессировать транскрипцию гена p53 [42]. Некоторая модуляция в сторону повышения уровня транскрипции возможна также за счет влияния малоизученного транскрипта Wtap53, соответствующего противоположной цепи ДНК гена p53 [43, 44]. Имеются также указания на регуляцию уровня мРНК за счет связывания с 3'-нетранслируемой областью стабилизирующего белка HuR – возможно, этот механизм вносит определенный вклад в индукцию p53 при стрессах [45, 46].

В структуре самой мРНК заложен дополнительный механизм регуляции инициации трансляции p53, поскольку мРНК содержит два внутренних участка посадки рибосом (IRES), отвечающих за *Cap*-независимую инициацию трансляции [47, 48]. Возможно этот механизм регуляции сопряжен с экспрессией множественных минорных альтернативно-сплайсированных изоформ мРНК p53 [49]. В частности, одна из изоформ, кодирующая белок, лишенный сорока N-концевых аминокислот, хотя и является минорной, транслируется более активно по сравнению с полноразмерной мРНК, так что полноразмерная и укороченная форма белка синтезируются почти с одинаковой интенсивностью [50]. Функциональное значение множественных изоформ p53 до сих пор мало понятно, хотя одной из них приписывается участие в процессах репарации ДНК [51].

При нормальных физиологических условиях уровень белка p53 в клетках весьма низок, поскольку новосинтезированный белок быстрого разрушается в протеасомах. Большая часть белка p53 сразу же после синтеза направляется в 20S протеасомы, без предварительного навешивания убиквитина. 20S протеасомы участвуют в ускоренном разрушении белков имеющих развернутую структуру [52], или PEST-мотивы. Вблизи N-концевого сегмента p53 располагается неструктурированный участок, ответственный за разрушение в 20S протеасомах. Скорость вхождения p53 в 20S протеасомы может модулироваться двумя оксидоредуктазами NQO1 и NQO2, которые связывают неструктурированные участки p53, препятствуя

вхождению в 20S протеасомы. По-видимому, эта активность NQO1 и NQO2 не связана с редуктазной активностью данных белков. Активность NQO1 и NQO2 может меняться в зависимости от физиологического состояния клетки, в частности, при повышенных уровнях кислородных радикалов, или при нарушении биосинтеза пиримидиновых нуклеотидов.

Многие детали процесса регуляции разрушения p53 в 20S протеасомах остаются непонятными, однако возможно, что именно модуляция уровня p53 посредством этого механизма играет важную роль в профилактике ряда патологий. Известно, что NQO2 является основной мишенью действия резвератрола [53] [54], который способен приостанавливать процессы старения организма и, подобно ограничению потребления калорий, оказывает омолаживающее действие даже при высококалорийном рационе [55, 56].

Убиквитин-зависимый путь быстрого разрушения p53 в 26S протеасомах изучен лучше. Именно подавление этого пути приводит к массивному накоплению белка p53 при стрессах и всевозможных нарушениях физиологии клетки. Благодаря действию убиквитиновых лигаз класса E3 происходит поли-убиквитинирование p53, что служит сигналом для его вхождения в 26S протеасомы. Этот процесс тонко регулируется на нескольких уровнях, причем существуют обратные связи, которые приводят к дестабилизации белка p53 по мере повышения его активности. Основной E3 лигазой p53 является белок Mdm2 [57–59]. Mdm2 связывается с N-концевым участком p53, подавляет его транскрипционную активность и одновременно способствует экспорту белка из ядра в цитоплазму. Но основная функция Mdm2 состоит в поли-убиквитинировании белка p53 по нескольким C-концевым лизинам. Ген MDM2 содержит сильный p53-респонсивный элемент и активируется при повышении уровня белка p53, способствуя его дальнейшему разрушению, что важно для восстановления низкого уровня p53 после завершения стрессов [60]. Гомологичный Mdm2 белок MdmX не является E3 лигазой, однако он может связываться с белком Mdm2 и регулировать процесс разрушения p53 [61–63]. Интересно, что комплекс Mdm2-MdmX связывается также с p53-индуцируемым ингибитором клеточного цикла белком p21 и способствует его разрушению в 20S протеасомах [64]. Вблизи промотора гена MDM2 расположен полиморфный участок (SNP309). Замена одного нуклеотида в этом участке приводит к большей активности гена, а следовательно – к пониженному уровню p53 и предрасположенности к злокачественным заболеваниям [63]. Помимо белка Mdm2, убиквитинирование p53 осуществляют еще нес-

колько E3 лигаз, среди которых Pirh2 [65] и COP1 [66], как и Mdm2, сами являются продуктами генов, стимулируемых p53. По аналогии с Mdm2 белок Pirh2 способен связываться с другими белками (p27Kip1 и pRB) и способствовать их убиквитин-независимому разрушению в 20S протеасомах [64, 67, 68]. Таким образом, p53-регулируемый белок Pirh2 способствует снятию блока клеточного цикла, вызываемого белками p27Kip1 и pRB, что усиливает p53-зависимый апоптоз. Список E3 лигаз, способствующих разрушению p53, продолжает расти и включает CARP1/2 [69], TOPORS [70], Synoviolin [71] и TRIM24 [72, 73].

Под влиянием стрессов скорость разрушения белка p53 замедляется, вызывая его накопление. В основе стабилизации p53 лежит множество механизмов. Белок p19ARF, продукт альтернативного сплайсинга гена, кодирующего также ингибитор клеточного цикла, белок p16, способен связываться с белком Mdm2 и уводить его в ядрышко, замедляя тем самым экспорт p53 в цитоплазму, где он разрушается в 26S протеасомах [74]. В нормальных клетках уровень белка p19ARF низок, однако он стремительно повышается после активации онкогенов, тем самым вызывая накопление транскрипционно-активного ядерного белка p53 [75]. Взаимодействие белков p19ARF и Mdm2, в свою очередь, регулируется E3 лигазой ARF-BP/MULE, которая связывается одновременно и с белком p19ARF и с белком Mdm2, чем препятствует подавлению Mdm2, а также самостоятельно убиквитинирует p53 и способствует его разрушению [42, 76]. Этот механизм, вероятно, помогает снижать уровень белка p53 после удаления источника стресса.

Стабилизация p53 при рибосомном стрессе может проходить по иному механизму: рибосомные белки L5, L11 и L23 связываются с белком Mdm2 и препятствуют его взаимодействию с белком p53 [77–80]. Еще один механизм контроля разрушения белка p53 связан с действием белка HAUSP, который удаляет убиквитин с молекулы белка p53 и тем самым способствует его стабилизации [81]. Одновременно HAUSP препятствует убиквитинированию самого белка Mdm2 [82, 83], причем этому процессу способствует белок DAXX [84]. Интересно, что продукт опухолевого супрессора RASSF1A разрушает белковый комплекс Mdm2-DAXX-HAUSP и, способствуя разрушению белка Mdm2, вызывает накопление белка p53 [85].

Стабилизация и активация белка p53 происходит также путем модификаций белковой молекулы, препятствующих действию E3 лигаз, и качественно меняющих параметры активности белка p53.

Вообще p53 являет пример белка, подвергающегося исключительно разнообразным посттрансляционным модификациям. Описано, по меньшей мере, 36 различных положений в последовательности аминокислот, по которым могут происходить модификации белка p53 [86] [87]. Модификации, приводящие к стабилизации белка p53 наиболее часто связаны с фосфорилированием N-концевых серинов 15 и 20 под действием киназ, таких как ATM/ATR/DNA-PK, Chk1 и Chk2. Именно этот участок молекулы белка p53 отвечает за связывание с белком Mdm2, и поэтому фосфорилирование сопровождается вытеснением Mdm2, отменой подавления транскрипционного домена и стабилизацией белка p53. Фосфорилирование отмечается очень быстро в ответ на многие стрессы, включая повреждения ДНК [88–90]. Однако стабилизация p53 может осуществляться и с использованием альтернативных механизмов, а роль модификаций белка в разных тканях может существенно различаться [91, 92].

### **III. p53 УБИВАЕТ ИЛИ ОСТАНАВЛИВАЕТ ДЕЛЕНИЯ ПОВРЕЖДЕННЫХ И ГЕНЕТИЧЕСКИ ИЗМЕНЕННЫХ КЛЕТОК, ТЕМ САМЫМ СНИЖАЯ ВЕРОЯТНОСТЬ ВОЗНИКНОВЕНИЯ РАКА**

Способность гена p53 останавливать пролиферацию клеток была известна давно, и именно поэтому он был причислен к генам-супрессорам злокачественного роста. При введении неповрежденного мутациями гена p53 в опухолевые клетки происходит подавление их пролиферации и способности образовывать колонии в культуре клеток, в то время как в нормальных фибробластах такого эффекта не наблюдается. Впоследствии было установлено, что прекращение пролиферации опухолевых клеток связано с несколькими процессами, которые запускаются p53 и носят тканеспецифический характер. Причина, по которой опухолевые клетки подлежат избирательной супрессии, лежит в их ненормальности, причем поскольку в ходе многоступенчатого канцерогенеза раковая клетка накапливает множество патологических изменений, введенный в такие клетки p53 одновременно получает сигналы от нескольких источников, что приводит к немедленной стрессовой стимуляции и проявлению максимально выраженных активностей p53.

Супрессорная активность p53, по большей части, связана с его функционированием в качестве транскрипционного фактора, а характер его воздействия на клетку определяется набором продуктов p53-регулируемых генов. Помимо транскрипционной функции p53

может действовать также в митохондриях, где он напрямую участвует в индукции апоптоза, взаимодействуя с белками BclXL/Bcl2 и Bak, что приводит к выбросу цитохрома С [32, 93–97].

Действуя как специфический транскрипционный фактор p53 индуцирует множество генов. Список p53-индуцированных генов постоянно пополняется, и это объясняется тем, что в разных клеточных моделях набор генов, индуцированных p53, сильно различается. Различается спектр p53 индуцированных генов также в зависимости от характера индуктора, а также от условий, в которых клетки пребывают в данный момент. Наиболее экстремальный исход активации p53 – индукция p53-зависимой клеточной смерти, что приводит к необратимому удалению поврежденной клетки из организма. Гены, контролируемые p53, участвуют в индукции клеточной смерти по нескольким альтернативным механизмам.

Белок p53 индуцирует транскрипцию про-апоптозных генов, регулирующих митохондриальные поры – PUMA [98, 99], NOXA [100], BAX [101], OKL38 [102], репрессирует анти-апоптозные гены Bcl2 [103] и ARC [104] и активирует ген APAF1 [105–107], в результате чего происходит активация митохондриального пути апоптоза, сопровождаемая выходом в цитозоль цитохрома с, сборкой апатосом и запуском протеолитического каскада с участием инициаторной каспазы 9 [108]. Этот путь индукции апоптоза под действием p53 доминирует во многих клеточных системах, подвергнутых сильным стрессам [96].

Белок p53 может также активировать внешний путь апоптоза, который использует репрессоры смерти, расположенные на поверхности клетки, и протеолитический каскад, запускаемый инициаторной каспазой 8 [108]. В некоторых клеточных системах активированный p53 усиливает транскрипцию генов FAS (APO1) [109] и KILLER/DR5 [110] повышая тем самым чувствительность клеток к внешним лигандам этих рецепторов смерти [111], а также индуцирует синтез самих лигандов – TRAIL [112] и Fas [113].

Белок p53 способен вызывать гибель клеток через индукцию ряда других генов, таких как каспаза 10 [114], PERP [115], PIDD [116], WIP1 [117], Scotin [118], p53AIP1 [119], GML, STAG1, p53CABC1, p53RDL1 [120], принимающих участие в апоптозе или участвующих в других формах клеточной смерти. p53-зависимая индукция ряда генов (PIG3, PIG8 [121], FDXR [122]), сопровождаемая выбросом АФК, способствует усилению апоптоза [121].

Наконец, белок p53 может контролировать нетранслируемые микро РНК, которые участвуют в регуляции ряда других генов

[123–127]. Искусственное подавление р53-активируемой miR34 ослабляет р53-зависимый апоптоз в ответ на генотоксические воздействия, что указывает на вклад этого механизма в супрессорную активность р53.

Наряду с индукцией клеточной смерти белок р53 может останавливать деления клеток, влияя на прохождение клеточного цикла. Ингибитор циклин-зависимых киназ CDK2/4 p21 (продукт гена CDKN1A), был первой идентифицированной транскрипционной мишенью р53 [128]. Кроме того, белок р53 индуцирует ряд других генов, ограничивающих прохождение клеточного цикла, таких как 14-3-3σ, GADD45, BTG2, B99/GTSE-1, REPRIMO, HZF, MCG10 [129–133].

Индукция белка р21 происходит даже при незначительных повышениях активности р53, что приводит к кратковременной задержке клеток в поздней фазе G1, до начала синтеза ДНК. Вероятно, задержка клеточного цикла с помощью р21 позволяет клетке устранить незначительные повреждения, после чего уровень р53 возвращается к норме и клетка вновь может совершать деления.

В некоторых клеточных системах, даже в ответ на значительные повреждения ДНК клетка не уходит в апоптоз, но необратимо прекращает деления. Состояние необратимой остановки клеточного цикла проявляется в форме клеточного старения (senescence). Это состояние иногда называют репликативным старением, поскольку такая же остановка возникает при предельном укорочении теломер в результате длительного пассирования нормальных клеток в культуре. р53-зависимое репликативное старение играет определяющую роль в супрессии карцином и сарком при фармакологической реактивации р53 или при введении р53 дикого типа с помощью вирусных векторов [134, 135]. В отличие от временной приостановки делений при индукции р21, репликативное старение характеризуется рядом признаков, среди которых наиболее заметным является экспрессия кислот бета-галактозидазы, повышение внутриклеточного уровня АФК и индукция ингибитора CDK p16 [136, 137].

Классическое состояние репликативного старения возникает при превышении предела допустимого числа клеточных делений в культуре. Оно связано с критическим укорочением теломер, вызывающим индукцию р53 [138, 139]. В большинстве нормальных клеток активность теломеразы практически отсутствует. Поэтому репликативный ресурс клетки зависит от протяженности теломер. Репрессия гена теломеразы (hTERT) осуществляется белком р53, хотя механизм репрессии не совсем понятен. По одной модели белок р53

связывает транскрипционный фактор Sp1, препятствуя активации промотора гена hTERT [140, 141]. Другая модель предполагает ведущую роль p53-индуцируемого продукта гена CDKN1 (белка p21) который участвует в сборке на промоторе гена hTERT репрессорного комплекса, содержащего продукт гена pRB связанный с E2F [142, 143]. Так или иначе, но утрата активности p53 сопровождается активацией транскрипции гена hTERT и появлением в клетке активной теломеры, способной репарировать теломеры, давая клетке возможность делиться без ограничений [144]. Утрата активности p53 приводит к иммортализации клеток, в то время как стрессовая активация p53 сопровождается индукцией репликативного старения. Но в основе этих активностей белка p53 лежат совсем разные механизмы.

Заметную роль в установлении состояния репликативного старения играет длительная индукция p53-зависимого p21, причем похожий эффект наблюдается даже в p53-негативных клетках при искусственной экспрессии белка p21 [145]. Свой вклад в установление p53-зависимого репликативного старения клеток вносят и другие p53-регулируемые гены, в том числе ген PAI-1 [146, 147], однако роль белка p21 в этом процессе доминирует. На это указывают опыты с мышами, экспрессирующими дефектный по апоптозной функции мутант p53, который, тем не менее, способен индуцировать белок p21. Такой мутант хорошо защищает мышей от образования опухолей, в строгой зависимости от экспрессии белка p21 [148–150]. Тем не менее, сама по себе делеция гена p21 у мышей не приводит к заметному повышению частоты опухолей [151].

Таким образом, путем исключения установлено, что ни нарушение p53-индуцируемого апоптоза, ни отсутствие функции p53 останавливать деления клеток и индуцировать состояние репликативного старения сами по себе недостаточны, чтобы заметно ослабить супрессорную функцию p53. Но какая же из активностей p53 наиболее важна для предотвращения развития опухолей? На первый взгляд, существование множества способов индукции клеточной смерти при участии p53 позволяет сделать вывод о его ключевой роли в апоптозе и других формах запрограммированной клеточной смерти. Действительно, мутант p53 с нарушенной способностью останавливать клеточный цикл, но с сохраненной апоптозной функцией, все еще способен эффективно защищать трансгенных мышей от образования спонтанных опухолей [152]. Но все-таки противоопухолевая активность p53 определяется не только его способностью вызывать апоптоз. Делеция у мышей гена PUMA, который необходим для апоптоза клеток многих типов в ответ на индукцию p53

[153], не сопровождается повышением частоты образования опухолей [154]. Кроме того, мутант p53, лишенный апоптозной функции, но способный вызывать остановку клеточного цикла, все еще хорошо защищает мышей от развития опухолей [155]. Результаты этих опытов ясно указывают на существование дополнительных p53-зависимых механизмов, вносящих вклад в противоопухолевую защиту.

#### **IV. КОНТРОЛЬ БЕЛКОМ p53 ТКАНЕВЫХ И ОРГАНИЗМЕННЫХ РЕАКЦИЙ НА ПОВРЕЖДЕННЫЕ И ИЗМЕНЕННЫЕ КЛЕТКИ**

Еще предстоит узнать, каков будет фенотип мышей с делецией обоих генов (PUMA и p21) и сохранят ли они способность противодействовать развитию опухолей. Однако, учитывая характер других p53-индуцируемых генов можно утверждать, что при выполнении своей противоопухолевой функции, p53 не ограничивается мерами сдерживания пролиферации неполноценных клеток. Существенная группа p53-регулируемых генов кодирует секретируемые факторы, которые влияют на тканевое окружение поврежденных клеток, препятствуя их выживанию и распространению. С помощью секретируемых факторов, индуцируемых p53, неполноценная клетка сигнализирует окружению о возникающей опасности, что позволяет мобилизовать тканевые и организменные защитные механизмы. Белок p53 индуцирует ингибитор активатора плазминогена PAI-1 [156], матриксную металлопротеиназу 2 (коллагеназу IV) MMP2 [157], маспин [158], ингибитор протеаз класса серпинов, который влияет на динамику организации внеклеточного матрикса и служит самостоятельным опухолевым супрессором [159]. Он регулирует также ген-супрессор метастазирования KAI1/CD82 [160], кодирующий белок семейства тетраспанинов. Белок KAI1 располагается на поверхности клетки, где взаимодействует с другими тетраспанинами, интегринами и хемокинами, влияя на процессы миграции клеток, клеточную адгезию, передачу сигналов. Белок KAI1 участвует также в процессе проникновения в клетку некоторых вирусов. Увеличение экспрессии KAI1 сопровождается снижением миграции и инвазивности клеток за счет эндоцитоза рецепторов эпидермального фактора роста [161].

Активация белка p53, вызванная, в частности, облучением клеток, приводит к индукции нескольких генов секреторных факторов, функция которых угнетает пролиферацию [162]. Воздействия, сопровождающиеся активацией p53 (например, при применении противораковой терапии) влияют и на окружающие нормальные

ткани, через факторы, секретируемые стрессированными клетками. Последствием индукции p53 может быть также изменение гормональной регуляции обмена веществ, поскольку в число наиболее часто индуцируемых под действием p53 генов входит IGF-ВР3 [163–165], кодирующий белок, связывающий инсулиноподобный фактор роста. Вероятно, этот механизм направлен непосредственно против поврежденной клетки, секретирующей IGF-ВР3, поскольку было показано, что связывание IGF-ВР3 с IGF-1 понижает выживаемость опухолевых клеток и повышает их чувствительность к апоптозу [166]. Однако, этот фактор может влиять и на окружающие нормальные клетки, вызывая снижение потребления глюкозы, что, возможно способствует ограничению распространения поврежденных клеток.

p53 влияет на образование новых кровеносных сосудов (неоангиогенез). Среди p53-индуцируемых генов обнаруживается несколько ингибиторов ангиогенеза. Тромбоспондин (TSP-1) [167], матриксный гликопротеин, взаимодействующий с множеством тканевых белковых факторов, в том числе подавляет необходимый для прорастания сосудов фактор роста фибробластов 2 [168]. Кроме того, p53 индуцирует родственный тромбоспондину ингибитор ангиогенеза ВА11, экспрессирующийся в мозге [169] а также GD-AIF, мало-охарактеризованный ингибитор ангиогенеза, секретируемый клетками глиобластомы [170]. Благодаря этим и другим факторам, как только в клетке возникают нарушения, вызывающие индукцию p53, в окружающую среду посылаются сигналы, препятствующие прорастанию в эту зону новых сосудов, что затрудняет дальнейшее размножение и распространение генетически измененных клеток.

Важную роль в супрессии возникновения опухолей может играть обнаруженная недавно способность p53 влиять на динамику эндосом и секрецию экзосом [171–173]. Эндосомы принимают участие в процессах передачи внутриклеточных сигналов, регулируя взаимодействие лигандов с соответствующими мембранными рецепторами [174]. В пузырьки эндосом происходит интернализация мембранных рецепторов связанных с лигандами, что обеспечивает их последующую доставку в различные структуры клетки. В процессе транспорта происходит модификация рецепторных комплексов, при этом часть рецепторов разрушается, а часть подлежит возвращению на поверхность клетки. Модуляция эндосомного транспорта может влиять на процесс передачи сигнала. Секреция через экзосомы происходит посредством мультивезикулярных телец (MVP) и представляет собой отдельный путь секреции, дополняющий классический путь через эндоплазматический ретикулум и аппарат Гольджи. Процесс экзосом-

ной секреции сопровождается отпочковыванием мембраны в просвет эндосом, при котором часть цитоплазмы оказывается внутри эндосомы, окруженной дополнительной мембраной. Такие MVP доставляются к поверхности клетки, сливаются с наружной мембраной, после чего находящаяся внутри эндосома, вместе с содержимым выходит наружу, становясь экзосомой. Примечательно, что пузырьки экзосом могут взаимодействовать с дендритными клетками, что способствует иммунизации организма против находящихся там антигенов [175]. Экзосомы могут также сливаться с другими клетками, способствуя передаче сигналов от клетки к клетке, а также взаимодействовать с матриксом и влиять на его состав [164, 175].

Недавно было установлено, что p53 регулирует транскрипцию ряда генов (TSAP6, Caveolin-1 и Chmp4C), так или иначе принимающих участие в динамике эндосом [171–173]. Активация TSAP6 способствует усилению экзосомной секреции [176], Caveolin-1, структурный компонент мембранных пузырьков кавеол, участвует в интернализации связанных с мембранами рецепторов, в том числе рецепторов эпидермального фактора роста и TGF- $\beta$  [177, 178]. Этот процесс усиливается при активации p53, приводя к уменьшению доступности рецепторов ростовых факторов и замедлению пролиферации [173]. Chmp4C является компонентом MVP, связывающимся с транспортируемыми грузами [179], и его активация также способствует экзосомной секреции. Роль p53 в динамике эндосомного транспорта еще предстоит подробно изучить. Интересна гипотеза о возможном участии эндосом в p53-индуцированной иммунизации организма против опухолевых клеток [180]. Из нее следует, что p53 может подавлять образование опухолей и на организменном уровне, когда повреждение в отдельной клетке приводит к мобилизации защитных систем всего организма.

## V. УЧАСТИЕ p53 В ПРОЦЕССАХ РЕПАРАЦИИ ДНК

Ошибки, возникающие при репликации ДНК могут приводить к накоплению мутаций что, в конечном счете, способствуют развитию злокачественных патологий. Если один из путей предотвращения мутаций включает временную приостановку делений, то другой элементарной мерой может быть активация процессов репарации ДНК. Белок p53 участвует в репарации ДНК на нескольких уровнях, причем не только за счет активации транскрипции определенных генов.

Установлено, что p53 может непосредственно узнавать повреждение на ДНК и связываться с поврежденными участками независимо от

последовательности ДНК. Так, p53 связывается с одноцепочечными участками ДНК и концами ДНК, возникающими в результате разрыва обеих цепей, может узнавать и связываться с неспаренными участками ДНК [181–186]. Связываясь, p53 участвует в узнавании повреждений, что далее служит сигналом для активации репарации ДНК или индукции апоптоза. Установлено также, что p53 может непосредственно участвовать в вырезании поврежденного участка ДНК за счет собственной 3'-5' экзонуклеазной активности и способности вызывать топологическую перестройку в поврежденном участке ДНК [181, 187, 188]. Благодаря своей экзонуклеазной активности p53 выполняет роль корректора для исправления ошибок ДНК полимеразы, вызванных недостаточностью ее экзонуклеазы [189] или праймазы [190]. Наконец, p53 непосредственно участвует в повышении точности считывания обратной транскриптазой [191–194]. Возможно, ферментативная активность p53 на ДНК является его наиболее древней функцией p53, играющей роль в поддержании генетической стабильности [195].

Следующий уровень участия p53 в процессах исправления повреждений ДНК включает его взаимодействие с множеством белков репарации – RAD51, 53BP1, BRCA1/2, BARD1, MDC1, HMG1, BLM, WRN, MRE1, RPA1, HEF-1, ERCC6, SNF5, DNApol $\alpha$ , mtDNApol $\gamma$  [196–204]. Взаимодействие с p53 может либо напрямую модифицировать активность систем репарации, либо, являясь частью механизма передачи сигнала о повреждении, приводить к активации p53 через соответствующие системы. Так, связываясь с ДНК в месте повреждения, p53 становится доступным для активирующих модификаций со стороны ДНК-зависимой протеинкиназы (DNA-PK) и киназ ATM и ATR.

Влияет p53 на репарацию и за счет своей транскрипционной активности. Среди таких мишеней p53 выявлено несколько участников системы глобальной репарации генома (ГРГ) – XPE (DDB2) и XPC [133, 205, 206]. При подавлении активности p53 в опухолевых клетках отмечается недостаточность системы ГРГ и преобладание репарации, совмещенной с транскрипцией (PCT) [132]. Под действием p53 стимулируется транскрипция гена ДНК полимеразы  $\eta$  и тем самым усиливается репарация ДНК вблизи репликационной вилки [207]. Факторы репарации неспаренных нуклеотидов – MSH2, PCNA, MLH1 и PMS2 также являются p53-индуцируемыми [208–211]. Наконец, белок p53 индуцирует ген гомолог  $\beta$ -субъединицы рибонуклеотид редуктазы p53R2 [212]. Если основная  $\beta$ -субъединица необходима для репликации ядерной ДНК в S-фазе, то p53R2 участвует в репли-

кации митохондриального генома и в репарации мтДНК [213, 214]. Видимо поэтому, кроме недостаточности репарации ДНК в клетках, дефектных по p53, наблюдается нестабильность ДНК митохондрий и нарушения их функции [215].

Благодаря способности p53 мобилизовать системы репарации ДНК клетки получают возможность эффективно залечивать повреждения во время вызванной повышением активности p53 временной задержке прохождения клеточного цикла.

## **VI. ФУНКЦИИ p53 ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ**

Являясь индуцируемым белком, p53 вызывает достаточно сильные эффекты в ответ на ряд стрессорных воздействий. Вызываемые стрессами эффекты затеняли другие активности p53, которые хотя и не связаны с сильными проявлениями, но играют, пожалуй, не меньшую роль в миссии p53 по обеспечению стабильности генома и соблюдения записанных в геноме программ. Накопившиеся в последние годы сведения позволили пересмотреть догму о том, что в отсутствии стрессов активность p53 практически не наблюдается.

Выяснилось, что функция p53 не ограничивается только мерами пресечения размножения и распространения поврежденных клеток. Активность p53 проявляется и при отсутствии каких-либо экстремальных повреждающих воздействий, в повседневной жизни, когда организм сталкивается с физиологическими нагрузками. Вероятно, по мере усложнения организмов, оправдывая свою исходную миссию контроля социального поведения клеток многоклеточного организма, ген p53 приобретал новые функции, устанавливая новые связи с компонентами других систем клетки, отработывая тонкие механизмы, позволяющие выполнять свою функцию наиболее избирательно и адекватно возникающим ситуациям.

Сейчас стало ясно, что белок p53 принимает участие в обыденной регуляции гомеостаза, вмешивается в нормальные физиологические процессы и способствует соблюдению оптимального баланса метаболических процессов. Он координирует прохождение сигналов по многочисленным сигнальным путям, своевременно мобилизует антиоксидантную защиту, определяет порядок обновления тканей и порядок мобилизации стволовых клеток. Возможно, благодаря своей способности ускорять или замедлять отдельные процессы, p53 определяет даже скорость старения организма. Новый взгляд на функцию p53 рассматривает его как координатор процессов адаптации организма, который каждодневно помогает отдельным клет-

кам справляться со своими функциями, а в случае непосильности задач – принимает меры к самоликвидации.

## VII. АНТИОКСИДАНТНАЯ ФУНКЦИЯ р53

При рассмотрении неблагоприятных факторов, способствующих образованию мутаций чаще всего упоминается облучение (гамма, рентгеновскими и УФ лучами), а также действие химических мутагенов, модифицирующих ДНК. На протяжении многих лет генотоксические воздействия были объектом для изучения механизмов активации р53 и поэтому роль р53 в устранении последствий этих обработок установлена достаточно хорошо. Хотя наиболее существенную роль в возникновении мутаций играют эндогенные АФК, которые постоянно образуются в организме и вызывают окисление ДНК [216]. Ежедневно в каждой клетке происходит окисление порядка 20 тысяч оснований [217].

Раньше считалось, что АФК являются неизбежным злом, безусловно вредоносными соединениями, вызывающими патологические процессы. Однако, в последнее время отношение к АФК существенно изменилось, поскольку оказалось, что они принимают участие во многих важных физиологических процессах. Значительная часть АФК образуется в качестве побочных продуктов аэробного метаболизма, главным образом в результате утечки электронов из митохондриальной электрон-транспортной цепи (ЭТЦ). При этом, вместо утилизации кислорода с образованием молекулы воды, электрон присоединяется к молекуле кислорода и образует супероксидный анионный радикал ( $O_2^{\cdot-}$ ) [3, 218, 219], который далее дает начало другим АФК, таким как перекись водорода ( $H_2O_2$ ), гидроксильные радикалы ( $\cdot OH$ ,  $OH^-$ ), алкоксильные/пероксильные радикалы ( $RO^*/ROO^*$ ). Большая часть супероксидного аниона образуется в комплексах I и III ЭТЦ и благодаря сильной заряженности они легко проникают через внутреннюю мембрану митохондрии и высвобождаются в матрикс [219, 220]. Супероксид быстро преобразуется дисмутазой (SOD) в молекулу  $H_2O_2$ , а также, при взаимодействии с переходными металлами (реакция Фентона) может давать начало высокорекреакционному гидроксильному радикалу. Однако, помимо митохондрий, АФК образуются и в пероксисомах, где используются для окисления жирных кислот; они также образуются как побочные продукты реакций детоксикации с участием цитохрома P450.

Благодаря своей способности вызывать окисление биологических молекул АФК действительно могут вызывать повреждения белков,

липидов и нуклеиновых кислот, что вносит вклад в мутагенную нагрузку на геном и способствует развитию патологических процессов. Однако перекись водорода играет важную физиологическую роль, являясь служит сигнальной молекулой во множестве регуляторных процессов, а также используется для защиты против инфекций [221]. Так, при активации лейкоцита за счет мембранного фермента NADPH-зависимой оксидазы происходит образование супероксидного аниона и его выброс или наружу, или в аутофагосому, приводя к гибели бактерий. Похожий механизм используется и в сигнальных путях, когда в результате активности NADPH-оксидазы происходит перенос электрона на молекулу кислорода с образованием супероксидного аниона, который быстро преобразуется в молекулу  $H_2O_2$ . Перекись водорода далее модифицирует редокс-чувствительные компоненты сигнальных путей (протеинфосфатазы, протеиназы, некоторые транскрипционные факторы) и тем самым выполняет сигнальную функцию. Таким образом, большинство взаимодействий между клетками, а также воздействие внешних белковых факторов, сопровождается импульсным повышением уровня перекиси водорода. В связи с этим клетка сталкивается с необходимостью удалять избыток АФК строго избирательно, чтобы антиоксидантные механизмы не нарушили нормальные сигнальные процессы.

Гомеостаз АФК поддерживается рядом антиоксидантных систем. Каталаза способна быстро и эффективно удалять избыток  $H_2O_2$ , имеющий преимущественно экзогенное происхождение. Глутатион пероксидаза также осуществляет катализ  $H_2O_2$  и липидных перекисей с использованием глутатиона, который в ходе реакции окисляется, и затем восстанавливается глутатион редуктазой [222]. Однако, роль этих высокоэффективных ферментов до сих пор не совсем ясна, поскольку генетические подходы с использованием нокаутных животных указывают на то, что и каталаза, и глутатион пероксидаза не играют важной роли в защите против эндогенно образующихся АФК, хотя именно эти АФК играют ведущую роль в развитии патологий и в старении [223–225]. Функцию удаления эндогенных  $H_2O_2$ , по всей видимости, несут пероксиредоксины, семейство тиоловых антиоксидантных ферментов, которые окисляются в процессе катализа, и затем подлежат восстановлению с помощью системы тиоредоксин – тиоредоксин редуктаза [226].

Изменение внутриклеточного уровня АФК происходит при ряде физиологических и патологических состояний, причем реакция клетки зависит как от типа клетки, так и от уровня АФК [227]. При превышении определенных уровней АФК возникает состояние

окислительного стресса, которое само по себе приводит к индукции p53. Активация p53 сопровождается подавлением пролиферации, развитием состояния репликативного старения и индукцией апоптоза [227, 228]. Таким образом, p53 предотвращает возможность пролиферации клеток с окислительными повреждениями ДНК и тем самым играет роль в профилактике патологий.

Примечательно, что треть всех генов, индуцируемых обработкой  $H_2O_2$ , являются транскрипционными мишенями p53 [229], а на транскрипционном уровне p53 способен индуцировать множество генов (например PIG3, PIG6, FDXR), продукты которых либо участвуют в производстве АФК, либо повышают чувствительность клеток к окислительному стрессу [121, 230, 231]. Эти обстоятельства указывают на возможную роль p53 в углублении состояния окислительного стресса, что, возможно, способствует развитию апоптоза за счет окислительного разрушения митохондриальных структур [121]. Некоторые другие гены, контролируемые p53 (PUMA, Bax, и др.), при их активации также вызывают повышение уровня АФК, однако они действуют косвенно, через индукцию апоптоза, при котором как правило происходит существенный выброс митохондриальных АФК.

Среди транскрипционных мишеней p53 есть также несколько генов с очевидной анти-оксидантной функцией. Например, p53 регулирует альдегид дегидрогеназу 4 ALDH12 [232], микросомальный гомолог глутатион трансферазы PIG12 [121], глутатион пероксидазу GPX1, супероксид дисмутазу SOD2 [233], каталазу [234], два представителя семейства сестринов SESN1 и SESN2 [235, 236], TIGAR [237], глутаминазу 2 GLS2 [238] а также p53INP1 [239]. На первый взгляд, эти данные парадоксальны, так как белок p53 способен повышать активность и про- и антиоксидантных генов. Ключевыми в разрешении данного парадокса явились опыты по выключению функции p53 в культурах клеток. Оказалось, что снижение уровня p53 во многих типах клеток, независимо от способа выключения (РНК интерференция, форсированная экспрессия MDM2, белка E6 вируса папилломы, доминантно-негативных мутантов p53) приводит к существенному повышению внутриклеточных уровней АФК [35]. Примечательно, что в культурах, полученных от p53<sup>-/-</sup> мышей, а также в тканях этих мышей, уровень АФК был также повышен, на фоне снижения уровня экспрессии нескольких p53-регулируемых антиоксидантных генов. Таким образом, даже при отсутствии стрессов, при нормальных физиологических условиях активность p53 требуется для поддержания экспрессии антиоксидантных генов, что указывает на антиоксидантную функцию p53 в нормальных клетках

и на достаточность базальных уровней p53 для выполнения этой функции [35, 240].

Что же влияет на способность p53 избирательно активировать про- и антиоксидантные мишени? Варьируя дозу p53 в клетках было установлено, что при низких уровнях активного белка p53, наблюдаемых в клетках, находящихся вне стрессов, или под легкой физиологической нагрузкой, p53 регулирует ряд антиоксидантных генов, таких как SESN1/2, GPX1 [35], TIGAR [237], catalase [234] и продукт гена CDKN1 белок p21 [35]. Эти гены наиболее чутко реагируют на низкие уровни белка p53. Понятно почему CDKN1 относится к числу этих генов, так как благодаря этому он может тонко регулировать пролиферацию, задерживая ее в случае превышения допустимого уровня АФК. Сильные стрессы, а также соответствующие им высокие уровни p53 вызывают индукцию генов, принимающих участие в индукции апоптоза, а также про-оксидантные гены [35]. Таким образом, способность p53 индуцировать те или иные гены и вызывать противоположные по сути реакции определяются силой стресса и уровнем экспрессии p53. При нормальных условиях и при физиологически-допустимых стрессах p53 работает как фактор выживания, помогая клетке справиться с нагрузкой и стрессом. После превышения определенного уровня стресса и повреждений, когда процессы репарации могут не увенчаться успехом, p53 действует как «терминатор», вызывающий генетическую гибель поврежденной клетки. Эти положения проиллюстрированы на рис. 1.

Роль антиоксидантной функции p53 в увеличении стабильности генома и ее вклад в супрессию опухолеобразования была установлена как в культуре клеток, так и на p53<sup>-/-</sup> мышах [35]. Выключение p53 приводило не только к повышению уровня внутриклеточных АФК, но и к существенному ускорению мутагенеза. При этом снижение уровня АФК путем добавления в среду антиоксиданта приводило к уменьшению частоты мутаций. Скармливание антиоксиданта p53<sup>-/-</sup> мышам приводило к существенному снижению частоты злокачественных лимфом, что указывает на ведущую роль повышенного уровня АФК в проявлении опухоленогенного фенотипа p53<sup>-/-</sup> мышей [35].

Антиоксидантная активность p53 выявлена недавно и поэтому ее механизмы требуют более глубокого изучения. Вполне ясны последствия индукции таких ферментов как каталаза и глутатион пероксидаза. Сложнее механизмы действия других p53-индуцируемых генов, обладающих антиоксидантной активностью. Сестрины являются членами небольшого семейства, состоящего из трех близкородственных генов (SESN1-3). Продукты этих генов

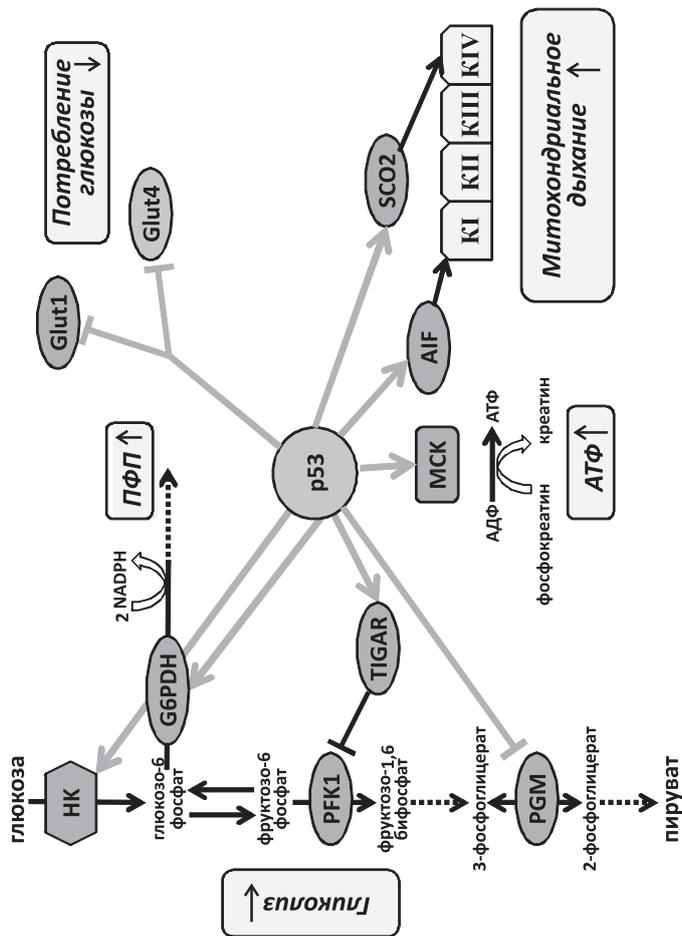


Рис. 1. Переключение функций белка p53 в зависимости от интенсивности стрессов или повреждений.

При физиологических условиях или незначительных стрессах малые уровни p53 стимулируют транскрипцию генов, обеспечивающих поддержание оптимального внутриклеточного гомеостаза. Функция этих продуктов направлена на повышение выживаемости клеток и их оптимальное функционирование. При сильных стрессах, вызывающих серьезные повреждения, происходит индукция большого количества транскрипционно-активного p53, что приводит к индукции другого набора генов, функция которых приводит либо к прекращению делений, либо к программированной клеточной смерти.

экспрессируются во многих типах клеток. Сестрины имеют участок, характеризующийся высокой степенью гомологии с бактериальным белком AhpD [241], который является тиоредоксин-подобным белком, играющим роль в регенерации бактериального пероксиредоксина AhpC [242].

В отличие от бактериальных пероксиредоксинов, являющихся устойчивыми ферментами, пероксиредоксины животных и человека легко инактивируются участвуя в каталитическом разложении  $H_2O_2$  из-за окисления их каталитического цистеина до сульфината Cys-SO<sub>2</sub>, который, в отличие от Cys-SO не способен к регенерации с помощью тиоредоксина, так как не может образовать с ним межмолекулярную дисульфидную связь [243–246]. Такое выключение пероксидазной активности пероксиредоксинов присуще только организмам, использующим  $H_2O_2$  в качестве сигнальной молекулы. При прохождении перекисного импульса антиоксидантная защита отключается, что позволяет модифицировать редокс-чувствительные мишени сигнальных путей. Однако, для предотвращения окислительного стресса, активность пероксиредоксинов постепенно восстанавливается, и этот процесс контролируется сульфиредоксином (восстанавливает Cys-SO<sub>2</sub> до Cys-SO) который далее может восстанавливаться тиоредоксиновой системой регенерации [247]. Сестрины принимают участие в регенерации Cys-SO<sub>2</sub> пероксиредоксинов [241], образуя комплекс с сульфиредоксином и контролируя скорость этого процесса, однако детали механизма действия сестринов в этом процессе пока не изучены.

Сестрины являются также негативными регуляторами mTORC1 пути, о чем будет более подробно описано в следующих разделах. Подавление mTORC1 может оказывать антиоксидантный эффект за счет торможения анаболических процессов, поэтому вклад каждой из активностей сестринов в их антиоксидантную функцию еще предстоит выяснить.

Вклад в антиоксидантную активность могут вносить также гены, способные активироваться при физиологическом уровне белка p53 и влияющие на метаболизм клетки. Подробно о роли этих генов будет сказано ниже. TIGAR, p53-индуцируемый регулятор гликолиза и апоптоза, является отдаленным структурным и функциональным гомологом бисфосфатазного домена бифункционального фермента 6-фосфофрукто-2-киназы/фрукто-2,6-бисфосфатазы [237]. Стимуляция экспрессии TIGAR приводит к снижению внутриклеточного уровня фрукто-2,6-бисфосфата, мощного позитивного аллостерического эффектора 6-фосфофрукто-1-киназы. Последний фермент служит

стимулятором гликолиза. Кроме этого фруктоза-2,6-бисфосфат служит аллостерическим ингибитором фруктоза-1,6-бисфосфатазы, которая стимулирует глюконеогенез [248]. Таким образом, в результате активации TIGAR происходит подавление гликолиза и накопление фруктоза-6-фосфата, который затем изомеризуется до глюкозо-6-фосфата, служащего субстратом для пентозо-фосфатного пути. Этот путь участвует в производстве NADPH, а следовательно способствует накоплению восстановленного глутатиона и снижению внутриклеточного уровня АФК. Соответственно, в клетках с форсированной экспрессией TIGAR наблюдается снижение уровня АФК, а при подавлении эндогенного TIGAR РНК интерференцией наблюдается обратная реакция [249]. Изменение редокс-баланса клетки при повышенной экспрессии TIGAR сопровождается повышением устойчивости к апоптозу, вызванному обработкой  $H_2O_2$ , что согласуется с вкладом TIGAR в антиоксидантную функцию p53. TIGAR относится к группе p53-регулируемых генов, реагирующих даже на незначительное повышение p53, хотя его экспрессия на значительном уровне наблюдается даже в клетках лишенных p53, что указывает на возможность его p53-независимой экспрессии [237].

Поскольку существенный вклад в общий уровень АФК клетки вносит митохондриальная ЭТЦ, изменение интенсивности окислительного фосфорилирования должно сказываться и на уровне АФК. Низкие уровни белка p53, характерные для нестрессированных клеток, необходимы и достаточны для экспрессии гена SCO2, который участвует в сборке цитохром C оксидазного комплекса в митохондриях – важнейшего участка потребления  $O_2$  [250]. В клетках лишенных активности p53 процессы митохондриального дыхания значительно ослаблены [250, 251], что теоретически может сопровождаться снижением продукции митохондриального супероксида и понижением уровня АФК [252]. Интересна также предложенная модель функции p53 – индуцируемого проапоптозного гена AIF при физиологических условиях [253]. Продукт этого гена обладает активностью NADPH-оксидазы [254], находится во межмембранном пространстве митохондрии и неким образом участвует в функционировании комплекса I ЭТЦ [255]. Недостаточность этого гена приводит к нарушению окислительного фосфорилирования, причем штамм мышей Арликин, имеющий инсерцию в области гена AIF, характеризуется хроническим окислительным стрессом и прогрессирующим нейродегенеративным процессом [256]. Однако наиболее известна апоптогенная активность AIF: в ответ на стрессы AIF, так же как и цитохром C, выходит через митохондриальную пору,

затем транспортируется в ядро, где вызывает апоптоз, независимый от каспаз [257, 258]. Развитие этой формы апоптоза требует активации полимеразы поли(ADP) рибозы (PARP-1) [259] и образование PAR-полимера, который способствует выходу AIF из митохондрий [260, 261]. Попадая в ядра AIF вызывает фрагментацию [262] и конденсацию [263] хромосом, непосредственно взаимодействуя с ДНК [262]. Способность AIF вызывать апоптоз не требует его NADPH-оксидантной активности [264], которая нужна исключительно для его митохондриальной функции [265]. Интересно, что p53 вызывает индукцию AIF на транскрипционном уровне в нормальных не стрессированных клетках, причем активация p53 стрессами не приводит к дальнейшему увеличению экспрессии AIF [253]. Таким образом, при физиологических условиях активируя AIF p53 осуществляет настройку функции окислительного фосфорилирования, и одновременно повышает готовность клеток к апоптозу при условии возникновения стрессовых ситуаций. Активация ЭТЦ может несколько повышать продукцию АФК, но отсутствие AIF ведет к нарушению функционирования митохондрий, что также сопровождается выбросом АФК.

Фосфоглицерат мутаза (PGM), регулирующая баланс митохондриального дыхания и гликолиза в энергетике клетки, также контролируется p53. Этот ген p53 регулирует строго тканеспецифически: в фибробластах p53 служит посттранскрипционным репрессором PGM [266], подавляя гликолиз и стимулируя дыхание, а следовательно и продукцию АФК, в то время как в мышечных клетках, белок p53 активирует PGM на транскрипционном уровне [267] и тем самым стимулирует гликолиз, что может оказывать антиоксидантное действие [252, 268]. Другой p53-регулируемый ген GLS2, кодирующий глутаминазу 2, активирует глутаминовый метаболизм и способствует усилению митохондриального дыхания. Повышение экспрессии GLS2 стимулирует синтез глутатиона, что вносит вклад в антиоксидантную защиту [238].

Помимо значения транскрипционной активности p53 в его антиоксидантной функции при физиологических нагрузках определенную роль в этом процессе может играть фракция p53, направляемая в митохондрии. Как уже упоминалось, часть белка p53 участвует в индукции апоптоза путем прямого взаимодействия с белками семейства Bcl2 [93, 95]. Однако, попадая в митохондрии, p53 не обязательно вызывает апоптоз [269]: при отсутствии серьезных стрессов он может даже способствовать выживаемости клетки путем повышения стабильности митохондриального генома. Белок p53 связывается с

митохондриальной ДНК полимеразой  $\gamma$  и усиливает репликацию митохондриальной ДНК [270]. Таким образом, белок p53 может оказывать разностороннее действие на физиологию митохондрий, что объясняет, почему в p53<sup>-/-</sup> клетках наблюдается существенное истощение митохондриальной ДНК, уменьшение митохондриальной массы и уменьшение соотношения митохондриального супероксида и  $H_2O_2$  [215].

До сих пор остается невыясненным вопрос о том, может ли антиоксидантная активность белка p53 индуцироваться в ответ на физиологические нагрузки, или она постоянно функционирует в отсутствие стрессов. Повышенные уровни АФК приводят к активации белка p53 несколькими способами, в том числе за счет ковалентных модификаций белковой молекулы p53. Однако, большинство из этих модификаций не являются специфичными для АФК. Белковая молекула p53 имеет два кластера редокс-чувствительных цистеинов, окисление которых влияет на его ДНК-связывающую активность [252, 271]. Окисление этих цистеинов сопровождается S-глутатионилированием, приводящим к снижению общей ДНК-связывающей активности белка p53 [272, 273]. В то же время существуют данные, свидетельствующие о том, что окисление отдельных цистеинов может изменять специфичность p53 в отношении связывания с элементами ДНК разных p53-индуцируемых генов [274]. Это, в свою очередь, может иметь значение для избирательной экспрессии отдельных групп генов в ответ на окислительные воздействия. Показано также, что ряд редокс-активных ферментов (тиоредоксин, тиоредоксин-редуктаза, APE/Ref-1) могут модулировать активность p53 [199, 275, 276], что допускает возможность регуляции антиоксидантной активности в ответ на физиологические нагрузки [277].

Еще один p53-регулируемый антиоксидантный ген TP53INP1 индуцируется при стрессах, причем в клетках с нарушенной функцией этого гена наблюдаются высокие уровни АФК [239]. Форсированная экспрессия TP53INP1 в p53-дефицитных клетках приводит к снижению АФК, что указывает на p53-независимый характер его антиоксидантной активности. В то же время, при выключении TP53INP1 в клетках, экспрессирующих p53, наблюдается нарушение p53-зависимой индукции ряда генов, в том числе про-апоптозных PUMA и Bax, а также и антиоксидантных сестринов и генов CDKN1a (p21) и TAr73). Активация связана со способностью TP53INP1 взаимодействовать с ПК HIPK2 и PKC $\delta$  в фосфорилировании p53 по Ser46 [278–280]. Модификация этого остатка серина в p53 ранее считалась

особенно значимой для индукции p53-зависимого апоптоза [281], хотя теперь становится ясным, что она важна и для других функций, в том числе для антиоксидантной активности.

Менее понятна p53-независимая функция TP53INP1, ответственная за снижение уровня АФК. Мыши, дефицитные по TP53INP1 предрасположены к развитию рака толстого кишечника на фоне хронического воспалительного процесса, сопровождаемого повышенным уровнем АФК [282], что предполагает роль этого гена в качестве самостоятельного опухолевого супрессора. Возможно, некоторые из p53-независимых функций опосредуются близкородственным геном p73, поскольку TP53INP1 может индуцироваться и в ответ на TAp73 [283]. Альтернативное объяснение, возможно, связано с недавно идентифицированным близкородственным геном TP53INP2, который вместе с TP53INP1 произошел путем дупликации общего предка. TP53INP2, в ответ на голодание или при обработке ингибитором mTOR рапамицином и ингибитором PI3K вортманнином перемещается из ядра в аутофагосомные структуры, где взаимодействует с Atg8, LC3-подобными белками и с трансмембранным белком аутофагосомы VMP1 [284]. Таким образом, TP53INP2 задействован в механизме индукции аутофагии, причем в клетках дефектных по экспрессии продукта этого гена аутофагия практически подавлена [285]. В свете роли TP53INP2 антиоксидантная активность TP53INP1 также может оказаться связанной с этим процессом, хотя это предположение пока не подтверждено в эксперименте.

## VIII. РОЛЬ БЕЛКА p53 В РЕГУЛЯЦИИ МЕТАБОЛИЗМА

Изучая процессы метаболизма в раковой клетке, можно выяснить специфические особенности, обязанные своим проявлением отсутствию активности p53. Но рак является патологией, его возникновение и стадии развития, очевидно, не подлежали эволюционному развитию, поскольку из-за летальности заболевания эти признаки не могли закрепляться в потомстве. Поэтому понимание механизмов противоопухолевой активности p53 следует искать, изучая нормальные процессы, на которые влияет этот ген.

До последнего времени исследования p53 были, в основном, связаны с изучением механизмов, регулирующих деления и смерть клеток, поскольку именно в нарушении регуляции этих процессов виделась основная причина рака. На рубеже XXI века были сформулированы, ставшие классическими, 6 основных признаков раковой клетки [286]. Они включают (1) самодостаточность в отношении

сигналов, побуждающих клетку к делению; (2) нечувствительность к сигналам, подавляющим рост; (3) способность к бесконечному росту; (4) способность стимулировать ангиогенез; (5) способность к прорастанию вглубь тканей и образовывать метастазы и, наконец, (6) – нарушение процессов запрограммированной клеточной смерти. Из предыдущих разделов становится ясным, что p53, являясь универсальным опухолевым супрессором, противодействует каждому из перечисленных признаков. Однако, список основных признаков раковой клетки следует дополнить еще седьмым важнейшим свойством – способностью к метаболической трансформации, без которой клетка не может интенсивно делиться в условиях ограниченных ресурсов нормальных тканей.

Метаболическая трансформация раковых клеток в значительной степени связана с утратой активности p53. Подробнее о механизмах метаболической трансформации будет сказано ниже, но прежде мы сочли уместным осветить роль p53 в регуляции обмена веществ в нормальных тканях.

### **IX. БЕЛОК P53 КОНТРОЛИРУЕТ СОБЛЮДЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОГО БАЛАНСА МЕЖДУ ГЛИКОЛИЗОМ И АЭРОБНЫМ ДЫХАНИЕМ**

Энергетические затраты клеток значительно различаются в зависимости от их тканевой принадлежности, физиологического состояния, пролиферативного статуса и т.д. В нормальных клетках главным внешним источником энергии служит глюкоза, которая путем гликолиза и последующего окислительного фосфорилирования ацетил-КоА превращается в энергию АТФ. Гликолиз представляет собой древний анаэробный процесс в цитоплазме, в результате которого из одной молекулы глюкозы образуются две молекулы пирувата и по две молекулы АТФ и NADH. Следующий аэробный этап в митохондриях завершает окисление глюкозы, давая около 30 молекул АТФ. Несмотря на высокую эффективность аэробного дыхания, этот процесс протекает относительно медленно, в то время как гликолиз позволяет чрезвычайно быстро синтезировать АТФ. В дополнение к своей важной энергоснабжающей функции митохондриальный цикл трикарбоновых кислот служит основным источником метаболитов, используемых в анаболических процессах. При постоянном расходовании метаболитов, изымаемых из цикла трикарбоновых кислот, цикл приостанавливается до тех пор, пока недостающие элементы не будут как-то восполнены [287]. Несмотря на очевидно большую

энергетическую эффективность аэробного дыхания, получение АТФ путем гликолиза может иметь преимущества в ситуациях, когда требуется быстрое высвобождение энергии – например, при интенсивном сокращении мышечных волокон [288], или при необходимости быстрого построения клеточных структур (мембран, оргanelл) в быстро пролиферирующих клетках [289]. В любом случае, соблюдение баланса между гликолизом и митохондриальной ветвью метаболизма подлежит строгой регуляции [290].

Белок p53 осуществляет координацию процессов энергетического метаболизма в зависимости от пролиферативного статуса клетки [228, 251], причем эта функция p53 осуществляется и при отсутствии стрессов, в нормальных физиологических условиях. Утрата активности p53 сопровождается повреждением функций аэробного дыхания и возрастанием зависимости клеток от гликолиза [291–293]. При модуляции активности p53 происходит также частичное переключение гликолиза на пентозофосфатный шунтовый путь [34, 228, 294, 295].

## Х. БЕЛОК p53 И ГЛИКОЛИЗ

Функции p53 влияют на метаболизм глюкозы на нескольких уровнях. В некоторых клеточных системах p53 может ослаблять транспорт глюкозы через плазматическую мембрану путем транскрипционной репрессии генов GLUT1 и GLUT4, которые кодируют белки-транспортёры глюкозы [296]. В других системах p53, напротив, стимулирует транспорт глюкозы путем усиления транскрипции гена для гексокиназы II [297], фермента, превращающего глюкозу в глюкозо-6-фосфат и тем самым инициирующего процесс гликолиза. На первый взгляд, такая активность противоречит функции p53 в качестве опухолевого супрессора, поскольку повышение активности гексокиназы II свойственно раковым клеткам [298]. В то же время, если допустить что в отсутствие сильных стрессов p53 играет роль фактора выживаемости, вполне резонно, что мягкое p53-зависимое увеличение ферментативной активности может помогать выходу клеток из состояния задержки клеточного цикла, вызванного недостатком энергетических ресурсов [299](см. также ниже). Белок p53 регулирует также фосфоглицерат мутазу (PGM) – фермент осуществляющий обратимую перестройку фосфоглицерата. p53-зависимое повышение транскрипции гена PGM значительно увеличивает пропускную способность гликолитического процесса [266]. Ген PGM содержит p53-респонсивный элемент, ответственный за транскрипционную активацию, по крайней мере, в кардиомиоцитах

[267]. Поскольку p53 также способен репрессировать экспрессию гена PGM на стадиях после транскрипции [266], это дополнительно усложняет регуляцию.

Как уже упоминалось в разделе об антиоксидантной функции p53, ген TIGAR, кодирующий гомолог бисфосфатазного домена 6-фосфофрукто-2-киназы, регулируемый p53, способен частично направлять метаболиты гликолиза по пентозофосфатному пути, что обеспечивает синтез NADPH, глутатиона, а также синтез рибозы, необходимой для синтеза нуклеотидов [237]. Интересно, что p53 активирует также глюкозо-6-фосфат дегидрогеназу (G6PD) [300], осуществляющую важную стадию пентозофосфатного пути [301]. Вероятно, подавление гликолиза и активация пентозофосфатного пути способствует выживаемости клеток, помогая им оправляться после незначительных повреждений [228].

Одной из первых идентифицированных транскрипционных мишеней p53 был ген мышечной креатинкиназы (МСК) [302]. Функциональный p53-респонсивный элемент обнаружен также в гене, кодирующем изоформу креатинкиназы, экспрессируемую в мозге [303]. Креатинкиназа восстанавливает истощенные запасы АТФ, фосфорилируя АДФ за счет потребления фосфокреатина, который служит резервуаром энергии в тканях, способных резко увеличивать потребление АТФ, например в скелетных мышцах, мозге, в гладкой мускулатуре. Таким образом восстановление уровня АТФ под действием p53 помогает поддерживать внутриклеточный гомеостаз и способствует выживаемости клеток.

## **XI. СТИМУЛЯЦИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ДЫХАНИЯ**

Подавление p53 приводит к заметному нарушению биогенеза митохондрий [291], снижению потребления кислорода [250] и стимуляции гликолиза, что идет параллельно с увеличением секреции молочной кислоты. Общий уровень продукции АТФ в p53<sup>-/-</sup> клетках не уменьшается, однако если в p53<sup>+/+</sup> клетках соотношение долей АТФ, произведенных путем гликолиза и в митохондриях составляет 1:3, то в p53<sup>-/-</sup> клетках оно увеличивается до 3:1 [250], что указывает на роль p53 в продукции митохондриальной АТФ. Ответственный за эту роль ген SCO2 регулируется базальными уровнями p53 [250]. SCO2 кодирует белок, играющий роль шаперона при сборке митохондриального комплекса IV (цитохром *C* оксидазы) [304]. Пониженный уровень аэробного дыхания в клетках, лишенных активности p53 может быть восстановлен путем введения генетических конструкций,

экспрессирующих SCO2 на физиологическом уровне. Снижение продукции АТФ митохондриями и усиление гликолиза наблюдается также при делеции одной аллели гена SCO2. Полученные результаты в совокупности подтверждают роль p53 в контроле гена SCO2 даже в отсутствии стрессов, хотя не отрицают возможную роль других p53-регулируемых генов в энергетической функции митохондрий. Одним из таких генов может быть p53-регулируемый AIF, который участвует в сборке комплекса I митохондриальной ЭТЦ [255], другим – ген глутаминазы 2 GLS2, который также регулируется p53 [238]. Глутаминаза стимулирует митохондриальное дыхание и синтез АТФ за счет увеличения производства глутамата и альфа кетоглутарата.

Поскольку недостаточность митохондриальной функции в p53-/- клетках легко компенсируется усиленным гликолизом, p53 может осуществлять координированную регуляцию баланса продукции АТФ. Кроме известных механизмов регуляции путем обратных связей, в поддержании уровня АТФ участвует целый спектр p53-регулируемых генов, продукты которых влияют на метаболизм глюкозы. Однако следует учитывать значительное разнообразие p53-зависимых процессов в клетках различных тканей, которые могут объяснить противоречивые результаты в на разных клеточных моделях. Роль белка p53 в регуляции гликолиза и аэробного дыхания отображена на рис. 2.

Регуляция функций p53, направленных на поддержание гомеостаза метаболических процессов осуществляется за счет значительно меньших изменений его уровня и активности, по сравнению с проявлениями p53 при индукции сильными стрессами или при смертельных повреждениях. Результаты, полученные в экспериментах с бесклеточными системами, косвенно свидетельствуют в пользу влияния на транскрипционную активность p53 энергетического статуса клетки, за счет его прямого взаимодействия с метаболитами. В частности, молекула ADP может связываться с тетрамерной формой p53, способствуя ее взаимодействию с ДНК-элементами [305], в то время как связывание АТФ (или GTP) и NAD<sup>+</sup> действуют в обратном направлении [305, 306]. Однако, пока отсутствуют данные о возможной регуляции p53 метаболитами на неразрушенных клетках, и, безусловно, этот вопрос требует дальнейшего изучения.

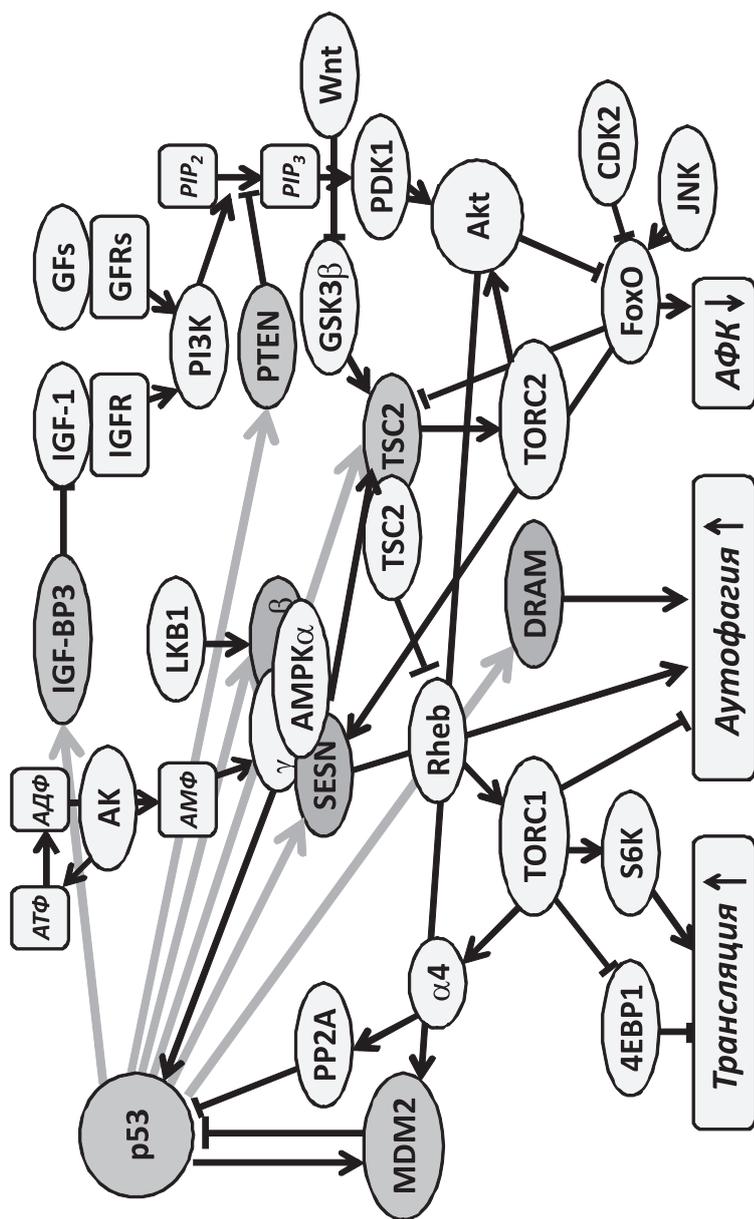


Рис. 2. Влияние p53-индуцированных генов на процессы гликолиза и митохондриального дыхания. Физиологические уровни p53 обеспечивают притормаживание гликолиза, активацию пентозофосфатного пути и активацию аэробной фазы дыхания. Также, в некоторых тканях p53 способствует регенерации АТФ за счет запасов фосфокреатина.

## ХП. p53 И ЭФФЕКТ ВАРБУРГА

В процессе злокачественной трансформации клетки претерпевают ряд изменений, которые позволяют им выживать и автономно размножаться в организме, давая начало опухоли. Одним из важнейших признаков раковых клеток является трансформация их метаболизма, при которой происходит переключение метаболических процессов в сторону преобладания гликолиза как способа получения энергии. Это свойство опухолевой клетки было описано еще в двадцатые годы прошлого века Отто Варбургом, который отметил склонность опухолей к «аэробной ферментации», то есть к преобладанию гликолитического пути даже при достаточном снабжении кислородом [307–309]. Варбург считал, что процесс канцерогенеза запускается после того как в клетке по каким-либо причинам необратимо повреждается аэробное дыхание, что ведет за собой селекцию «более примитивных и менее дифференцированных клеток», которым «удалось заменить необратимо утраченное дыхание энергией ферментации» и которые при этом начинают «расти с дикой скоростью» [307].

Варбург первым выдвинул предположение, что в основе рака лежит повреждение митохондрий, в результате которого окислительное фосфорилирование компенсируется интенсивным гликолизом. Подобная метаболическая трансформация характерна для большинства опухолей, и на этом признаке основан широко применяющийся метод диагностики рака (позитронно-эмиссионная томография или ПЭТ), который выявляет участки, интенсивно ферментирующие глюкозу. Это же свойство используется в недавно предложенном весьма простом методе лечения рака с помощью дихлоруксусной кислоты, которая подавляет гликолиз блокируя превращение пирувата в лактат [310, 311]. Поскольку в раковых клетках регуляция митохондриального дыхания нарушена, они не могут компенсировать недостаток гликолиза и погибают. Хотя этот метод пока не дошел до стадии масштабных клинических испытаний (по причине дешевизны дихлоруксусной кислоты и отсутствия интереса со стороны фарминдустрии) [310, 311], в настоящее время ведется разработка новых поколений комбинированных противораковых средств, включающих остаток дихлоруксусной кислоты в качестве одной из терапевтически активных групп [312].

Свойство, получившее название «эффект Варбурга», характерно для раковых клеток, но оно проявляется и в нормальных клетках, при их интенсивной пролиферации, например у лимфоцитов, гематопозитических и эмбриональных клеток [287, 313]. Хотя с энергетической точки зрения аэробный путь более эффективен, гликолитическое расщепление глюкозы до молочной кислоты осуществляется

очень быстро [314], а именно скорость извлечения энергии важна для интенсивно пролиферирующих клеток. Кроме того, пролиферирующие клетки постоянно потребляют метаболиты, (например NADPH, цитрат и глицерин – для синтеза липидов, рибозу – для синтеза нуклеотидов и т.д.) Часть этих материалов изымается из продуктов цикла Кребса, другая – из продуктов гликолиза и пентозо-фосфатного пути. Это означает, что значительная часть метаболизма начинает работать на потребление а не на производство АТФ. Недостаток АТФ легко покрывается быстрым расщеплением глюкозы. Но поскольку при этом интенсивность гликолиза начинает превышать возможности дальнейшего окисления пирувата, его избытки преобразуются в секретлируемый лактат, который может использоваться другими клетками.

Недавние исследования [228] указывают на то, что p53 участвует в оптимизации метаболических процессов в нормальных пролиферирующих клетках, направляя часть продуктов катализа глюкозы по пентозофосфатному пути, стимулируя синтез метаболитов для последующего биосинтеза НК, а также восстановление NADH, который может использоваться для перевода избытка пирувата в лактат, а также участвовать в синтезе глутатиона, способствуя нейтрализации АФК. В ответ на понижение уровня АТФ p53 индуцирует экспрессию гена SCO2, чем стимулирует окислительное фосфорилирование, компенсирующее недостаток АТФ. В то же время, накопившийся NAD<sup>+</sup> за счет аллостерического действия на p53 может стимулировать свое восстановление до NADPH через индукцию гена TIGAR.

Эффект Варбурга, наблюдаемый в раковых клетках не может быть объяснен только за счет нормальных сдвигов метаболизма, характерных для пролиферирующих клеток. Мутации, приводящие к необратимым нарушениям в различных сигнальных путях, неизбежно вызывают перекосы в функционировании всей регуляторной сети. Эти перекосы распознаются и приводят к активации p53, чем ограничивают пролиферацию поврежденных клеток или вызывают их апоптоз. Если в результате мутации произойдет утрата функций p53, запрет на неконтролируемое размножение будет снят, что откроет путь для конкуренции между измененными клетками за питательные вещества и кислород, и для отбора все более быстрорастущих клеток. Такие клетки преимущественно используют гликолиз и поэтому интенсивно синтезируют и секретируют молочную кислоту. Кислая среда особенно губительна для нормальных клеток, в то время как раковые клетки ее хорошо переносят [315]. Это обстоятельство создает дополнительные условия для селекции клеток, полагающихся на гликолиз,

тем более что по мере роста опухоли поступление кислорода ограничивается.

Повреждение p53 приводит к функциональной недостаточности митохондриального дыхания, за счет пониженной экспрессии SCO<sub>2</sub>, а также, возможно, и других p53-регулируемых компонентов дыхательной цепи [253, 281, 293, 303]. Отсутствие активности p53 увеличивает экспрессию транспортеров глюкозы, GLUT1 и GLUT4, фосфоглицерат мутаза и гексокиназы, а также понижает экспрессию TIGAR и глутаминазы 2. Все эти изменения стимулируют гликолиз. Состояние гипоксии, характерное для развивающейся опухоли, является индуктором p53, который не только сдерживает пролиферацию, но и тормозит образование кровеносных сосудов [316]. Но когда p53-зависимые механизмы сломаны, происходит усиление ангиогенеза. Кроме того, гипоксия индуцирует транскрипционный фактор HIF1 $\alpha$ , который дополнительно стимулирует экспрессию многих ферментов гликолиза и способствует ангиогенезу. Однако, несмотря на множество факторов, способствующих прохождению гликолиза при аэробных условиях, вклад нарушений p53 в этот процесс является наиболее весомым, поскольку именно утрата p53 создает возможность для отбора все более злокачественных вариантов клеток.

Суммируя современные данные об аэробном гликолизе можно констатировать, что выдвинутое почти столетие назад предположение Варбурга об участии нарушений митохондриальной физиологии в механизмах канцерогенеза, нашло убедительное подтверждение в наши дни.

### **ХIII. РЕГУЛЯЦИЯ БАЛАНСА АНАБОЛИЧЕСКИХ И КАТАБОЛИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ**

Рассматривая процесс деления клетки и механизмы контроля клеточного цикла до последнего времени мало внимания уделялось изучению энергетического обеспечения клеточных делений. Для того чтобы клетка поделилась необходимо удвоение ее массы, то есть требуется затрата значительных ресурсов на построение необходимых компонентов – органелл, мембран, белков, НК и т.д. Рост по массе и процесс деления являются строго координированными процессами, ведь входя в деление, клетка должна иметь все необходимое, чтобы образовать две дочерние клетки. Но и в случае неделящихся клеток, в связи с меняющимися функциональными нагрузками и меняющейся доступностью питательных веществ, ростовых факторов и гормонов клетка встает перед выбором – либо продолжать наращивать массу,

либо, при ограничении внешних ресурсов, использовать часть своей массы для обеспечения процессов жизнедеятельности.

Для регуляции этих процессов в клетке существуют системы, реагирующие на сигналы от ростовых факторов и гормонов, а также на доступность питательных веществ и меняющееся энергетическое состояние клетки (соотношение АМР и АТР). Основным интегратором поступающих сигналов является комплекс, образуемый продуктами генов *TSC1* и *TSC2* (гамартином и туберином, соответственно). Схема процессов, регулируемых продуктами этих генов приведена на рис. 3. Оба гена являются опухолевыми супрессорами [317, 318] связанными с редкой наследственной болезнью – туберозным склерозом, характеризующимся появлением множественных системных доброкачественных опухолей (туберсов или гамартом), поражающих мозг, внутренние органы и кожные покровы [319]. Эти два белка с молекулярным весом 140 и 200 кД и не родственны друг другу и не имеют выраженной гомологии с другими белками, за исключением С-концевого домена *TSC2*, гомологичного GTPase-активирующему белку *Rap1GAP*. Оба белка образуют гетеродимерный комплекс, в котором *TSC1* стабилизирует *TSC2* от убиквитинилирования и разрушения в протеасомах [320, 321]. Функция белков взаимозависима, так что подавление каждого из них в отдельности или вместе приводит к одинаковым последствиям [322]. Регуляция активности *TSC1-TSC2* комплекса осуществляется за счет фосфорилирования несколькими ПК по крайней мере пяти сайтам в *TSC1* и одиннадцати сайтам в *TSC2* [323], причем если модификация одними ПК (AMPK, GSK3 $\beta$ , REDD) вызывает активацию, то другие ПК (Akt/PKB, CDK1, IKK $\beta$ , ERK, RSK1), напротив, подавляют функцию *TSC1-TSC2* [323].

*TSC1-TSC2* комплекс выполняет функцию регулятора активности *mTOR* (mammalian target of rapamycin). Белок *mTOR* является важнейшим стимулятором кэп-зависимой трансляции и ингибитором процесса аутофагии [324–326]. Его функция направлена на интенсификацию анаболических процессов, что сопровождается увеличением массы клетки. Белок *mTOR* является каталитической субъединицей двух Ser/Thr киназных комплексов *TORC1* и *TORC2* [326]. Из этих комплексов только *TORC1* непосредственно участвует в регуляции белкового синтеза и роста клетки [324] в то время как *TORC2* участвует в регуляции подвижности клеток и организации цитоскелета через фосфорилирование PKC $\alpha$  и SGK1 [327, 328], а также влияет на выживаемость клеток через активирующее фосфорилирование Akt [324, 328]. В состав комплекса *TORC1*, помимо *mTOR* входят в качестве субъединиц белки PRAS40, mLST8 и RAPTOR; кроме этого, в

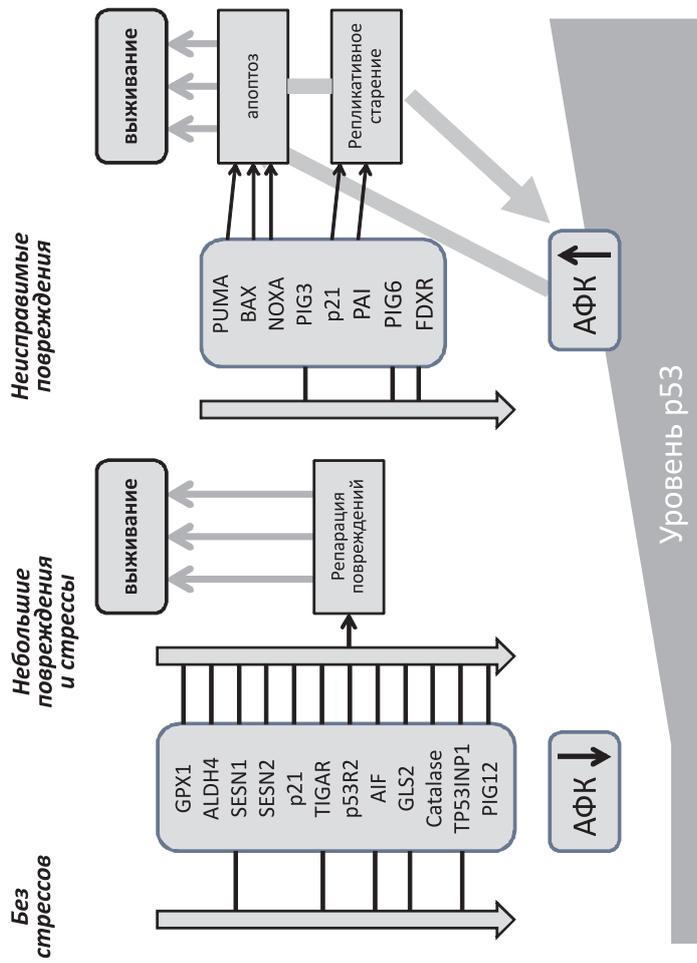


Рис. 3. Участие p53 в контроле анаболических и катаболических процессов.

p53 регулирует ряд генов, обеспечивающих торможение анаболических процессов путем подавления функции киназы mTOR. Кроме этого, p53-регулируемые гены осуществляют тонкую модуляцию процессов, контролируемых продуктом гена Akt. Наконец, p53 осуществляет контроль над процессом аутофагии, способствуя мобилизации внутренних энергетических и пластических ресурсов и репарации неделящихся клеток.

присутствии рапамицина комплекс FKBP12/рапамицин связывается с mTOR и подавляет активность TORC1 [329]. Комплекс TORC2 состоит из субъединиц mTOR, mLST8, Sin1 и RICTOR, и не подавляется рапамицином [329].

При получении стимулирующих сигналов через ростовые факторы происходит диссоциация TSC1 и TSC2 и связывание TSC2 с белками семейства 14-3-3 [330]. Это приводит к подавлению блокирующего действия TSC1-TSC2 комплекса в отношении TORC1, в результате чего активируется протеинкиназная активность TORC1, который фосфорилирует свои основные мишени – белок p70, являющийся киназой рибосомного белка S6 (S6K1) и белок, связывающий фактор инициации трансляции eIF4E (4EBP1). Фосфорилирование приводит к активации киназы S6K1 и подавлению 4EBP1, что стимулирует кэп-зависимую трансляцию. Фосфорилирование этих белков способствует сборке рибосом и усиливает трансляцию белков [329]. Одновременно TORC1 подавляет процесс аутофагии, который запускается при недостатке питательных веществ и истощении энергетических ресурсов клетки. Это происходит за счет фосфорилирования двух белков, участвующих в запуске процесса аутофагии – гомолога белка Atg1, продукта гена UNC-51-подобной киназы ULK1, и гомолога белка Atg13 [331]. Таким образом, активность TORC1 приводит к усилению анаболических процессов посредством активизации синтеза белка, и к подавлению катаболической активности путем остановки процесса самопереваривания части цитоплазмы. В результате проявления активности TORC1 происходит увеличение массы клетки.

Если комплекс TSC1-TSC2 находится в активированном состоянии, он блокирует активность TORC1 киназы. TSC2, за счет своего GAP домена (активирующего GTPазы) подавляет активность малой GTPазы Rheb, которая перестает активировать TORC1 [326, 332]. В противоположность TORC1, активность TORC2 не подавляется, а активируется посредством TSC1-TSC2 комплекса. Хотя механизм активации слабо изучен, установлено, что Rheb не принимает участия в регуляции TORC2. По-видимому, активация TORC2 происходит за счет прямого связывания TSC1-TSC2 комплекса с TORC2 [333]. Активированный TORC2 участвует в обратной связи, приводящей к выключению TSC1-TSC2: TORC2 является мощным активатором Akt, который, в свою очередь, фосфорилирует и подавляет TSC1-TSC2. Этот механизм приводит к снятию репрессии TORC1 и затуханию активности самого TORC2.

За счет переключения активности mTOR происходит либо активизация анаболических процессов, сопровождающихся увеличением

массы клетки, либо, наоборот, приостанавливается белковый синтез и активизируется процесс аутофагии, что обеспечивает адаптацию в зависимости от доступности питательных веществ.

#### XIV. КОНТРОЛЬ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО СТАТУСА КЛЕТКИ

Как уже указывалось, комплекс TSC1-TSC2 интегрирует информацию о доступности питательных веществ, сигналов от внешних ростовых факторов, а также об энергетическом состоянии клетки, и через TORC1 регулирует баланс анаболических и катаболических процессов. Комплекс TSC1-TSC2 получает информацию от двух групп ПК, действующих разнонаправлено. При истощении запасов АТФ происходит активация АМР-зависимой киназы АМПК, которая активирует TSC1-TSC2 и тем самым подавляет TORC1, в то время как при действии на клетку ростовых факторов и гормонов, сигнализирующих о возможности активации биосинтетических процессов в условиях достаточного поступления питательных веществ происходит активация Akt или иной киназы, которая осуществляет подавление TSC1-TSC2 комплекса и активацию TORC1.

В эти процессы вмешивается p53, который осуществляет контроль более высокого порядка, отслеживая координированное прохождение процессов и модулируя активность отдельных компонентов системы для оптимального выполнения функции. В частности, ген TSC2 является прямой транскрипционной мишенью для p53 [334, 335], что настраивает mTOR на большую зависимость со стороны факторов, которые подавляют его активность через TSC1-TSC2 комплекс. Другими словами, p53 способствует притормаживанию активности mTOR, хотя следует помнить, что как и при регуляции многих прочих мишеней p53, его влияние на TSC2 носит тканеспецифический характер [335].

Ограниченное поступление глюкозы, основного источника энергии клетки, вызывает истощение ресурсов АТФ. Аденилаткиназа быстро превращает две молекулы ADP в АТФ и АМР, чем частично восполняет запасы АТФ. АМПК обеспечивает поддержание энергетического баланса внутри клетки, а также баланса энергетического метаболизма всего организма [336]. Эту функцию АМПК осуществляет путем фосфорилирования ряда субстратов, таких как редуктаза HMG-Co и ацетил-CoA карбоксилаза (ACC). Это приводит к подавлению синтеза холестерина и жирных кислот, белкового синтеза через фосфорилирование TSC2, синтеза глюкозы в печени, ослаблению секреции инсулина. Одновременно АМПК стимулирует потребление

клеткой глюкозы, окисление жирных кислот и митохондриальное дыхание [337].

АМПК состоит из каталитической ( $\alpha$ ) и двух регуляторных ( $\beta$  и  $\gamma$ ) субъединиц [338]. Слабая активация АМПК происходит при связывании АМР с  $\gamma$ -субъединицей. Однако, более мощная активация происходит при фосфорилировании  $\alpha$ -субъединицы по Thr172 [339] Ca<sup>2+</sup>/кальмодулин-чувствительной киназой CamKKIIbeta и/или постоянно активной киназой LKB1. Интересно, что ген киназы LKB1 является опухолевым супрессором, подавляемым при ряде злокачественных заболеваний человека [340]. Из-за постоянной стимуляции со стороны LKB1 АМПК исходно активна, однако ее активность модулируется протеинфосфатазой 2С (PP2C), которая дефосфорилирует Thr172. Связывание АМР модифицирует конформацию АМПК таким образом, что она становится недоступной PP2C фосфатазе, в результате чего ее активность повышается [339, 341].

АМПК фосфорилирует TSC2 по Ser1345, что способствует его активации, и, кроме того, делает TSC2 доступным для последующего активирующего фосфорилирования по Ser1345 и Ser1337 киназой гликоген синтетазы GSK3 $\beta$  [342], что дополнительно активирует комплекс и вызывает глубокое угнетение функции TORC1. Интересно, что на этой стадии пересекаются активности АМПК и сигнального пути Wnt. Связываясь с рецепторами семейства Frizzled, белок Wnt стимулирует пролиферацию. Сигнальный путь Wnt подавляет активность GSK3 $\beta$ , чем снимает супер-активирующее действие GSK3 $\beta$  на TSC2. В результате происходит активация TORC1, требующаяся для пролиферации клеток [329].

Функции p53 и АМПК тесно взаимосвязаны.  $\beta$ -субъединица АМПК служит прямой транскрипционной мишенью p53 [334]. Эта субъединица является центральным компонентом АМПК, с которым затем связываются  $\alpha$  и  $\gamma$  субъединицы, причем именно она ответственна за внутриклеточное расположение и активность АМПК [343]. В свою очередь, p53 контролируется со стороны АМПК и LKB1. Киназа LKB1 образует комплекс с p53 и прямо или опосредованно фосфорилирует его по Ser15 и Ser392 [344]. В комплексе с p53 LKB1 связывается с регуляторными элементами CDKN1 (p21) и другими p53-регулируемыми генами и, фосфорилируя компоненты хроматина и транскрипционного аппарата, участвует в транскрипционной активации этих генов [344]. Активируясь, АМПК может фосфорилировать p53, но кроме этого она может неким образом активировать p53 промотор [345], что еще больше усиливает действие p53.

Подобно тому, как клетки приостанавливают деления в ответ на повреждение ДНК, происходит и регуляция пролиферации клеток в зависимости от доступности питательных веществ. При помещении в среду с низким содержанием глюкозы нормальные фибробласты входят во временную p53-зависимую задержку на границе G1/S фаз клеточного цикла, причем эта задержка зависит от АМПК и происходит даже при полностью активном mTOR. Приостановка клеточного цикла представляет собой фиксированную сверочную точку, ограничивающую дальнейшие деления при условии истощения энергетических запасов клетки. Метаболическая сверочная точка отсутствует в клетках p53-/- мышей. Более того, если нормальные p53+/+ фибробласты при помещении в бедную по глюкозе среду сравнительно устойчивы к последующему полному удалению глюкозы, p53-/- фибробласты оказываются незащищенными против такой обработки [346]. Таким образом, p53 помогает клеткам адаптироваться к снижению доступности глюкозы, приводя тем самым к увеличению их выживаемости в голодной среде.

Механизм активации метаболической сверочной точки включает прямое фосфорилирование p53 по Ser15, осуществляемое АМПК, что приводит к повышению его транскрипционной активности и остановке клеточного цикла за счет p53-регулируемых генов, таких как CDKN1-p21 [346]. Механизм снижения активности p53 после прекращения глюкозного голодания включает mTOR-индуцированное фосфорилирование протеинфосфатазы PP2A которая дефосфорилирует Ser15 на p53 [165]. Следует, однако, иметь в виду, что p53- и АМПК-зависимые реакции на снижение уровня глюкозы довольно сильно варьируют у разных типов клеток. Для нормальных тимоцитов и клеток линии остеосаркомы человека характерна индукция апоптоза, сопровождающаяся фосфорилированием p53 по Ser46 [345]. Апоптоз характерен также для клеток трансформированных онкогенами и имеющими дефектные сверочные точки из-за инактивации pRB, что подчеркивает зависимость выживаемости клеток под действием p53 от его способности вызывать приостановку клеточного цикла [334]. Также следует отметить, что выживаемость клеток, способных сдерживать прохождение клеточного цикла, может дополнительно усиливаться за счет стимуляции p53-зависимой аутофагии [347], при которой происходит мобилизация питательных веществ путем переваривания части цитоплазмы [348].

Как уже отмечалось, АМПК фосфорилирует TSC2 и тем самым выключает TORC1, приостанавливая анаболические процессы и

стимулируя катаболическую аутофагию. Но и процесс активации TSC2 также контролируется белком p53. Так, при условии гипоксии p53 и HIF1 $\alpha$  индуцируют ген REDD1, продукт которого активирует TSC2, вытесняя его из неактивного комплекса с белком 14-3-3 [349]. Установлено также, что p53-зависимые сестрины (SESN1 и SESN2) помимо своей антиоксидантной активности, связанной с контролем пероксиредоксинов [241], участвуют в подавлении TORC1. Сестрины способны связываться с  $\alpha$ -субъединицей AMPK и вызывать ее активацию даже без участия протеинкиназы LKB1 и AMP [350]. Связывание сестринов приводит также к подавлению дефосфорилирования  $\alpha$ -субъединицы AMPK по Thr172, осуществляемое протеинфосфатазой PP2C, что поддерживает высокую активность AMPK. Кроме этого, сестрины непосредственно связываются с TSC2 и за счет своего взаимодействия с AMPK содействуют предпочтительному фосфорилированию TSC2. Таким образом сестрины способствуют высокоэффективному подавлению активности TORC1, что приводит к задержке анаболических процессов и стимуляции аутофагии [351]. Поскольку сестрины повышают активность AMPK, то они тем самым содействуют AMPK-зависимой активации p53, а, следовательно, и дополнительному увеличению экспрессии p53-зависимых сестринов. Другая положительная обратная связь между активностью AMPK и активностью сестринов возникает благодаря способности AMPK активировать транскрипционные факторы семейства FOXO [352, 353]. В свою очередь, FOXO активирует сестрины независимо от p53 [354, 355], что приводит к усилению фосфорилирования TSC2 и более глубокому подавлению активности TORC1.

#### **XV. КОНТРОЛЬ СОБЛЮДЕНИЯ БАЛАНСА МЕЖДУ ПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ СИГНАЛАМИ И ДОСТУПНОСТЬЮ ПИТАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ**

Противоположное воздействие, приводящее к активации TORC1, осуществляются путем модификации TSC1-TSC2 протеинкиназой Akt (PKB) в ответ на сигналы от ростовых факторов и гормонов. Эти сигналы поступают в ответ на доступность глюкозы (через IGF-1/инсулиновый путь), либо в ответ на стимуляцию клеток ростовыми факторами или цитокинами. Однако, при получении конфликтующих сигналов, например при истощении энергетических ресурсов и AMPK-опосредованном угнетении TORC1, сигналы, подавляющие активность TSC1-TSC2 комплекса и активирующие TORC1 не реализуются, то есть доминантным остается действие AMPK. Таким обра-

зом, при истощении энергетических ресурсов клетка не реагирует на поступающие стимулирующие сигналы от ростовых факторов.

Сигнальный путь, идущий от рецептора ростового фактора IGF-1 или гормона инсулина стимулирует рост клетки в ответ на доступность глюкозы. Уже на стадии, предшествующей связыванию IGF-1 с рецептором, в этот процесс может вмешиваться белок p53, поскольку на транскрипционном уровне он активирует ген IGF-ВР3, продукт которого является основным переносчиком ростового фактора IGF-1 и определяет его биодоступность в тканях. Индукция IGF-ВР3 приводит к ослаблению сигналов через инсулиновый рецептор, причем не только в данной клетке, но и в ее окружении. Тем самым p53 понижает активность сигнального пути, обеспечивающего потребление клетками глюкозы, что важно для его противоопухолевой активности.

Связывание инсулина или IGF-1 с рецептором приводит к активации фосфоинозитидин-3 киназы (PI3K) превращающей  $PIP_2$  в  $PIP_3$ , что сопровождается увеличением локальной концентрации  $PIP_3$  на плазматической мембране.  $PIP_3$  привязывает к плазматической мембране белки, содержащие домены, гомологичные плекстрину (PHD), в частности белки Akt (или протеинкиназа В, PKB) и PDK1 (или PDK1, phosphoinositide-dependent kinase-1). В результате близкого расположения на мембране PDK1 фосфорилирует Akt по Thr308, что стимулирует ПК активность Akt. Однако, полная активность Akt киназы появляется только после дополнительного фосфорилирования по Ser473, которое осуществляет TORC2 [324, 356, 357].

Процесс активации Akt негативно регулируется продуктом опухолевого супрессора PTEN. PTEN является липидной фосфатазой, противодействующей активности PI3K путем превращения  $PIP_3$  в  $PIP_2$ , что, соответственно, способствует снижению активности Akt. В клетках, утративших активность PTEN, этот сигнальный путь постоянно активен, способствуя развитию опухоли [358]. Экспрессия PTEN контролируется p53 [359], за счет чего p53 притормаживает Akt и проявляет противоопухолевую активность. Снижению активности Akt способствует также протеинфосфатаза PP2A, которая дефосфорилирует Akt по Thr308 [360].

ПК Akt модулирует множество процессов фосфорилируя различные белки [324, 361]. В частности, Akt стимулирует пролиферацию клеток путем подавления  $p27^{Kip1}$  и через активацию c-мус и циклина D1. Akt может оказывать противоапоптозное действие путем подавления Bad и транскрипционных факторов FoxO, а также через активацию транскрипционного фактора NFkB. Действуя на эти и другие мишени

Akt стимулирует гликолиз, даже при избытке кислорода, усиливает присутствие на плазматической мембране транспортеров глюкозы GLUT1 и GLUT4 [362, 363], стимулирует связанную с митохондрией гексокиназу [364], активирующую гликолиз и пентозофосфатный путь. Akt активирует АТФ цитрат лиазу, чем усиливает *de novo* синтез жирных кислот [365], требуемых для построения мембран быстрорастущих клеток. Akt фосфорилирует Mdm2 и повышает его активность, направляя в ядро, что приводит к подавлению p53 [366, 367]. Таким образом Akt притормаживает p53 и снимает его ингибирующее действие на пролиферацию.

Существенный вклад в эффекты, связанные с активацией Akt вносит подавление транскрипционных факторов FoxO. Akt фосфорилирует FoxO по трем сайтам, один из которых активирует сигнал для связывания с белками 14-3-3 [368, 369], что приводит к перемещению FoxO3a и FoxO1 из ядра в цитоплазму. Инактивация FOXO приводит к значительной перестройке метаболизма за счет подавления активности генов, контролируемых этими транскрипционными факторами [370]. В то же время, транскрипционные факторы FoxO способны напрямую блокировать протеинфосфатазу PP2A [371] и тем самым стимулировать Akt, противодействуя дефосфорилированию его Thr308.

Значительная доля биологических эффектов Akt определяется активацией TORC1 путем подавления им комплекса TSC1-TSC2. Akt способен фосфорилировать TSC2 по нескольким сайтам [323], причем фосфорилирование по Ser939 и Ser981 создает сайт связывания с белками 14-3-3 [330]. Хотя детальный механизм инактивации TSC-комплекса при фосфорилировании Akt неясен [323], известно, что этот комплекс перестает функционировать в качестве GAP белка на Rheb. В результате происходит активация TORC1, усиление белкового синтеза и подавление аутофагии, что сопровождается ростом массы клетки. В то же время, активация TORC1 запускает несколько обратных связей, приводящих к снижению активности TORC1 и Akt. Активация S6K приводит не только к фосфорилированию рибосомного белка S6 и усилению трансляции, но и к фосфорилированию белка IRS1 (insulin receptor substrate), что тормозит прохождение сигнала от инсулинового рецептора на PI3K и приводит к снижению активности Akt. Кроме того, TSC1-TSC2 комплекс регулирует TORC1 и TORC2 разнонаправленно – одновременно с активацией TORC1 Akt вызывает торможение TORC2, что сопровождается снижением активирующего фосфорилирования Akt по Ser473. В этом отношении интересны последствия, которые могут оказывать p53-зависимые

сестрины. Активируя комплекс TSC1-TSC2, они подавляют TORC1 и стимулируют TORC2, активируя Akt и усиливая прохождение сигнала от инсулинового рецептора. Последствием этого может стать снижение уровня глюкозы в крови, что потенциально должно оказывать противодиабетическое действие.

### **XVI. РОЛЬ БЕЛКА p53 В КОНТРОЛЕ АУТОФАГИИ**

Продолжительное ограничение поступления питательных веществ приводит к запуску процесса самопоедания или макроаутофагии (аутофагии), что важно для выживания клетки. Жертвуя частью своей массы клетка получает дополнительные источники энергии и необходимые элементы для построения новых структур. Процесс аутофагии связан с образованием аутофагосом – двойных мембранных пузырьков, в которые заключаются часть цитоплазмы с находящимися там органеллами – фрагменты эндоплазматического ретикулума, эндосомы, митохондрии. Аутофагосомы затем сливаются с лизосомой и образуют аутолизосомы, в которых происходит переваривание попавших туда структур, что обеспечивает клетку питательными веществами для обеспечения синтеза белков, углеводов и липидов [348]. Кроме этого, процесс аутофагии важен для удаления из клетки отслуживших и поврежденных компонентов, окисленных белковых агрегатов, органелл, в частности поврежденных митохондрий, присутствие которых в клетках приводит к функциональной недостаточности и создает угрозу для их выживания. Дефектные митохондрии выделяют определенные диффундирующие соединения и АФК, которые служат сигналами для инициации аутофагии [372], что приводит к удалению нежелательных источников АФК, создающих мутагенный фон и ускоряющих процесс старения [373, 374]. Особенно важную роль играет аутофагия в долгоживущих неделящихся клетках, поскольку этим путем осуществляются процессы репарации клеток, обеспечивая их долгое существование. Но у аутофагии есть и другая сторона, поскольку компоненты, участвующие в этом процессе функционально перекрываются с компонентами, необходимыми для апоптоза [375]. Это в очередной раз демонстрирует насколько тесно процессы, обеспечивающие выживаемость клеток, связаны с процессами программированной клеточной смерти.

Аутофагия представляет собой четко регулируемый, законсервированный в эволюции процесс [376], который в последние годы стал объектом активного изучения. Детали механизмов и стадий процесса аутофагии хорошо освещены в нескольких недавних обзорах

[377–379]. Важнейшим негативным регулятором аутофагии является сигнальный путь mTOR, останавливающий аутофагию путем фосфорилирования по крайней мере двух важнейших факторов – белков-гомологов Atg1 и Atg13 [331].

Белок p53 может контролировать процесс аутофагии, причем различные стороны его активности могут действовать разнонаправленно [380–383]. Во-первых, p53 может индуцировать процесс аутофагии подавляя активность TORC1 [335] за счет взаимодействия AMPK и p53-зависимых сестринов с TSC1-TSC2 комплексом [351]. При истощении АТФ AMPK фосфорилирует и активирует p53, что не только останавливает деления клеток, но и индуцирует SESN1 и SESN2, которые вместе с AMPK участвуют в фосфорилировании TSC2 [350]. Может белок p53 индуцировать аутофагию и через другой p53-регулируемый ген – DRAM, продукт которого является лизосомным белком [384]. Форсированная экспрессия DRAM в клетках лишенных активности p53, стимулирует аутофагию, и этот эффект подавляется РНК интерференцией против гена DRAM. Функция DRAM способствует выживаемости клеток, поскольку введение конструкций экспрессирующих DRAM, существенно увеличивает клоногенный индекс [385, 386]. В то же время, продукт гена DRAM участвует в p53-зависимом апоптозе [384], что указывает на родство этих процессов. Другой член семейства генов p53 – Tap73 также может усиливать аутофагию, однако он действует без участия DRAM [380, 387]. Белки p53 и p73 роднит способность индуцировать ряд про-апоптотических белков семейства Bcl (Bax, Bad, Bnip3, Puma) которые косвенно способствуют индукции аутофагии, по-видимому принимая участие в дестабилизации комплекса важнейшего регулятора аутофагии Beclin 1 с подавляющими его функцию белками Bcl-2/Bcl-XL [388].

Аутофагия может быть также вызвана белком ARF, который одновременно является мощным индуктором p53 в ответ на активацию онкогенов [389]. Однако ARF может индуцировать аутофагию и без помощи p53 [389], причем наиболее сильным индуктором является короткая изоформа smARF, располагающаяся в митохондриях [390].

Примечательно, что p53 может еще и подавлять аутофагию. Белок p53 функционирует не только в ядре, но и в цитоплазме, где он не только участвует в индукции апоптоза, взаимодействуя с белками семейства Bcl, но и является сильным ингибитором аутофагии [382]. Цитоплазматический p53 может подавлять аутофагию даже в безъядерных клетках, причем это свойство сохраняется и у его мутантных форм [391]. Не исключено, что подавление аутофагии, характерное для опухолевых клеток, проявляется именно благодаря

присутствующим в цитоплазме мутантным формам p53. Поскольку ядерная форма p53 стимулирует аутофагию, а цитоплазматическая – ее подавляет, их взаимный баланс позволяет тонко регулировать этот процесс.

В клетках, не экспрессирующих p53 вообще, аутофагия заметно повышена [380, 392], но это, не связано с отсутствием цитоплазматической формы p53, подавляющей аутофагию. Усиление аутофагии наблюдается в клетках p53-/- мышей [382], а также у мутантных нематод *C. elegans*, имеющих делецию гена-гомолога p53 *cep-1* [392]. Клетки полностью лишённые активности p53 имеют повышенный уровень АФК, что само по себе может вызвать усиление аутофагии. Один из p53-индуцируемых генов (TIGAR) способен подавлять аутофагию именно за счет своей способности понижать внутриклеточный уровень АФК [249]. Дефектные по p53 клетки неполноценны по многим функциям, в том числе по ряду митохондриальных процессов. Белок p53 необходим для биогенеза митохондрий [291] [215], для нормальной репарации митохондриальной ДНК [214], а также для эффективной работы митохондриальной ЭТЦ. p53-регулируемый ген SCO2 участвует в сборке комплекса IV, и его отсутствие приводит к ослаблению митохондриального дыхания [250, 251]. Ген AIF, регулируемый p53 [253], кодирует митохондриальный белок с NADPH-оксидазной активностью, который участвует в сборке и функционировании комплекса I [255, 393]. Вполне понятно, что поскольку процесс аутофагии может запускаться сигналами, выделяемыми дефектными митохондриями, функционально-неполноценные митохондрии клеток лишённых p53 постоянно посылают сигналы, активирующие процесс аутофагии.

Являясь в основном позитивным регулятором аутофагии, p53 принимает участие в обеспечении выживаемости клеток в условиях недостатка питательных веществ. Действуя в содружестве с АМПК, p53 способствует мобилизации ресурсов организма для адаптации к периодам голодания. Данная активность p53 также направлена на поддержание стабильности генома, точнее – на сохранность генома в условиях, когда отсутствие питательных веществ угрожает организму гибелью, а, следовательно, организм не сможет передать свою наследственную информацию потомству.

## XVII. БЕЛОК p53 И СТАРЕНИЕ ОРГАНИЗМА

Функции p53, направленные на повышение адаптации и оптимальному функционированию организма, возникают задолго до рождения: p53 регулирует транскрипцию гена LIF [38, 39], который необходим для имплантации эмбриона в матку [394]. Участвует p53 и в координировании процесса эмбрионального развития, о чем свидетельствует его способность препятствовать искусственному перепрограммированию индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (iPS). Лишь инактивация этого белка позволяет провести искусственное превращение дифференцированной клетки в iPS путем экзогенной экспрессии транскрипционных факторов Oct-3/4, SOX2, c-Myc и Klf4 [395–397]. Белок p53 охраняет целостность генома в течение всей жизни и способствует репарации и сохранению оптимального гомеостаза в каждой отдельной клетке и в целом организме.

Роль p53 в процессе старения весьма сложна и противоречива. При отсутствии функционального p53 продолжительность жизни существенно снижается из-за раннего развития злокачественных заболеваний. Мыши с гомозиготной делецией гена p53 погибают не достигнув 9–10 месячного возраста; заметно сокращена продолжительность жизни при синдроме Ли-Фраумени, наследственной недостаточности p53. В то же время, на мышинной модели, экспрессирующей постоянно активированный ген p53, на фоне усиления противоопухолевой защиты наблюдается ускоренное старения [398]. Из этого можно было бы заключить, что за эффективную защиту от рака организм расплачивается меньшей продолжительностью жизни. Однако, продолжительность жизни не снижена у мышей с дополнительной копией полноценного гена p53 [399], а также у мышей с пониженной экспрессией Mdm2 [400], хотя эти мыши более устойчивы к злокачественным заболеваниям. С другой стороны, две аллели, имеющие либо аргинин, либо пролин в 72 положении белка p53, различаются по способности индуцировать апоптоз. Вариант белка Arg72, соответствующий эволюционно более молодой аллели, более эффективен в индукции апоптоза, активнее транспортируется в митохондрии, способствует раскрытию митохондриальной поры, и лучше защищает от рака [401, 402]. В то же время, люди, имеющие Pro72 аллель после диагностики заболевания живут дольше, отличаются большей устойчивостью к стрессам и пониженной скоростью старения [403, 404].

Изучение функций p53 в клетках в нормальных условиях, позволяет более ясно понять его противоречивую роль в процессе старения. При отсутствии сильных стрессов p53 работает в «штатном режиме», помогая клеткам находить оптимальный баланс процессов

метаболизма и репарации, а также процессов антиоксидантной защиты. Поэтому, повседневная функция p53 может быть направлена в сторону замедления процессов старения.

При старении происходит истощение регенеративного потенциала тканей, накопление молекулярных повреждений и затухание функций. Важную роль в ускорении процесса старения играют АФК, которые активно повреждают ДНК, белки и липиды. Стареющие клетки имеют повышенный уровень АФК, что приводит к дальнейшим молекулярным повреждениям и истощению репликативного потенциала. Но почему АФК начинают накапливаться в стареющем организме? Очевидно, потому, что ослабевают системы, обеспечивающие своевременное удаление АФК, а также механизмы, обеспечивающие репарацию неделящихся клеток. В основе этих механизмов лежит процесс аутофагии.

Аутофагосомы формируются преимущественно вокруг поврежденных митохондрий, выделяющих повышенные количества АФК. Процесс аутофагии запускается также при недостатке питательных веществ, и не случайно ограничение калорий является наиболее эффективным способом продления жизни [405, 406]. «Самопоедание» части цитоплазмы удаляет из клетки поврежденные органеллы, денатурированные белковые агрегаты, в результате чего неделящаяся клетка омолаживается и избавляется от источников выделения АФК. Установлено, что с возрастом процессы аутофагии затухают [407–409], что приводит к накоплению в клетках «мусора» и ее неизбежному старению. Согласно современным представлениям причина старения видится, прежде всего в ослаблении механизмов репарации клетки. То есть старение вызывается не накоплением АФК и прочего клеточного «мусора», а ослаблением омолаживающих механизмов репарации клеток.

Основным регулятором процесса аутофагии выступает комплекс TORC1, который тормозит аутофагию при достаточности питательных веществ и АТФ. Поддержание высокого уровня белкового синтеза необходимо для развивающегося организма, но оно становится избыточным с возрастом. В то же время, активность TORC1 с возрастом не только не затухает, но напротив – сильно возрастает [410, 411], чему способствует нарушение баланса обмена веществ, обусловленное разными причинами (неправильным питанием, возникновением патологических обратных связей, как, например, при развитии устойчивости к инсулину в результате постоянной перегрузки глюкозой). Если в раннем возрасте TORC1 служит двигателем роста и развития, то при достижении зрелости он становится двигателем

процесса старения [410]. Недавно проведенные испытания действия рапамицина, ингибитора TORC1, указывают на значительное увеличение продолжительности жизни генетически гетерогенной популяции мышей даже в случае приема рапамицина в позднем возрасте [412]. Продление жизни мышей достигается также при применении агониста АМПК, антидиабетического препарата метформина [413–416], который способствует торможению TORC1, а также при нокауте гена киназы рибосомного белка S6, субстрата TORC1 [417]. В то же время, клинические испытания различных антиоксидантов не привели к какому-либо увеличению продолжительности жизни или снижению уровня заболеваний, связанных с пожилым возрастом, а в ряде случаев, напротив, привели к увеличению заболеваемости и смертности [418]. Таким образом, TORC1 можно рассматривать как основной двигатель процесса старения, и на сегодняшний день – наиболее предпочтительную мишень для терапевтического воздействия.

Белок p53 тормозит TORC1 на нескольких уровнях, что приводит к активации аутофагии. Таким образом, p53 вносит вклад в репарацию неделящихся клеток, и поэтому его активность вне сильных стрессов направлена на подавление процессов старения, продление состояния гомеостаза как внутри клетки, так и в организме в целом.

Другая ситуация возникает при стрессах, когда сохраняя организм функция p53 осуществляет выбраковку поврежденных клеток. Но этот процесс неизбежно связан с дополнительным выбросом АФК, что, с одной стороны, оказывает прямое повреждающее действие на клеточные структуры и ДНК, а с другой – приводит к активации TORC1 [419, 420], усугубляя ситуацию и способствуя ускоренному старению ткани и организма в целом. Основной практический вывод, который можно сделать на основании противоречивой роли p53 в процессе старения – для предотвращения преждевременного старения следует избегать сильных воздействий, стрессов, интоксикаций, способных индуцировать стрессовую активность p53.

### **XVIII. ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ НА p53 ЗАВИСИМЫЕ МЕХАНИЗМЫ**

В предыдущих разделах мы рассмотрели основные активности опухолевого супрессора p53. Его участие в поддержании внутриклеточного гомеостаза всеобъемлюще: через многочисленные механизмы p53 защищает геном клеток при физиологических условиях и, напротив, способствует гибели безнадежно поврежденных клеток. В пос-

леднее время стало ясно, что у p53 есть две стороны: одна связана с функцией при нормальных физиологических нагрузках, вторая проявляется при экстремальных воздействиях и при возникновении летальных повреждений. Обе стороны активности p53, безусловно, играют роль в профилактике злокачественных заболеваний, предупреждая размножение и распространение измененных, в то время как способность p53 убивать ненормальные клетки может быть использована в терапии рака.

В настоящее время предложено и разрабатывается много подходов к лечению рака, которые используют супрессорные свойства p53. Данной теме посвящено несколько недавних обзоров [134, 135, 421–423]. Терапевтические подходы включают введение в опухолевые клетки конструкций, экспрессирующих p53 дикого типа, использование малых молекул, способных реактивировать поврежденные p53-зависимые механизмы, использование рекомбинантных вирусов, способных размножаться на клетках, лишенных активности p53 и т.п.

Наследственная недостаточность активности p53 сопровождается увеличением вероятности возникновения злокачественных заболеваний. Синдром Ли-Фраумени связан с наследуемой мутацией одной аллели гена p53, что приводит к раннему и независимому развитию нескольких типов опухолей у одного индивидуума [28]. Полиморфная замена Arg72Pro в белке p53 связана с функциональными различиями, при которых Arg72 вариант обладает лучшей способностью индуцировать апоптоз и защищать от развития рака, по сравнению с Pro72 варианта [424, 425]. Значительная часть населения имеет ослабленную функцию p53, за счет повышенной экспрессии белка Mdm2, что происходит в результате полиморфной замены единичного нуклеотида в регуляторной области гена MDM2 (SNP309), приводящей к более раннему, в среднем, развитию злокачественных заболеваний [63, 426]. Существует также связь между полиморфизмом в области гена p73, который функционально связан с геном p53, и риском возникновения рака [426, 427].

До сих пор не существует реальных подходов к снижению риска рака среди индивидуумов, имеющих указанные вариации функционирования p53-зависимых механизмов. Однако тот факт, что в клетках с нарушенной функцией p53 отмечается повышенный уровень АФК [35] наводит на мысль о возможной целесообразности применения антиоксидантов для профилактики рака в данных группах риска. Повышенную активность Mdm2 могли бы компенсировать соединения типа нутлинов, которые специфически разрушают комплекс между p53 и Mdm2 [428].

Несмотря на очевидную роль в профилактике злокачественных заболеваний, активность p53 можно сравнить с обоюдоострым мечем. При условиях его активации сильными стрессами, например при химиотерапевтическом лечении рака, индукция p53 оказывает негативное действие на нормальные клетки, особенно на клетки кровеносной системы, кишечного эпителия, эндотелий. Хронические интоксикации, патологии, сопровождающиеся хроническим воспалением, некоторые дегенеративные процессы (например, болезнь Хантингтона [429, 430]) сопровождаются длительной активацией p53 в отдельных тканях, что создает неблагоприятный фон, на котором происходит развитие патологического процесса и ускоренное старение органов. При ряде состояний благоприятный эффект мог бы достигаться применением селективных ингибиторов p53 [431]. Поиск таких ингибиторов привел к идентификации двух классов малых молекул [432, 433], которые, хотя и не являются строго специфичными в отношении p53, но ослабляют некоторые его нежелательные проявления. Кратковременное выключение функций p53 не сопровождается увеличением риска злокачественных заболеваний вероятно потому, что при последующем восстановлении активности p53 накопившееся при его временного отключении поврежденные и ненормальные клетки быстро и эффективно удаляются из организма.

Являясь плеiotропным регулятором, p53 влияет одновременно на многие метаболические процессы. Однако, в терапевтических целях воздействие на отдельные мишени p53 может оказаться более предпочтительным, так как это позволит избежать нежелательных эффектов со стороны других мишеней его действия. Поэтому изучение механизмов, связанных с отдельными эффекторами p53 может привести к разработке подходов, которые позволят селективно использовать отдельные стороны активности p53 для профилактики и лечения заболеваний.

## XIX. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За прошедшие пять лет произошел очередной пересмотр представлений о роли белка p53 в организме. Если ранее считалось, что белок p53 проявляет функции опухолевого супрессора только в ответ на повреждения генома и нарушения физиологии клетки, то теперь обнаружены активности p53, которые действуют повседневно, даже при отсутствии стрессов и повреждений. Эти активности направлены на поддержание оптимального внутриклеточного гомеостаза и создания условий, препятствующих возникновению молекулярных повреж-

дений. Таким образом, функция опухолевого супрессора p53 проявляется на двух уровнях – при повседневных нагрузках активности p53 обеспечивают профилактику молекулярных повреждений путем контроля за соблюдением оптимального баланса метаболических процессов и своевременного удаления АФК, в то время как при уже возникших повреждениях или при сильных повреждающих воздействиях функции p53 направлены на сдерживание делений генетически измененных клеток и на их оперативное удаление из организма. Обе функции p53 вносят вклад в поддержание высокой генетической стабильности соматических клеток, что обеспечивает низкую вероятность злокачественного перерождения, а также снижает темп процессов старения организма.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Oren, M., Maltzman, W., Levine, A.J. (1981) *Mol. Cell Biol.*, **1**, 101–110.
2. Maltzman, W., Czyzyk, L. (1984) *Mol. Cell Biol.*, **4**, 1689–1694.
3. Chance, B., Sies, H., Boveris, A. (1979) *Physiol. Rev.*, **59**, 527–605.
4. Chang, C., Simmons, D.T., Martin, M.A., Mora, P.T. (1979) *J. Virol.*, **31**, 463–471.
5. DeLeo, A.B., Jay, G., Appella, E., Dubois, G.C., Law, L.W., Old, L.J. (1979) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**, 2420–2424.
6. Kress, M., May, E., Cassingena, R., May, P. (1979) *J. Virol.*, **31**, 472–483.
7. Lane, D.P., Crawford, L.V. (1979) *Nature*, **278**, 261–263.
8. Linzer, D.I., Levine, A.J. (1979) *Cell*, **17**, 43–52.
9. Чумаков П.М., Йоцева В.С., Георгиев Г.П. (1982) Доклады АН СССР, **267**, 1272–1275.
10. Oren, M., Levine, A.J. (1983) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**, 56–59.
11. Jenkins, J.R., Rudge, K., Currie, G.A. (1984) *Nature*, **312**, 651–654.
12. Parada, L.F., Land, H., Weinberg, R.A., Wolf, D., Rotter, V. (1984) *Nature*, **312**, 649–651.
13. Jenkins, J.R., Rudge, K., Chumakov, P., Currie, G.A. (1985) *Nature*, **317**, 816–818.
14. Wolf, D., Laver-Rudich, Z., Rotter, V. (1985) *Mol. Cell Biol.*, **5**, 1887–1893.
15. Бухман В.Л., Нинкина Н.Н., Чумаков П.М., Хиленкова М.А., Самарина О.П. (1987) *Генетика* **23**, 1547–1554.
16. Eliyahu, D., Goldfinger, N., Pinhasi-Kimhi, O., Shaulsky, G., Skurnik, Y., Arai, N., Rotter, V., Oren, M. (1988) *Oncogene*, **3**, 313–321.
17. Finlay, C.A., Hinds, P.W., Tan, T.H., Eliyahu, D., Oren, M., Levine, A.J. (1988) *Mol. Cell Biol.*, **8**, 531–539.
18. Halevy, O., Rodel, J., Peled, A., Oren, M. (1991) *Oncogene*, **6**, 1593–1600.
19. Baker, S.J., Markowitz, S., Fearon, E.R., Willson, J.K., Vogelstein, B. (1990) *Science*, **249**, 912–915.
20. Eliyahu, D., Michalovitz, D., Eliyahu, S., Pinhasi-Kimhi, O., Oren, M. (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 8763–8767.
21. Finlay, C.A., Hinds, P.W., Levine, A.J. (1989) *Cell*, **57**, 1083–1093.
22. Michalovitz, D., Halevy, O., Oren, M. (1990) *Cell*, **62**, 671–680.

23. Diller, L., Kassel, J., Nelson, C.E., Gryka, M.A., Litwak, G., Gebhardt, M., Bressac, B., Ozturk, M., Baker, S.J., Vogelstein, B., et al. (1990) *Mol. Cell Biol.*, **10**, 5772–5781.
24. Yonish-Rouach, E., Resnitzky, D., Lotem, J., Sachs, L., Kimchi, A., Oren, M. (1991) *Nature*, **352**, 345–347.
25. Wang, Y., Blandino, G., Oren, M., Givol, D. (1998) *Oncogene*, **17**, 1923–1930.
26. Ventura, A., Kirsch, D.G., McLaughlin, M.E., Tuveson, D.A., Grimm, J., Lintault, L., Newman, J., Reczek, E.E., Weissleder, R., Jacks, T. (2007) *Nature*, **445**, 661–665.
27. Xue, W., Zender, L., Miething, C., Dickins, R.A., Hernandez, E., Krizhanovskiy, V., Cordon-Cardo, C., Lowe, S.W. (2007) *Nature*, **445**, 656–660.
28. Malkin, D. (1993) *Cancer Genet. Cytogenet.*, **66**, 83–92.
29. Donehower, L.A., Harvey, M., Slagle, B.L., McArthur, M.J., Montgomery, C.A., Jr., Butel, J.S., Bradley, A. (1992) *Nature*, **356**, 215–221.
30. Baker, S.J., Fearon, E.R., Nigro, J.M., Hamilton, S.R., Preisinger, A.C., Jessup, J.M., van Tuinen, P., Ledbetter, D.H., Barker, D.F., Nakamura, Y., White, R., Vogelstein, B. (1989) *Science*, **244**, 217–221.
31. Brosh, R., Rotter, V. (2009) *Nat. Rev. Cancer*, **9**, 701–713.
32. Чумаков П.М. (2007) *Успехи биол. химии*, **47**, 3–52.
33. Lane, D.P. (1992) *Nature*, **358**, 15–16.
34. Vousden, K.H., Prives, C. (2009) *Cell*, **137**, 413–431.
35. Sablina, A.A., Budanov, A.V., Ilyinskaya, G.V., Agapova, L.S., Kravchenko, J.E., Chumakov, P.M. (2005) *Nat. Med.*, **11**, 1306–1313.
36. Bensaad, K., Vousden, K.H. (2005) *Nat. Med.*, **11**, 1278–1279.
37. Hirota, Y., Daikoku, T., Tranguch, S., Xie, H., Bradshaw, H.B., Dey, S.K. (2010) *J. Clin. Invest.*, **120**, 803–815.
38. Hu, W., Feng, Z., Teresky, A.K., Levine, A.J. (2007) *Nature*, **450**, 721–724.
39. Kang, H.J., Feng, Z., Sun, Y., Atwal, G., Murphy, M.E., Rebbeck, T.R., Rosenwaks, Z., Levine, A.J., Hu, W. (2009) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 9761–9766.
40. Zhao, T., Xu, Y. (2010) *Trends Cell Biol.*, **20**, 170–175.
41. Olovnikov, I.A., Kravchenko, J.E., Chumakov, P.M. (2009) *Semin. Cancer Biol.*, **19**, 32–41.
42. Hollstein, M., Hainaut, P. (2010) *J. Pathol.*, **220**, 164–173.
43. Farnebo, M. (2009) *Cell Cycle*, **8**, 2343–2346.
44. Mahmoudi, S., Henriksson, S., Corcoran, M., Mendez-Vidal, C., Wiman, K.G., Farnebo, M. (2009) *Mol. Cell*, **33**, 462–471.
45. Galban, S., Martindale, J.L., Mazan-Mamczarz, K., Lopez de Silanes, I., Fan, J., Wang, W., Decker, J., Gorospe, M. (2003) *Mol. Cell Biol.*, **23**, 7083–7095.
46. Mazan-Mamczarz, K., Galban, S., Lopez de Silanes, I., Martindale, J.L., Atasoy, U., Keene, J.D., Gorospe, M. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 8354–8359.
47. Grover, R., Ray, P.S., Das, S. (2008) *Cell Cycle*, **7**, 2189–2198.
48. Grover, R., Candeias, M.M., Fahraeus, R., Das, S. (2009) *Oncogene*, **28**, 2766–2772.
49. Bourdon, J.C., Fernandes, K., Murray-Zmijewski, F., Liu, G., Diot, A., Xirodimas, D.P., Saville, M.K., Lane, D.P. (2005) *Genes Dev.*, **19**, 2122–2137.
50. Ghosh, A., Stewart, D., Matlashewski, G. (2004) *Mol. Cell Biol.*, **24**, 7987–7997.

51. Janicke, R.U., Graupner, V., Budach, W., Essmann, F. (2009) *Biol. Chem.*, **390**, 951–963.
52. Asher, G., Reuven, N., Shaul, Y. (2006) *Bioessays*, **28**, 844–849.
53. Buryanovskyy, L., Fu, Y., Boyd, M., Ma, Y., Hsieh, T.C., Wu, J.M., Zhang, Z. (2004) *Biochemistry (Mosc)*, **43**, 11417–11426.
54. Vella, F., Ferry, G., Delagrangue, P., Boutin, J.A. (2005) *Biochem. Pharmacol.*, **71**, 1–12.
55. Pearson, K.J., Baur, J.A., Lewis, K.N., Peshkin, L., Price, N.L., Labinskyy, N., Swindell, W.R., Kamara, D., Minor, R.K., Perez, E., Jamieson, H.A., Zhang, Y., Dunn, S.R., Sharma, K., Pleshko, N., Woollett, L.A., Csiszar, A., Ikeno, Y., Le Couteur, D., Elliott, P.J., Becker, K.G., Navas, P., Ingram, D.K., Wolf, N.S., Ungvari, Z., Sinclair, D.A., de Cabo, R. (2008) *Cell Metab.*, **8**, 157–168.
56. Barger, J.L., Kayo, T., Vann, J.M., Arias, E.B., Wang, J., Hacker, T.A., Wang, Y., Raederstorff, D., Morrow, J.D., Leeuwenburgh, C., Allison, D.B., Saupe, K.W., Cartee, G.D., Weindruch, R., Prolla, T.A. (2008) *PLoS One*, **3**, e2264.
57. Haupt, Y., Maya, R., Kazaz, A., Oren, M. (1997) *Nature*, **387**, 296–299.
58. Honda, R., Tanaka, H., Yasuda, H. (1997) *FEBS Lett.*, **420**, 25–27.
59. Kubbutat, M.H., Jones, S.N., Vousden, K.H. (1997) *Nature*, **387**, 299–303.
60. Wu, X., Bayle, J.H., Olson, D., Levine, A.J. (1993) *Genes Dev.*, **7**, 1126–1132.
61. Shvarts, A., Steegenga, W.T., Riteco, N., van Laar, T., Dekker, P., Bazuine, M., van Ham, R.C., van der Houven van Oordt, W., Hateboer, G., van der Eb, A.J., Jochemsen, A.G. (1996) *Embo J.*, **15**, 5349–5357.
62. Matijasevic, Z., Krzywicka-Racka, A., Sluder, G., Jones, S.N. (2008) *Cell Cycle*, **7**, 2967–2973.
63. Bond, G.L., Hirshfield, K.M., Kirchhoff, T., Alexe, G., Bond, E.E., Robins, H., Bartel, F., Taubert, H., Wuerl, P., Hait, W., Toppmeyer, D., Offit, K., Levine, A.J. (2006) *Cancer Res.*, **66**, 5104–5110.
64. Jin, Y., Lee, H., Zeng, S.X., Dai, M.S., Lu, H. (2003) *Embo J.*, **22**, 6365–6377.
65. Leng, R.P., Lin, Y., Ma, W., Wu, H., Lemmers, B., Chung, S., Parant, J.M., Lozano, G., Hakem, R., Benchimol, S. (2003) *Cell*, **112**, 779–791.
66. Dornan, D., Wertz, I., Shimizu, H., Arnott, D., Frantz, G.D., Dowd, P., O'Rourke, K., Koeppen, H., Dixit, V.M. (2004) *Nature*, **429**, 86–92.
67. Sdek, P., Ying, H., Chang, D.L., Qiu, W., Zheng, H., Touitou, R., Allday, M.J., Xiao, Z.X. (2005) *Mol. Cell*, **20**, 699–708.
68. Shimada, M., Kitagawa, K., Dobashi, Y., Isobe, T., Hattori, T., Uchida, C., Abe, K., Kotake, Y., Oda, T., Suzuki, H., Hashimoto, K., Kitagawa, M. (2009) *Cancer Sci.*, **100**, 866–872.
69. Yang, W., Rozan, L.M., McDonald, E.R., 3rd, Navaraj, A., Liu, J.J., Matthew, E.M., Wang, W., Dicker, D.T., El-Deiry, W.S. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 3273–3281.
70. Rajendra, R., Malegaonkar, D., Pungaliya, P., Marshall, H., Rasheed, Z., Brownell, J., Liu, L.F., Lutzker, S., Saleem, A., Rubin, E.H. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 36440–36444.
71. Yamasaki, S., Yagishita, N., Sasaki, T., Nakazawa, M., Kato, Y., Yamadera, T., Bae, E., Toriyama, S., Ikeda, R., Zhang, L., Fujitani, K., Yoo, E., Tsuchimochi, K., Ohta, T., Araya, N., Fujita, H., Aratani, S., Eguchi, K., Komiya, S., Maruyama, I., Higashi, N., Sato, M., Senoo, H., Ochi, T., Yokoyama, S., Amano, T., Kim, J., Gay, S., Fukamizu, A., Nishioka, K., Tanaka, K., Nakajima, T. (2007) *EMBO J.*, **26**, 113–122.

72. Allton, K., Jain, A.K., Herz, H.M., Tsai, W.W., Jung, S.Y., Qin, J., Bergmann, A., Johnson, R.L., Barton, M.C. (2009) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 11612–11616.
73. Tai, E., Benchimol, S. (2009) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 11431–11432.
74. Lowe, S.W., Sherr, C.J. (2003) *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **13**, 77–83.
75. Sherr, C.J. (2006) *Nat. Rev. Cancer*, **6**, 663–673.
76. Chen, D., Kon, N., Li, M., Zhang, W., Qin, J., Gu, W. (2005) *Cell*, **121**, 1071–1083.
77. Dai, M.S., Zeng, S.X., Jin, Y., Sun, X.X., David, L., Lu, H. (2004) *Mol. Cell Biol.*, **24**, 7654–7668.
78. Lohrum, M.A., Ludwig, R.L., Kubbutat, M.H., Hanlon, M., Vousden, K.H. (2003) *Cancer Cell*, **3**, 577–587.
79. Zhang, Y., Wolf, G.W., Bhat, K., Jin, A., Allio, T., Burkhardt, W.A., Xiong, Y. (2003) *Mol. Cell Biol.*, **23**, 8902–8912.
80. Zhang, Y., Lu, H. (2009) *Cancer Cell*, **16**, 369–377.
81. Li, M., Chen, D., Shiloh, A., Luo, J., Nikolaev, A.Y., Qin, J., Gu, W. (2002) *Nature*, **416**, 648–653.
82. Li, M., Brooks, C.L., Kon, N., Gu, W. (2004) *Mol. Cell*, **13**, 879–886.
83. Cummins, J.M., Vogelstein, B. (2004) *Cell Cycle*, **3**, 689–692.
84. Tang, J., Qu, L.K., Zhang, J., Wang, W., Michaelson, J.S., Degenhardt, Y.Y., El-Deiry, W.S., Yang, X. (2006) *Nat. Cell Biol.*, **8**, 855–862.
85. Song, M.S., Song, S.J., Kim, S.Y., Oh, H.J., Lim, D.S. (2008) *Embo J.*, **27**, 1863–1874.
86. Kruse, J.P., Gu, W. (2008) *Cell*, **133**, 930.e1.
87. Kruse, J.P., Gu, W. (2009) *Cell*, **137**, 609–622.
88. Appella, E., Anderson, C.W. (2001) *Eur. J. Biochem.*, **268**, 2764–2772.
89. Shieh, S.Y., Ikeda, M., Taya, Y., Prives, C. (1997) *Cell*, **91**, 325–334.
90. Shieh, S.Y., Ahn, J., Tamai, K., Taya, Y., Prives, C. (2000) *Genes Dev.*, **14**, 289–300.
91. Ashcroft, M., Kubbutat, M.H., Vousden, K.H. (1999) *Mol. Cell Biol.*, **19**, 1751–1758.
92. Blattner, C., Tobiasch, E., Litfen, M., Rahmsdorf, H.J., Herrlich, P. (1999) *Oncogene*, **18**, 1723–1732.
93. Marchenko, N.D., Zaika, A., Moll, U.M. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 16202–16212.
94. Marchenko, N.D., Wolff, S., Erster, S., Becker, K., Moll, U.M. (2007) *EMBO J.*, **26**, 923–934.
95. Chipuk, J.E., Kuwana, T., Bouchier-Hayes, L., Droin, N.M., Newmeyer, D.D., Schuler, M., Green, D.R. (2004) *Science*, **303**, 1010–1014.
96. Chipuk, J.E., Green, D.R. (2006) *Cell Death Differ.* **13**, 994–1002.
97. Vaseva, A.V., Moll, U.M. (2009) *Biochim. Biophys. Acta*, **1787**, 414–420.
98. Nakano, K., Vousden, K.H. (2001) *Mol. Cell*, **7**, 683–694.
99. Yu, J., Zhang, L., Hwang, P.M., Kinzler, K.W., Vogelstein, B. (2001) *Mol. Cell*, **7**, 673–682.
100. Oda, E., Ohki, R., Murasawa, H., Nemoto, J., Shibue, T., Yamashita, T., Tokino, T., Taniguchi, T., Tanaka, N. (2000) *Science*, **288**, 1053–1058.
101. Miyashita, T., Reed, J.C. (1995) *Cell*, **80**, 293–299.
102. Yao, H., Li, P., Venters, B.J., Zheng, S., Thompson, P.R., Pugh, B.F., Wang, Y. (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**, 20060–20068.
103. Shen, Y., Shenk, T. (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 8940–8944.
104. Li, Y.Z., Lu, D.Y., Tan, W.Q., Wang, J.X., Li, P.F. (2008) *Mol. Cell Biol.*, **28**, 564–574.

105. Robles, A.I., Bemmels, N.A., Foraker, A.B., Harris, C.C. (2001) *Cancer Res.*, **61**, 6660–6664.
106. Moroni, M.C., Hickman, E.S., Lazzerini Denchi, E., Caprara, G., Colli, E., Cecconi, F., Muller, H., Helin, K. (2001) *Nat. Cell Biol.*, **3**, 552–558.
107. Fortin, A., Cregan, S.P., MacLaurin, J.G., Kushwaha, N., Hickman, E.S., Thompson, C.S., Hakim, A., Albert, P.R., Cecconi, F., Helin, K., Park, D.S., Slack, R.S. (2001) *J. Cell Biol.*, **155**, 207–216.
108. Alberts, B. *Molecular Biology of the Cell*, 5th ed., Garland Science, New York, 2008.
109. Owen-Schaub, L.B., Zhang, W., Cusack, J.C., Angelo, L.S., Santee, S.M., Fujiwara, T., Roth, J.A., Deisseroth, A.B., Zhang, W.W., Kruzel, E., et al. (1995) *Mol. Cell Biol.*, **15**, 3032–3040.
110. Wu, G.S., Burns, T.F., McDonald, E.R., 3rd, Jiang, W., Meng, R., Krantz, I.D., Kao, G., Gan, D., Zhou, J.Y., Muschel, R., Hamilton, S.R., Spinner, N.B., Markowitz, S., Wu, G., el-Deiry, W.S. (1997) *Nat. Genet.*, **17**, 141–143.
111. Yoshida, K., Miki, Y. (2010) *Cancer Sci.*, Febr. 3 (Ahead of Print).
112. Kuribayashi, K., Krigsfeld, G., Wang, W., Xu, J., Mayes, P.A., Dicker, D.T., Wu, G.S., El-Deiry, W.S. (2008) *Cancer Biol. Ther.*, **7**, 2034–2038.
113. Maecker, H.L., Koumenis, C., Giaccia, A.J. (2000) *Cancer Res.*, **60**, 4638–4644.
114. Rikhof, B., Corn, P.G., El-Deiry, W.S. (2003) *Cancer Biol. Ther.*, **2**, 707–712.
115. Attardi, L.D., Reczek, E.E., Cosmas, C., Demicco, E.G., McCurrach, M.E., Lowe, S.W., Jacks, T. (2000) *Genes Dev.*, **14**, 704–718.
116. Lin, Y., Ma, W., Benchimol, S. (2000) *Nat. Genet.*, **26**, 122–127.
117. Fiscella, M., Zhang, H., Fan, S., Sakaguchi, K., Shen, S., Mercer, W.E., Vande Woude, G.F., O'Connor, P.M., Appella, E. (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 6048–6053.
118. Bourdon, J.C., Renzing, J., Robertson, P.L., Fernandes, K.N., Lane, D.P. (2002) *J. Cell Biol.*, **158**, 235–246.
119. Oda, K., Arakawa, H., Tanaka, T., Matsuda, K., Tanikawa, C., Mori, T., Nishimori, H., Tamai, K., Tokino, T., Nakamura, Y., Taya, Y. (2000) *Cell*, **102**, 849–862.
120. Nakamura, Y. (2004) *Cancer Sci* **95**, 7–11.
121. Polyak, K., Xia, Y., Zweier, J.L., Kinzler, K.W., Vogelstein, B. (1997) *Nature*, **389**, 300–305.
122. Hwang, P.M., Bunz, F., Yu, J., Rago, C., Chan, T.A., Murphy, M.P., Kelso, G.F., Smith, R.A., Kinzler, K.W., Vogelstein, B. (2001) *Nat. Med.*, **7**, 1111–1117.
123. Chang, T.C., Wentzel, E.A., Kent, O.A., Ramachandran, K., Mullendore, M., Lee, K.H., Feldmann, G., Yamakuchi, M., Ferlito, M., Lowenstein, C.J., Arking, D.E., Beer, M.A., Maitra, A., Mendell, J.T. (2007) *Mol. Cell*, **26**, 745–752.
124. He, L., He, X., Lim, L.P., de Stanchina, E., Xuan, Z., Liang, Y., Xue, W., Zender, L., Magnus, J., Ridzon, D., Jackson, A.L., Linsley, P.S., Chen, C., Lowe, S.W., Cleary, M.A., Hannon, G.J. (2007) *Nature*, **447**, 1130–1134.
125. Hermeking, H. (2007) *Cancer Cell*, **12**, 414–418.
126. Raver-Shapira, N., Marciano, E., Meiri, E., Spector, Y., Rosenfeld, N., Moskovits, N., Bentwich, Z., Oren, M. (2007) *Mol. Cell*, **26**, 731–743.
127. Tarasov, V., Jung, P., Verdoodt, B., Lodygin, D., Epanchintsev, A., Menssen, A., Meister, G., Hermeking, H. (2007) *Cell Cycle*, **6**,

128. *el-Deiry, W.S., Tokino, T., Velculescu, V.E., Levy, D.B., Parsons, R., Trent, J.M., Lin, D., Mercer, W.E., Kinzler, K.W., Vogelstein, B.* (1993) *Cell*, **75**, 817–825.
129. *el-Deiry, W.S.* (1998) *Semin. Cancer Biol.*, **8**, 345–357.
130. *Zhu, J., Chen, X.* (2000) *Mol. Cell Biol.*, **20**, 5602–5618.
131. *Hermeking, H., Benzinger, A.* (2006) *Semin. Cancer Biol.*, **16**, 183–192.
132. *Helton, E.S., Chen, X.* (2007) *J. Cell Biochem.*, **100**, 883–896.
133. *Harms, K., Nozell, S., Chen, X.* (2004) *Cell Mol. Life Sci.*, **61**, 822–842.
134. *Алмазов В.П., Кочетков Д.А., Чулаков П.М.* (2007) *Молекулярная биология*, **41**, 947–463.
135. *Selivanova, G.* (2010) *Semin. Cancer Biol.*, **20**, 46–56.
136. *Macip, S., Igarashi, M., Berggren, P., Yu, J., Lee, S.W., Aaronson, S.A.* (2003) *Mol. Cell Biol.*, **23**, 8576–8585.
137. *Zhang, H.* (2007) *J. Cell Physiol.*, **210**, 567–574.
138. *Wynford-Thomas, D.* (1996) *Oncol. Res.*, **8**, 387–398.
139. *Artandi, S.E., DePinho, R.A.* (2010) *Carcinogenesis*, **31**, 9–18.
140. *Kanaya, T., Kyo, S., Hamada, K., Takakura, M., Kitagawa, Y., Harada, H., Inoue, M.* (2000) *Clin. Cancer Res.*, **6**, 1239–1247.
141. *Xu, D., Wang, Q., Gruber, A., Bjorkholm, M., Chen, Z., Zaid, A., Selivanova, G., Peterson, C., Wiman, K.G., Pisa, P.* (2000) *Oncogene*, **19**, 5123–5133.
142. *Shats, I., Milyavsky, M., Tang, X., Stambolsky, P., Erez, N., Brosh, R., Kogan, I., Braunstein, I., Tzukerman, M., Ginsberg, D., Rotter, V.* (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 50976–50985.
143. *Won, J., Chang, S., Oh, S., Kim, T.K.* (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 11328–11333.
144. *Stewart, S.A., Weinberg, R.A.* (2006) *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, **22**, 531–557.
145. *Macip, S., Igarashi, M., Fang, L., Chen, A., Pan, Z.Q., Lee, S.W., Aaronson, S.A.* (2002) *EMBO J.*, **21**, 2180–2188.
146. *Kortlever, R.M., Higgins, P.J., Bernards, R.* (2006) *Nat. Cell Biol.*, **8**, 877–884.
147. *Leal, J.F., Fominaya, J., Cascon, A., Gujjarro, M.V., Blanco-Aparicio, C., Lleonart, M., Castro, M.E., Ramon, Y.C.S., Robledo, M., Beach, D.H., Carnero, A.* (2008) *Oncogene*, **27**, 1961–1970.
148. *Cosme-Blanco, W., Shen, M.F., Lazar, A.J., Pathak, S., Lozano, G., Multani, A.S., Chang, S.* (2007) *EMBO Rep.*, **8**, 497–503.
149. *Van Nguyen, T., Puebla-Osorio, N., Pang, H., Dujka, M.E., Zhu, C.* (2007) *J. Exp. Med.*, **204**, 1453–1461.
150. *Barboza, J.A., Liu, G., Ju, Z., El-Naggar, A.K., Lozano, G.* (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 19842–19847.
151. *Choudhury, A.R., Ju, Z., Djojotub-rotto, M.W., Schienke, A., Lechel, A., Schaetzlein, S., Jiang, H., Stepczynska, A., Wang, C., Buer, J., Lee, H.W., von Zglinicki, T., Ganser, A., Schirmacher, P., Nakauchi, H., Rudolph, K.L.* (2007) *Nat. Genet.*, **39**, 99–105.
152. *Toledo, F., Krummel, K.A., Lee, C.J., Liu, C.W., Rodewald, L.W., Tang, M., Wahl, G.M.* (2006) *Cancer Cell*, **9**, 273–285.
153. *Yu, J., Zhang, L.* (2003) *Cancer Cell*, **4**, 248–249.
154. *Michalak, E.M., Villunger, A., Adams, J.M., Strasser, A.* (2008) *Cell Death Differ.*, **15**, 1019–1029.
155. *Liu, G., Parant, J.M., Lang, G., Chau, P., Chavez-Reyes, A., El-Naggar, A.K., Multani, A., Chang,*

- S., Lozano, G. (2004) *Nat. Genet.*, **36**, 63–68.
156. Kunz, C., Pebler, S., Otte, J., von der Ahe, D. (1995) *Nucleic Acids Res.*, **23**, 3710–3717.
157. Bian, J., Sun, Y. (1997) *Mol. Cell Biol.*, **17**, 6330–6338.
158. Zou, Z., Gao, C., Nagaich, A.K., Connell, T., Saito, S., Moul, J.W., Seth, P., Appella, E., Srivastava, S. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 6051–6054.
159. Sager, R., Sheng, S., Pemberton, P., Hendrix, M.J. (1997) *Adv. Exp. Med. Biol.*, **425**, 77–88.
160. Mashimo, T., Watabe, M., Hirota, S., Hosobe, S., Miura, K., Tegtmeyer, P.J., Rinker-Shaeffer, C.W., Watabe, K. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 11307–11311.
161. Malik, F.A., Sanders, A.J., Jiang, W.G. (2009) *Histol. Histopathol.*, **24**, 519–530.
162. Komarova, E.A., Diatchenko, L., Rokhlin, O.W., Hill, J.E., Wang, Z.J., Krivokrysenko, V.I., Feinstein, E., Gudkov, A.V. (1998) *Oncogene*, **17**, 1089–1096.
163. Buckbinder, L., Talbott, R., Velasco-Miguel, S., Takenaka, I., Faha, B., Seizinger, B.R., Kley, N. (1995) *Nature*, **377**, 646–649.
164. Feng, Z. (2010) *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **2**, a001057.
165. Levine, A.J., Feng, Z., Mak, T.W., You, H., Jin, S. (2006) *Genes Dev.*, **20**, 267–275.
166. Neubergh, M., Buckbinder, L., Seizinger, B., Kley, N. (1997) *Endocrine*, **7**, 107–109.
167. Dameron, K.M., Volpert, O.V., Tain-sky, M.A., Bouck, N. (1994) *Science*, **265**, 1582–1584.
168. Schultz, G.S., Wysocki, A. (2009) *Wound Repair Regen.*, **17**, 153–162.
169. Nishimori, H., Shiratsuchi, T., Urano, T., Kimura, Y., Kiyono, K., Tatsumi, K., Yoshida, S., Ono, M., Kuwano, M., Nakamura, Y., Tokino, T. (1997) *Oncogene*, **15**, 2145–2150.
170. Van Meir, E.G., Polverini, P.J., Chazin, V.R., Su Huang, H.J., de Tribolet, N., Cavenee, W.K. (1994) *Nat. Genet.*, **8**, 171–176.
171. Yu, X., Harris, S.L., Levine, A.J. (2006) *Cancer Res.*, **66**, 4795–4801.
172. Lespagnol, A., Duflaut, D., Beekman, C., Blanc, L., Fiucci, G., Marine, J.C., Vidal, M., Amson, R., Telerman, A. (2008) *Cell Death Differ.*, **15**, 1723–1733.
173. Yu, X., Riley, T., Levine, A.J. (2009) *FEBS J.*, **276**, 2201–2212.
174. Sadowski, L., Pilecka, I., Miaczynska, M. (2009) *Exp. Cell Res.*, **315**, 1601–1609.
175. Schorey, J.S., Bhatnagar, S. (2008) *Traffic*, **9**, 871–881.
176. Amzallag, N., Passer, B.J., Allanic, D., Segura, E., Thery, C., Goud, B., Amson, R., Telerman, A. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 46104–46112.
177. Di Guglielmo, G.M., Le Roy, C., Goodfellow, A.F., Wrana, J.L. (2003) *Nat. Cell Biol.*, **5**, 410–421.
178. Sigismund, S., Woelk, T., Puri, C., Maspero, E., Tacchetti, C., Transidico, P., Di Fiore, P.P., Polo, S. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 2760–2765.
179. Saksena, S., Sun, J., Chu, T., Emr, S.D. (2007) *Trends Biochem. Sci.*, **32**, 561–573.
180. Levine, A.J., Hu, W., Feng, Z. (2006) *Cell Death Differ.*, **13**, 1027–1036.
181. Kim, E., Deppert, W. (2006) *Cell Death Differ.*, **13**, 885–889.
182. Bakalkin, G., Selivanova, G., Yakovleva, T., Kiseleva, E., Kashuba, E., Magnusson, K.P., Szekely, L., Klein, G., Terenius, L., Wiman, K.G. (1995) *Nucleic Acids Res.*, **23**, 362–369.

183. Lee, S., Cavallo, L., Griffith, J. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 7532–7539.
184. Wetzel, C.C., Berberich, S.J. (2001) *Biochim. Biophys. Acta*, **1517**, 392–397.
185. Zotchev, S.B., Protopopova, M., Selivanova, G. (2000) *Nucleic Acids Res.*, **28**, 4005–4012.
186. Bakhanashvili, M., Hizi, A., Rahav, G. (2010) *Cell Cycle*, **9**, 1380–1389.
187. Mummenbrauer, T., Janus, F., Muller, B., Wiesmuller, L., Deppert, W., Grosse, F. (1996) *Cell*, **85**, 1089–1099.
188. Walter, K., Warnecke, G., Bowater, R., Deppert, W., Kim, E. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 42497–42507.
189. Huang, P. (1998) *Oncogene*, **17**, 261–270.
190. Melle, C., Nasheuer, H.P. (2002) *Nucleic Acids Res.*, **30**, 1493–1499.
191. Bakhanashvili, M. (2001) *Eur. J. Biochem.*, **268**, 2047–2054.
192. Bakhanashvili, M. (2001) *Oncogene*, **20**, 7635–7644.
193. Lilling, G., Elena, N., Sidi, Y., Bakhanashvili, M. (2003) *Oncogene*, **22**, 233–245.
194. Bakhanashvili, M., Novitsky, E., Lilling, G., Rahav, G. (2004) *Oncogene*, **23**, 6890–6899.
195. Janus, F., Albrechtsen, N., Dornreiter, I., Wiesmuller, L., Grosse, F., Deppert, W. (1999) *Cell Mol. Life Sci.*, **55**, 12–27.
196. Blander, G., Kipnis, J., Leal, J.F., Yu, C.E., Schellenberg, G.D., Oren, M. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 29463–29469.
197. Dutta, A., Ruppert, J.M., Aster, J.C., Winchester, E. (1993) *Nature*, **365**, 79–82.
198. Garkavtsev, I.V., Kley, N., Grigorian, I.A., Gudkov, A.V. (2001) *Oncogene*, **20**, 8276–8280.
199. Hanson, S., Kim, E., Deppert, W. (2005) *Oncogene*, **24**, 1641–1647.
200. Herring, C.J., West, C.M., Wilks, D.P., Davidson, S.E., Hunter, R.D., Berry, P., Forster, G., MacKinnon, J., Rafferty, J.A., Elder, R.H., Hendry, J.H., Margison, G.P. (1998) *Br. J. Cancer*, **78**, 1128–1133.
201. Jayaraman, L., Murthy, K.G., Zhu, C., Curran, T., Xanthoudakis, S., Prives, C. (1997) *Genes Dev.*, **11**, 558–570.
202. Sturzbecher, H.W., Donzelmann, B., Henning, W., Knippschild, U., Buchhop, S. (1996) *EMBO J.*, **15**, 1992–2002.
203. Wang, X.W., Vermeulen, W., Coursen, J.D., Gibson, M., Lupold, S.E., Forrester, K., Xu, G., Elmore, L., Yeh, H., Hoeijmakers, J.H., Harris, C.C. (1996) *Genes Dev.*, **10**, 1219–1232.
204. Xanthoudakis, S., Miao, G., Wang, F., Pan, Y.C., Curran, T. (1992) *EMBO J.*, **11**, 3323–3335.
205. Dregoes, D., Rybak, A.P., Rainbow, A.J. (2007) *DNA Repair (Amst)*, **6**, 588–601.
206. Hwang, B.J., Ford, J.M., Hanawalt, P.C., Chu, G. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 424–428.
207. Liu, G., Chen, X. (2006) *Mol. Cell Biol.*, **26**, 1398–1413.
208. Chen, J., Sadowski, I. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 4813–4818.
209. Scherer, S.J., Maier, S.M., Seifert, M., Hanselmann, R.G., Zang, K.D., Muller-Hermelink, H.K., Angel, P., Welter, C., Schartl, M. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 37469–37473.
210. Shimodaira, H., Yoshioka-Yamashita, A., Kolodner, R.D., Wang, J.Y. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 2420–2425.
211. Xu, J., Morris, G.F. (1999) *Mol. Cell Biol.*, **19**, 12–20.

212. Kimura, T., Takeda, S., Sagiya, Y., Gotoh, M., Nakamura, Y., Arakawa, H. (2003) *Nat. Genet.*, **34**, 440–445.
213. Kolberg, M., Strand, K.R., Graff, P., Andersson, K.K. (2004) *Biochim. Biophys. Acta*, **1699**, 1–34.
214. Wang, J., Lohman, G.J., Stubbe, J. (2009) *Biochemistry (Mosc)*, **48**, 11612–11621.
215. Lebedeva, M.A., Eaton, J.S., Shadel, G.S. (2009) *Biochim. Biophys. Acta*, **1787**, 328–334.
216. Jackson, A.L., Loeb, L.A. (2001) *Mutat. Res.*, **477**, 7–21.
217. Beckman, K.B., Ames, B.N. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 19633–19636.
218. Miller, D.M., Buettner, G.R., Aust, S.D. (1990) *Free Radic. Biol. Med.*, **8**, 95–108.
219. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T., Mazur, M., Telser, J. (2007) *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **39**, 44–84.
220. Muller, F.L., Liu, Y., Van Remmen, H. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 49064–49073.
221. Lambeth, J.D. (2004) *Nat. Rev. Immunol.*, **4**, 181–189.
222. Muller, F.L., Lustgarten, M.S., Jang, Y., Richardson, A., Van Remmen, H. (2007) *Free Radic. Biol. Med.*, **43**, 477–503.
223. Miwa, S., Muller, F.L., Beckman, K.B., in *Aging Medicine: Oxidative stress in aging: From model systems to human diseases*, (Ed: K.B.B.S. Miwa, and F.L. Muller), Humana Press, Totowa, N.J. **2008**, 11–35.
224. Ho, Y.S., Xiong, Y., Ma, W., Spector, A., Ho, D.S. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 32804–32812.
225. Andziak, B., O'Connor, T.P., Buffenstein, R. (2005) *Mech. Ageing Dev.*, **126**, 1206–1212.
226. Rhee, S.G., Chae, H.Z., Kim, K. (2005) *Free Radic. Biol. Med.*, **38**, 1543–1552.
227. Martindale, J.L., Holbrook, N.J. (2002) *J. Cell Physiol.*, **192**, 1–15.
228. Bensaad, K., Vousden, K.H. (2007) *Trends Cell Biol.*, **17**, 286–291.
229. Desaint, S., Luriau, S., Aude, J.C., Rousselet, G., Toledano, M.B. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 31157–31163.
230. Liu, G., Chen, X. (2002) *Oncogene*, **21**, 7195–7204.
231. Rivera, A., Maxwell, S.A. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 29346–29354.
232. Yoon, K.A., Nakamura, Y., Arakawa, H. (2004) *J. Hum. Genet.*, **49**, 134–140.
233. Hussain, S.P., Amstad, P., He, P., Robles, A., Lupold, S., Kaneko, I., Ichimiya, M., Sengupta, S., Mechanic, L., Okamura, S., Hofseth, L.J., Moake, M., Nagashima, M., Forrester, K.S., Harris, C.C. (2004) *Cancer Res.*, **64**, 2350–2356.
234. O'Connor, J.C., Wallace, D.M., O'Brien, C., Cotter, T.G. (2008) *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **49**, 4237–4244.
235. Velasco-Miguel, S., Buckbinder, L., Jean, P., Gelbert, L., Talbott, R., Laidlaw, J., Seizinger, B., Kley, N. (1999) *Oncogene*, **18**, 127–137.
236. Budanov, A.V., Shoshani, T., Faerman, A., Zelin, E., Kamer, I., Kalinski, H., Gorodin, S., Fishman, A., Chajut, A., Einat, P., Skaliter, R., Gudkov, A.V., Chumakov, P.M., Feinstein, E. (2002) *Oncogene*, **21**, 6017–6031.
237. Bensaad, K., Tsuruta, A., Selak, M.A., Vidal, M.N., Nakano, K., Bartrons, R., Gottlieb, E., Vousden, K.H. (2006) *Cell*, **126**, 107–120.
238. Hu, W., Zhang, C., Wu, R., Sun, Y., Levine, A., Feng, Z. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 7455–7460.
239. Cano, C.E., Gommeaux, J., Pietri, S., Culcasi, M., Garcia, S., Seux, M., Barelher, S., Vasseur, S., Spoto, R.P., Pebusque, M.J., Dusetti, N.J.,

- Iovanna, J.L., Carrier, A. (2009) *Cancer Res.*, **69**, 219–226.
240. Ding, B., Chi, S.G., Kim, S.H., Kang, S., Cho, J.H., Kim, D.S., Cho, N.H. (2007) *J. Cell Sci.*, **120**, 2284–2294.
241. Budanov, A.V., Sablina, A.A., Feinstein, E., Koonin, E.V., Chumakov, P.M. (2004) *Science*, **304**, 596–600.
242. Chen, L., Xie, Q.W., Nathan, C. (1998) *Mol. Cell*, **1**, 795–805.
243. Woo, H.A., Kang, S.W., Kim, H.K., Yang, K.S., Chae, H.Z., Rhee, S.G. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 47361–47364.
244. Wood, Z.A., Poole, L.B., Karplus, P.A. (2003) *Science*, **300**, 650–653.
245. Wood, Z.A., Schroder, E., Robin Harris, J., Poole, L.B. (2003) *Trends Biochem. Sci.*, **28**, 32–40.
246. Yang, K.S., Kang, S.W., Woo, H.A., Hwang, S.C., Chae, H.Z., Kim, K., Rhee, S.G. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 38029–38036.
247. Biteau, B., Labarre, J., Toledano, M. B. (2003) *Nature*, **425**, 980–984.
248. Okar, D.A., Manzano, A., Navarro-Sabate, A., Riera, L., Bartrons, R., Lange, A.J. (2001) *Trends Biochem. Sci.*, **26**, 30–35.
249. Bensaad, K., Cheung, E.C., Vousden, K.H. (2009) *EMBO J.*, **28**, 3015–3026.
250. Matoba, S., Kang, J.G., Patino, W.D., Wragg, A., Boehm, M., Gavrillova, O., Hurley, P.J., Bunz, F., Hwang, P.M. (2006) *Science*, **312**, 1650–1653.
251. Ma, W., Sung, H.J., Park, J.Y., Matoba, S., Hwang, P.M. (2007) *J. Bioenerg. Biomembr.*, **39**, 243–246.
252. Liu, B., Chen, Y., St Clair, D.K. (2008) *Free Radic. Biol. Med.*, **44**, 1529–1535.
253. Stambolsky, P., Weisz, L., Shats, I., Klein, Y., Goldfinger, N., Oren, M., Rotter, V. (2006) *Cell Death Differ.*, **13**, 2140–2149.
254. Punj, V., Chakrabarty, A.M. (2003) *Cell Microbiol.*, **5**, 225–231.
255. Vahsen, N., Cande, C., Briere, J.J., Benit, P., Joza, N., Larochette, N., Mastroberardino, P.G., Pequignot, M.O., Casares, N., Lazar, V., Feraud, O., Debili, N., Wissing, S., Engelhardt, S., Madeo, F., Piacentini, M., Penninger, J.M., Schagger, H., Rustin, P., Kroemer, G. (2004) *EMBO J.*, **23**, 4679–4689.
256. Klein, J.A., Longo-Guess, C.M., Rossmann, M.P., Seburn, K.L., Hurd, R.E., Frankel, W.N., Bronson, R.T., Ackerman, S.L. (2002) *Nature*, **419**, 367–374.
257. Joza, N., Susin, S.A., Daugas, E., Stanford, W.L., Cho, S.K., Li, C.Y., Sasaki, T., Elia, A.J., Cheng, H.Y., Ravagnan, L., Ferri, K.F., Zamzami, N., Wakeham, A., Hakem, R., Yoshida, H., Kong, Y.Y., Mak, T.W., Zuniga-Pflucker, J.C., Kroemer, G., Penninger, J.M. (2001) *Nature*, **410**, 549–554.
258. Cande, C., Vahsen, N., Garrido, C., Kroemer, G. (2004) *Cell Death Differ.*, **11**, 591–595.
259. Yu, S.W., Wang, H., Poitras, M.F., Coombs, C., Bowers, W.J., Federoff, H.J., Poirier, G.G., Dawson, T.M., Dawson, V.L. (2002) *Science*, **297**, 259–263.
260. Andrabi, S.A., Kim, N.S., Yu, S.W., Wang, H., Koh, D.W., Sasaki, M., Klaus, J.A., Otsuka, T., Zhang, Z., Koehler, R.C., Hurn, P.D., Poirier, G.G., Dawson, V.L., Dawson, T.M. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 18308–18313.
261. Yu, S.W., Andrabi, S.A., Wang, H., Kim, N.S., Poirier, G.G., Dawson, T.M., Dawson, V.L. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 18314–18319.
262. Ye, H., Cande, C., Stephanou, N.C., Jiang, S., Gurbuxani, S., Larochette, N., Daugas, E., Garrido, C., Kroemer, G., Wu, H. (2002) *Nat. Struct. Biol.*, **9**, 680–684.

263. Susin, S.A., Lorenzo, H.K., Zamzami, N., Marzo, I., Brenner, C., Larochette, N., Prevost, M.C., Alzari, P.M., Kroemer, G. (1999) *J. Exp. Med.*, **189**, 381–394.
264. Miramar, M.D., Costantini, P., Ravagnan, L., Saraiva, L.M., Haouzi, D., Brothers, G., Penninger, J.M., Peleato, M.L., Kroemer, G., Susin, S.A. (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 16391–16398.
265. Urbano, A., Lakshmanan, U., Choo, P.H., Kwan, J.C., Ng, P.Y., Guo, K., Dhakshinamoorthy, S., Porter, A. (2005) *EMBO J.*, **24**, 2815–2826.
266. Kondoh, H., Leonart, M.E., Gil, J., Wang, J., Degan, P., Peters, G., Martinez, D., Carnero, A., Beach, D. (2005) *Cancer Res.*, **65**, 177–185.
267. Ruiz-Lozano, P., Hixon, M.L., Wagner, M.W., Flores, A.I., Ikawa, S., Baldwin, A.S., Jr., Chien, K.R., Gualberto, A. (1999) *Cell Growth Differ.*, **10**, 295–306.
268. Kondoh, H., Leonart, M.E., Bernard, D., Gil, J. (2007) *Histol. Histopathol.*, **22**, 85–90.
269. Essmann, F., Pohlmann, S., Gillissen, B., Daniel, P.T., Schulze-Osthoff, K., Janicke, R.U. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 37169–37177.
270. Achanta, G., Sasaki, R., Feng, L., Carew, J.S., Lu, W., Pelicano, H., Keating, M.J., Huang, P. (2005) *EMBO J.*, **24**, 3482–3492.
271. Cho, Y., Gorina, S., Jeffrey, P.D., Pavletich, N.P. (1994) *Science*, **265**, 346–355.
272. Velu, C.S., Niture, S.K., Doneanu, C.E., Pattabiraman, N., Srivenugopal, K.S. (2007) *Biochemistry (Mosc)*, **46**, 7765–7780.
273. Sun, X.Z., Vinci, C., Makmura, L., Han, S., Tran, D., Nguyen, J., Hamann, M., Grazziani, S., Sheppard, S., Gutova, M., Zhou, F., Thomas, J., Momand, J. (2003) *Antioxid. Redox Signal.*, **5**, 655–665.
274. Buzek, J., Latonen, L., Kurki, S., Peltonen, K., Laiho, M. (2002) *Nucleic Acids Res.*, **30**, 2340–2348.
275. Ueno, M., Masutani, H., Arai, R.J., Yamauchi, A., Hirota, K., Sakai, T., Inamoto, T., Yamaoka, Y., Yodoi, J., Nikaido, T. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 35809–35815.
276. Seo, Y.R., Kelley, M.R., Smith, M.L. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 14548–14553.
277. Seemann, S., Hainaut, P. (2005) *Oncogene*, **24**, 3853–3863.
278. Tomasini, R., Samir, A.A., Carrier, A., Isnardon, D., Cecchinelli, B., Soddu, S., Malissen, B., Dagorn, J.C., Iovanna, J.L., Dusetti, N.J. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 37722–37729.
279. Yoshida, K., Liu, H., Miki, Y. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 5734–5740.
280. Di Stefano, V., Blandino, G., Sacchi, A., Soddu, S., D'Orazi, G. (2004) *Oncogene*, **23**, 5185–5192.
281. Okamura, S., Arakawa, H., Tanaka, T., Nakanishi, H., Ng, C.C., Taya, Y., Monden, M., Nakamura, Y. (2001) *Mol. Cell*, **8**, 85–94.
282. Gommeaux, J., Cano, C., Garcia, S., Gironella, M., Pietri, S., Culcasi, M., Pebusque, M.J., Malissen, B., Dusetti, N., Iovanna, J., Carrier, A. (2007) *Mol. Cell Biol.*, **27**, 2215–2228.
283. Tomasini, R., Seux, M., Nowak, J., Bontemps, C., Carrier, A., Dagorn, J.C., Pebusque, M.J., Iovanna, J.L., Dusetti, N.J. (2005) *Oncogene*, **24**, 8093–8104.
284. Nowak, J., Iovanna, J.L. (2009) *Autophagy*, **5**, 383–384.
285. Nowak, J., Archange, C., Tardivel-Lacombe, J., Pontarotti, P., Pebusque, M.J., Vaccaro, M.I., Velasco, G., Dagorn, J.C., Iovanna, J.L. (2009) *Mol. Biol. Cell*, **20**, 870–881.
286. Hanahan, D., Weinberg, R.A. (2000) *Cell*, **100**, 57–70.

287. DeBerardinis, R.J., Lum, J.J., Hatzivassiliou, G., Thompson, C.B. (2008) *Cell Metab.*, **7**, 11–20.
288. Narkar, V.A., Downes, M., Yu, R.T., Embley, E., Wang, Y.X., Banayo, E., Mihaylova, M.M., Nelson, M.C., Zou, Y., Juguilon, H., Kang, H., Shaw, R.J., Evans, R.M. (2008) *Cell*, **134**, 405–415.
289. Bauer, D.E., Harris, M.H., Plas, D.R., Lum, J.J., Hammerman, P.S., Rathmell, J.C., Riley, J.L., Thompson, C.B. (2004) *FASEB J.*, **18**, 1303–1305.
290. Yeung, S.J., Pan, J., Lee, M.H. (2008) *Cell Mol. Life Sci.*, **65**, 3981–3999.
291. Ibrahim, M.M., Razmara, M., Nguyen, D., Donahue, R.J., Wubah, J.A., Knudsen, T.B. (1998) *Biochim. Biophys. Acta*, **1403**, 254–264.
292. Ramanathan, A., Wang, C., Schreiber, S.L. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 5992–5997.
293. Zhou, S., Kachhap, S., Singh, K.K. (2003) *Mutagenesis*, **18**, 287–292.
294. Vousden, K.H. (2009) *Biochem. Soc. Trans.*, **37**, 511–517.
295. Vousden, K.H., Ryan, K.M. (2009) *Nat. Rev. Cancer*, **9**, 691–700.
296. Schwartzenberg-Bar-Yoseph, F., Armoni, M., Karnieli, E. (2004) *Cancer Res.*, **64**, 2627–2633.
297. Mathupala, S.P., Heese, C., Pedersen, P.L. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 22776–22780.
298. Smith, T.A. (2000) *Br. J. Biomed. Sci.*, **57**, 170–178.
299. Corcoran, C.A., Huang, Y., Sheikh, M.S. (2006) *Cancer Biol. Ther.*, **5**, 1610–1613.
300. Lyakhov, I.G., Krishnamachari, A., Schneider, T.D. (2008) *Nucleic Acids Res.*, **36**, 3828–3833.
301. Tian, W.N., Braunstein, L.D., Apse, K., Pang, J., Rose, M., Tian, X., Stanton, R.C. (1999) *Am. J. Physiol.*, **276**, C1121–1131.
302. Weintraub, H., Hauschka, S., Tapscott, S.J. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 4570–4571.
303. Araki, N., Morimasa, T., Sakai, T., Tokuoh, H., Yunoue, S., Kamo, M., Miyazaki, K., Abe, K., Saya, H., Tsugita, A. (2000) *Electrophoresis*, **21**, 1880–1889.
304. Jaksch, M., Paret, C., Stucka, R., Horn, N., Muller-Hocker, J., Horvath, R., Trepesch, N., Stecker, G., Freisinger, P., Thirion, C., Muller, J., Lunke, R., Rodel, G., Shoubbridge, E.A., Lochmuller, H. (2001) *Hum. Mol. Genet.*, **10**, 3025–3035.
305. Okorokov, A.L., Milner, J. (1999) *Mol. Cell Biol.*, **19**, 7501–7510.
306. McLure, K.G., Takagi, M., Kastan, M.B. (2004) *Mol. Cell Biol.*, **24**, 9958–9967.
307. Warburg, O. (1956) *Science*, **123**, 309–314.
308. Warburg, O., Posener, K., Negelein, E. (1924) *Biochemische Zeitschrift*, **152**, 319–344.
309. Warburg, O.H. (1947) *Abh. der Deutschen Akad. der Wissenschaften zu Berlin*.
310. Bonnet, S., Archer, S.L., Allalunis-Turner, J., Haromy, A., Beaulieu, C., Thompson, R., Lee, C.T., Lopaschuk, G.D., Puttagunta, L., Harry, G., Hashimoto, K., Porter, C.J., Andrade, M.A., Thebaud, B., Michelakis, E.D. (2007) *Cancer Cell*, **11**, 37–51.
311. Coghlan, A. (2007) *New Scientist* **193**, 13.
312. Dhar, S., Lippard, S.J. (2009) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 22199–22204.
313. Wang, T., Marquardt, C., Foker, J. (1976) *Nature*, **261**, 702–705.
314. Pfeiffer, T., Schuster, S., Bonhoeffer, S. (2001) *Science*, **292**, 504–507.
315. Gillies, R.J., Gatenby, R.A. (2007) *J. Bioenerg. Biomembr.*, **39**, 251–257.

316. Ren, B., Yee, K.O., Lawler, J., Khosravi-Far, R. (2006) *Biochim. Biophys. Acta*, **1765**, 178–188.
317. Kandt, R.S., Haines, J.L., Smith, M., Northrup, H., Gardner, R.J., Short, M.P., Dumars, K., Roach, E.S., Steingold, S., Wall, S., et al. (1992) *Nat. Genet.*, **2**, 37–41.
318. van Slegtenhorst, M., de Hoogt, R., Hermans, C., Nellist, M., Janssen, B., Verhoef, S., Lindhout, D., van den Ouweland, A., Halley, D., Young, J., Burley, M., Jeremiah, S., Woodward, K., Nahmias, J., Fox, M., Ekong, R., Osborne, J., Wolfe, J., Povey, S., Snell, R.G., Cheadle, J.P., Jones, A.C., Tachataki, M., Ravine, D., Sampson, J.R., Reeve, M.P., Richardson, P., Wilmer, F., Munro, C., Hawkins, T.L., Sepp, T., Ali, J.B., Ward, S., Green, A.J., Yates, J.R., Kwiatkowska, J., Henske, E.P., Short, M.P., Haines, J.H., Jozwiak, S., Kwiatkowski, D.J. (1997) *Science*, **277**, 805–808.
319. Crino, P.B., Nathanson, K.L., Henske, E.P. (2006) *N. Engl. J. Med.*, **355**, 1345–1356.
320. Benvenuto, G., Li, S., Brown, S.J., Braverman, R., Vass, W.C., Cheadle, J.P., Halley, D.J., Sampson, J.R., Wienecke, R., DeClue, J.E. (2000) *Oncogene*, **19**, 6306–6316.
321. Chong-Kopera, H., Inoki, K., Li, Y., Zhu, T., Garcia-Gonzalo, F.R., Rosa, J.L., Guan, K.L. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 8313–8316.
322. Gao, X., Pan, D. (2001) *Genes Dev.*, **15**, 1383–1392.
323. Huang, J., Manning, B.D. (2008) *Biochem. J.*, **412**, 179–190.
324. Guertin, D.A., Sabatini, D.M. (2007) *Cancer Cell*, **12**, 9–22.
325. Sarbassov, D.D., Ali, S.M., Sabatini, D.M. (2005) *Curr. Opin. Cell Biol.*, **17**, 596–603.
326. Wullschleger, S., Loewith, R., Hall, M.N. (2006) *Cell*, **124**, 471–484.
327. Sarbassov, D.D., Ali, S.M., Kim, D.H., Guertin, D.A., Latek, R.R., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., Sabatini, D.M. (2004) *Curr. Biol.*, **14**, 1296–1302.
328. Cybulski, N., Hall, M.N. (2009) *Trends Biochem. Sci.*, **34**, 620–627.
329. Yang, Q., Guan, K.L. (2007) *Cell Res.*, **17**, 666–681.
330. Cai, S.L., Tee, A.R., Short, J.D., Bergeron, J.M., Kim, J., Shen, J., Guo, R., Johnson, C.L., Kiguchi, K., Walker, C.L. (2006) *J. Cell Biol.*, **173**, 279–289.
331. Jung, C.H., Ro, S.H., Cao, J., Otto, N.M., Kim, D.H. (2010) *FEBS Lett.*, **584**, 1287–1295.
332. Corradetti, M.N., Guan, K.L. (2006) *Oncogene*, **25**, 6347–6360.
333. Huang, J., Dibble, C.C., Matsuzaki, M., Manning, B.D. (2008) *Mol. Cell Biol.*, **28**, 4104–4115.
334. Feng, Z., Hu, W., de Stanchina, E., Teresky, A.K., Jin, S., Lowe, S., Levine, A.J. (2007) *Cancer Res.*, **67**, 3043–3053.
335. Feng, Z., Zhang, H., Levine, A.J., Jin, S. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 8204–8209.
336. Carling, D. (2004) *Trends Biochem. Sci.*, **29**, 18–24.
337. Shaw, R.J. (2006) *Curr. Opin. Cell Biol.*, **18**, 598–608.
338. Carling, D., Sanders, M.J., Woods, A. (2008) *Int. J. Obes. (Lond.)*, **32 Suppl. 4**, S55–59.
339. Suter, M., Riek, U., Tuerk, R., Schlattner, U., Wallimann, T., Neumann, D. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 32207–32216.
340. Yoo, L.I., Chung, D.C., Yuan, J. (2002) *Nat. Rev. Cancer*, **2**, 529–535.
341. Jorgensen, S.B., Rose, A.J. (2008) *Front. Biosci.*, **13**, 5589–5604.
342. Inoki, K., Ouyang, H., Zhu, T., Lindvall, C., Wang, Y., Zhang, X., Yang, Q., Bennett, C., Harada, Y.,

- Stankunas, K., Wang, C.Y., He, X., MacDougald, O.A., You, M., Williams, B.O., Guan, K.L. (2006) *Cell*, **126**, 955–968.
343. Warden, S.M., Richardson, C., O'Donnell, J., Jr., Stapleton, D., Kemp, B.E., Witters, L.A. (2001) *Biochem. J.*, **354**, 275–283.
344. Zeng, P.Y., Berger, S.L. (2006) *Cancer Res.*, **66**, 10701–10708.
345. Okoshi, R., Ozaki, T., Yamamoto, H., Ando, K., Koida, N., Ono, S., Koda, T., Kamijo, T., Nakagawara, A., Kizaki, H. (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**, 3979–3987.
346. Jones, R.G., Plas, D.R., Kubek, S., Buzzai, M., Mu, J., Xu, Y., Birnbaum, M.J., Thompson, C.B. (2005) *Mol. Cell*, **18**, 283–293.
347. Buzzai, M., Jones, R.G., Amara-vadi, R.K., Lum, J.J., DeBerardinis, R.J., Zhao, F., Violette, B., Thompson, C.B. (2007) *Cancer Res.*, **67**, 6745–6752.
348. Lum, J.J., Bauer, D.E., Kong, M., Harris, M.H., Li, C., Lindsten, T., Thompson, C.B. (2005) *Cell*, **120**, 237–248.
349. Brugarolas, J., Lei, K., Hurley, R.L., Manning, B.D., Reiling, J.H., Hafen, E., Witters, L.A., Ellisen, L.W., Kaelin, W.G., Jr. (2004) *Genes Dev.*, **18**, 2893–2904.
350. Budanov, A.V., Karin, M. (2008) *Cell*, **134**, 451–460.
351. Maiuri, M.C., Malik, S.A., Morselli, E., Kepp, O., Criollo, A., Mouchel, P.L., Carnuccio, R., Kroemer, G. (2009) *Cell Cycle*, **8**, 1571–1576.
352. Greer, E.L., Oskoui, P.R., Banko, M.R., Maniar, J.M., Gygi, M.P., Gygi, S.P., Brunet, A. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 30107–30119.
353. Greer, E.L., Dowlatshahi, D., Banko, M.R., Villen, J., Hoang, K., Blanchard, D., Gygi, S.P., Brunet, A. (2007) *Curr. Biol.*, **17**, 1646–1656.
354. Lee, J.H., Budanov, A.V., Park, E.J., Birse, R., Kim, T.E., Perkins, G.A., Ocorr, K., Ellisman, M.H., Bodmer, R., Bier, E., Karin, M. (2010) *Science*, **327**, 1223–1228.
355. Nogueira, V., Park, Y., Chen, C.C., Xu, P.Z., Chen, M.L., Tonic, I., Unterman, T., Hay, N. (2008) *Cancer Cell*, **14**, 458–470.
356. Sarbassov, D.D., Guertin, D.A., Ali, S.M., Sabatini, D.M. (2005) *Science*, **307**, 1098–1101.
357. Alessi, D.R., James, S.R., Downes, C.P., Holmes, A.B., Gaffney, P.R., Reese, C.B., Cohen, P. (1997) *Curr. Biol.*, **7**, 261–269.
358. Vogelstein, B., Kinzler, K.W. (2004) *Nat. Med.*, **10**, 789–799.
359. Stambolic, V., MacPherson, D., Sas, D., Lin, Y., Snow, B., Jang, Y., Benchimol, S., Mak, T.W. (2001) *Mol. Cell*, **8**, 317–325.
360. Padmanabhan, S., Mukhopadhyay, A., Narasimhan, S.D., Tesz, G., Czech, M.P., Tissenbaum, H.A. (2009) *Cell*, **136**, 939–951.
361. Carracedo, A., Pandolfi, P.P. (2008) *Oncogene*, **27**, 5527–5541.
362. Hill, M.M., Clark, S.F., Tucker, D.F., Birnbaum, M.J., James, D.E., Macaulay, S.L. (1999) *Mol. Cell Biol.*, **19**, 7771–7781.
363. Young, C.D., Anderson, S.M. (2008) *Breast Cancer Res.*, **10**, 202.
364. Robey, R.B., Hay, N. (2006) *Oncogene*, **25**, 4683–4696.
365. Berwick, D.C., Hers, I., Heesom, K.J., Moule, S.K., Tavaré, J.M. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 33895–33900.
366. Mayo, L.D., Donner, D.B. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 11598–11603.
367. Zhou, B.P., Liao, Y., Xia, W., Zou, Y., Spohn, B., Hung, M.C. (2001) *Nat. Cell Biol.*, **3**, 973–982.
368. Brunet, A., Bonni, A., Zigmond, M.J., Lin, M.Z., Juo, P., Hu, L.S., An-

- derson, M.J., Arden, K.C., Blenis, J., Greenberg, M.E. (1999) *Cell*, **96**, 857–868.
369. Brunet, A., Kanai, F., Stehn, J., Xu, J., Sarbassova, D., Frangioni, J.V., Dalal, S.N., DeCaprio, J.A., Greenberg, M.E., Yaffe, M.B. (2002) *J. Cell Biol.*, **156**, 817–828.
370. Gross, D.N., van den Heuvel, A.P., Birnbaum, M.J. (2008) *Oncogene*, **27**, 2320–2336.
371. Ni, Y.G., Wang, N., Cao, D.J., Sachan, N., Morris, D.J., Gerard, R.D., Kuro, O.M., Rothermel, B.A., Hill, J.A. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 20517–20522.
372. Scherz-Shouval, R., Elazar, Z. (2007) *Trends Cell Biol.*, **17**, 422–427.
373. Droge, W., Kinscherf, R. (2008) *Antioxid. Redox Signal*, **10**, 661–678.
374. Shintani, T., Klionsky, D.J. (2004) *Science*, **306**, 990–995.
375. Gozuacik, D., Kimchi, A. (2007) *Curr. Top. Dev. Biol.*, **78**, 217–245.
376. Mizushima, N., Levine, B., Cuervo, A.M., Klionsky, D.J. (2008) *Nature*, **451**, 1069–1075.
377. Glick, D., Barth, S., Macleod, K.F. (2010) *J. Pathol.*, **221**, 3–12.
378. Fimia, G.M., Piacentini, M. (2010) *Cell. Mol. Life Sci.*, **67**, 1581–1588.
379. Wang, R.C., Levine, B. (2010) *FEBS Lett.*, **584**, 1417–1426.
380. Maiuri, M.C., Galluzzi, L., Morselli, E., Kepp, O., Malik, S.A., Kroemer, G. (2010) *Curr. Opin. Cell Biol.*, **22**, 181–185.
381. Tasdemir, E., Chiara Maiuri, M., Morselli, E., Criollo, A., D'Amelio, M., Djavaheri-Mergny, M., Cecconi, F., Tavernarakis, N., Kroemer, G. (2008) *Autophagy*, **4**, 810–814.
382. Tasdemir, E., Maiuri, M.C., Galluzzi, L., Vitale, I., Djavaheri-Mergny, M., D'Amelio, M., Criollo, A., Morselli, E., Zhu, C., Harper, F., Nannmark, U., Samara, C., Pinton, P., Vicencio, J.M., Carnuccio, R., Moll, U.M., Madeo, F., Paterlini-Brechot, P., Rizzuto, R., Szabadkai, G., Pierron, G., Blomgren, K., Tavernarakis, N., Codogno, P., Cecconi, F., Kroemer, G. (2008) *Nat. Cell Biol.*, **10**, 676–687.
383. Galluzzi, L., Morselli, E., Kepp, O., Maiuri, M.C., Kroemer, G. (2010) *Cell Cycle*, **9**, 250–255.
384. Crichton, D., Wilkinson, S., Ryan, K.M. (2007) *Autophagy*, **3**, 72–74.
385. Kerley-Hamilton, J.S., Pike, A.M., Hutchinson, J.A., Freemantle, S.J., Spinella, M.J. (2007) *Biochim. Biophys. Acta*, **1769**, 209–219.
386. Kondo, Y., Kanzawa, T., Sawaya, R., Kondo, S. (2005) *Nat. Rev. Cancer*, **5**, 726–734.
387. Crichton, D., O'Prey, J., Bell, H.S., Ryan, K.M. (2007) *Cell Death Differ.*, **14**, 1071–1079.
388. Lomonosova, E., Chinnadurai, G. (2008) *Oncogene*, **27 Suppl. 1**, S2–19.
389. Abida, W.M., Gu, W. (2008) *Cancer Res.*, **68**, 352–357.
390. Reef, S., Zalckvar, E., Shifman, O., Bialik, S., Sabanay, H., Oren, M., Kimchi, A. (2006) *Mol. Cell*, **22**, 463–475.
391. Morselli, E., Tasdemir, E., Maiuri, M.C., Galluzzi, L., Kepp, O., Criollo, A., Vicencio, J.M., Soussi, T., Kroemer, G. (2008) *Cell Cycle*, **7**, 3056–3061.
392. Tavernarakis, N., Pasparakis, A., Tasdemir, E., Maiuri, M.C., Kroemer, G. (2008) *Autophagy*, **4**, 870–873.
393. Hangen, E., Blomgren, K., Benit, P., Kroemer, G., Modjtahedi, N. (2010) *Trends Biochem. Sci.*, **35**, 278–87.
394. Stewart, C.L., Kaspar, P., Brunet, L.J., Bhatt, H., Gadi, I., Kontgen, F., Abbondanzo, S.J. (1992) *Nature*, **359**, 76–79.

395. Hong, H., Takahashi, K., Ichisaka, T., Aoi, T., Kanagawa, O., Nakagawa, M., Okita, K., Yamanaka, S. (2009) *Nature*, **460**, 1132–1135.
396. Utikal, J., Polo, J.M., Stadtfeld, M., Maherali, N., Kulalert, W., Walsh, R.M., Khalil, A., Rheinwald, J.G., Hochedlinger, K. (2009) *Nature*, **460**, 1145–1148.
397. Marion, R.M., Strati, K., Li, H., Murga, M., Blanco, R., Ortega, S., Fernandez-Capetillo, O., Serrano, M., Blasco, M.A. (2009) *Nature*, **460**, 1149–1153.
398. Tyner, S.D., Venkatachalam, S., Choi, J., Jones, S., Ghebranious, N., Igelmann, H., Lu, X., Soron, G., Cooper, B., Brayton, C., Hee Park, S., Thompson, T., Karsenty, G., Bradley, A., Donehower, L.A. (2002) *Nature*, **415**, 45–53.
399. Garcia-Cao, I., Garcia-Cao, M., Martin-Caballero, J., Criado, L.M., Klatt, P., Flores, J.M., Weill, J.C., Blasco, M.A., Serrano, M. (2002) *EMBO J.*, **21**, 6225–6235.
400. Mendrysa, S.M., O'Leary, K.A., McElwee, M.K., Michalowski, J., Eisenman, R.N., Powell, D.A., Perry, M.E. (2006) *Genes Dev.*, **20**, 16–21.
401. van Heemst, D., Mooijaart, S.P., Beekman, M., Schreuder, J., de Craen, A.J., Brandt, B.W., Slagboom, P.E., Westendorp, R.G. (2005) *Exp. Gerontol.*, **40**, 11–15.
402. Bonafe, M., Salvioli, S., Barbi, C., Trapassi, C., Tocco, F., Storci, G., Invidia, L., Vannini, I., Rossi, M., Marzi, E., Mishto, M., Capri, M., Olivieri, F., Antonicelli, R., Memo, M., Uberti, D., Nacmias, B., Sorbi, S., Monti, D., Franceschi, C. (2004) *Cell Death Differ.*, **11**, 962–973.
403. Orsted, D.D., Bojesen, S.E., Tybjaerg-Hansen, A., Nordestgaard, B.G. (2007) *J. Exp. Med.*, **204**, 1295–1301.
404. Rodier, F., Campisi, J., Bhaumik, D. (2007) *Nucleic Acids Res.*, **35**, 7475–7484.
405. Holloszy, J.O., Fontana, L. (2007) *Exp. Gerontol.*, **42**, 709–712.
406. Blagosklonny, M.V. (2010) *Cell Cycle*, **9**, 683–688.
407. Levine, B., Kroemer, G. (2009) *Cell Death Differ.*, **16**, 1–2.
408. Salminen, A., Kaarniranta, K. (2009) *Trends Mol. Med.*, **15**, 217–224.
409. Yen, W.L., Klionsky, D.J. (2008) *Physiology (Bethesda)*, **23**, 248–262.
410. Blagosklonny, M.V. (2008) *Cell Cycle*, **7**, 3344–3354.
411. Blagosklonny, M.V. (2009) *Cell Cycle*, **8**, 4055–4059.
412. Harrison, D.E., Strong, R., Sharp, Z.D., Nelson, J.F., Astle, C.M., Flurkey, K., Nadon, N.L., Wilkinson, J.E., Frenkel, K., Carter, C.S., Pahor, M., Javors, M.A., Fernandez, E., Miller, R.A. (2009) *Nature*, **460**, 392–395.
413. Anisimov, V.N., Berstein, L.M., Egormin, P.A., Piskunova, T.S., Popovich, I.G., Zabezhinski, M.A., Kovalenko, I.G., Poroshina, T.E., Semenchenko, A.V., Provinciali, M., Re, F., Franceschi, C. (2005) *Exp. Gerontol.*, **40**, 685–693.
414. Anisimov, V.N., Berstein, L.M., Egormin, P.A., Piskunova, T.S., Popovich, I.G., Zabezhinski, M.A., Tyndyk, M.L., Yurova, M.V., Kovalenko, I.G., Poroshina, T.E., Semenchenko, A.V. (2008) *Cell Cycle*, **7**, 2769–2773.
415. Anisimov, V.N., Egormin, P.A., Berstein, L.M., Zabezhinski, M.A., Piskunova, T.S., Popovich, I.G., Semenchenko, A.V. (2005) *Bull. Exp. Biol. Med.*, **139**, 721–723.
416. Anisimov, V.N., Egormin, P.A., Piskunova, T.S., Popovich, I.G., Tyndyk, M.L., Yurova, M.N., Zabezhinski, M.A., Anikin, I.V., Karkach, A.S., Roman'yukha, A.A. (2010) *Cell Cycle*, **9**, 188–197.

417. Selman, C., Tullet, J.M., Wieser, D., Irvine, E., Lingard, S.J., Choudhury, A.I., Claret, M., Al-Qassab, H., Carmignac, D., Ramadani, F., Woods, A., Robinson, I.C., Schuster, E., Batterham, R.L., Kozma, S.C., Thomas, G., Carling, D., Okkenhaug, K., Thornton, J.M., Partridge, L., Gems, D., Withers, D.J. (2009) *Science*, **326**, 140–144.
418. Howes, R.M. (2006) *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **1067**, 22–26.
419. Radisavljevic, Z.M., Gonzalez-Flecha, B. (2004) *J. Cell Biochem.*, **91**, 1293–1300.
420. Bae, G.U., Seo, D.W., Kwon, H.K., Lee, H.Y., Hong, S., Lee, Z.W., Ha, K.S., Lee, H.W., Han, J.W. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 32596–32602.
421. Lane, D.P., Lain, S. (2002) *Trends Mol. Med.*, **8**, S38–42.
422. Staples, O.D., Steele, R.J., Lain, S. (2008) *Surgeon*, **6**, 240–243.
423. Selivanova, G. (2001) *Curr. Opin. Investig. Drugs*, **2**, 1136–1141.
424. Dumont, P., Leu, J.I., Della Pietra, A.C., 3rd, George, D.L., Murphy, M. (2003) *Nat. Genet.*, **33**, 357–365.
425. Pietsch, E.C., Humbey, O., Murphy, M.E. (2006) *Oncogene*, **25**, 1602–1611.
426. Whibley, C., Pharoah, P.D., Holstein, M. (2009) *Nat. Rev. Cancer*, **9**, 95–107.
427. Jun, H.J., Park, S.H., Lee, W.K., Choi, J.E., Jang, J.S., Kim, E.J., Cha, S.I., Kim, D.S., Kam, S., Kim, C.H., Kang, Y.M., Jung, T.H., Park, J.Y. (2007) *Mol. Carcinog.*, **46**, 100–105.
428. Vassilev, L.T., Vu, B.T., Graves, B., Carvajal, D., Podlaski, F., Filipovic, Z., Kong, N., Kammlott, U., Lukacs, C., Klein, C., Fotouhi, N., Liu, E.A. (2004) *Science*, **303**, 844–848.
429. Feng, Z., Jin, S., Zupnick, A., Hoh, J., de Stanchina, E., Lowe, S., Prives, C., Levine, A.J. (2006) *Oncogene*, **25**, 1–7.
430. Bae, B.I., Xu, H., Igarashi, S., Fujimuro, M., Agrawal, N., Taya, Y., Hayward, S.D., Moran, T.H., Montell, C., Ross, C.A., Snyder, S.H., Sawa, A. (2005) *Neuron*, **47**, 29–41.
431. Gudkov, A.V., Komarova, E.A. (2005) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **331**, 726–736.
432. Komarov, P.G., Komarova, E.A., Kondratov, R.V., Christov-Tselkov, K., Coon, J.S., Chernov, M.V., Gudkov, A.V. (1999) *Science*, **285**, 1733–1737.
433. Strom, E., Sathe, S., Komarov, P.G., Chernova, O.B., Pavlovskaya, I., Shyshynova, I., Bosykh, D.A., Burdelya, L.G., Macklis, R.M., Skaliter, R., Komarova, E.A., Gudkov, A.V. (2006) *Nat. Chem. Biol.*, **2**, 474–479.