

А.М. КИРИЧЕНКО, О.Г. КОВАЛЕНКО

Інститут мікробіології і вірусології
ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ
E-mail: kirangel@ukr.net

ГЕНЕТИЧНО ПРОГРАМОВАНА СМЕРТЬ КЛІТИН: ОСНОВА ГОМЕОСТАЗУ ТА ФОРМА ФІТОІМУННОЇ ВІДПОВІДІ



Проаналізовано сучасні уявлення про програмовану смерть клітин, зокрема апоптозу у тварин і рослин. Подано порівняльну характеристику апоптозу у тваринній і рослинній клітинах з огляду на фізіологічні особливості клітини. Розглядається некроз як форма патологічної, генетично не запрограмованої загибелі клітин. Обговорюється значення (необхідність) апоптозу при формуванні надчутливої відповіді у рослин та роль запрограмованої смерті клітин при сумісних взаємовідносинах в системі патоген – хазяїн.

© А.М. КИРИЧЕНКО, О.Г. КОВАЛЕНКО, 2010

Вступ

Впродовж останнього десятиріччя у біології відбувається зміщення пріоритетів від вивчення генетичних основ життя до з'ясування механізмів реалізації генетичної інформації у багатоклітинному організмі. Серед іншого на першому плані стоять дослідження, метою яких є вивчення процесів транслокації сигналів між клітинами та усередині кожної з них. Одним із результатів передачі сигналів може бути розвиток генетично програмованої смерті клітин (СК).

Питання СК, зокрема апоптозу – одне з найбільш привабливих і актуальних у сучасній біології. Щорічно у двох присвячених цій темі журналах («Apoptosis: an international journal on programmed cell death» та «Cell death and differentiation») публікується понад 13 000 статей, які висвітлюють всі питання, що стосуються клітинної смерті [1]. Апоптоз як біологічне явище оволодів увагою дослідників в усьому світі не випадково. Адже апоптоз є життєво необхідним для всіх без винятку організмів – від прокариотів до багатоклітинних організмів. Учені поступово перейшли від описових робіт до більш детального висвітлення механізмів апоптозу, сигнальних шляхів, які інформують клітину про смерть, та механізмів передачі сигналів від рецепторів до функціональних генів. Позаяк відомості щодо механізму СК у рослин досить обмежені, метою нашої роботи було систематизувати у порівняльному аспекті існуючі літературні дані, що стосуються СК у тварин і рослин, детальніше зупинившись на можливому зв'язку апоптозу з надчутливою реакцією рослин.

Історія проблеми

Про існування фізіологічної смерті клітин було відомо з часу відкриття самої клітини. Ще в 1665 р. Роберт Гук [2] описав формування кори дуба із загиблих клітин. Однак довгий час це спостереження залишалось без уваги дослідників. Вперше гістологічні зміни, які відбуваються в клітині при її загибелі, описав та опублікував у 1842 р. К. Фогт [3]. У 1965 р., працюючи з комахами, Lockshin et al. [4] виявили скоординовану (одночасну) загибель цілого шару клітин. Це явище він назвав «запрограмованою смертю клітин» і показав, що процес СК енергозалежний та потребує транскрипції генів. Трохи пізніше Kerr et al. [5] спостерігали

подібні морфологічні зміни при загибелі тваринних клітин, але цього разу такі зміни відбувались у кожній клітині окремо. Для описання даного процесу вони використали термін «апоптоз».

Хоча вперше питання про існування, механізми і роль фізіологічної смерті клітин у тварин виникли в другій половині XIX ст., лише впродовж другої половини XX ст. було отримано ряд концептуальних та експериментальних даних, які свідчили про те, що всі клітини багатоклітинного організму можуть активувати програму самодеструкції, або СК, і що ця програма може регулюватись сигналами, що надходять з інших клітин. Тобто, клітини можуть жити так довго, як довго інші клітини будуть пригнічувати індукцію шляху, що веде до самознищення. Таким чином, позитивним явищем є те, що життя може відбуватись лише завдяки постійній репресії негативного явища — самознищення. Така залежність долі кожної клітини від взаємодії з іншими клітинами привела до виникнення концепції «соціального контролю» виживання та смерті клітини [6].

Програмована смерть клітин — це генетично регульований процес самознищення клітини, який є визначальним у розвитку, підтриманні гомеостазу та цілісності багатоклітинного організму. І навпаки, порушення регуляції механізмів, які контролюють самознищення клітини, відіграють важливу роль у патогенезі ряду захворювань. Спочатку термін СК використовували для того, щоб наголосити на морфологічних проявах загибелі клітини, в той час як термін апоптоз передбачав біохімічні зміни в клітині (апоптоз = каспази). На сьогодні це два самостійних терміни, які досить часто використовують як синоніми, протилежні до некрозу — пасивної, генетично незапрограмованої загибелі клітин. Термін СК став більш загальним поняттям, що включає в себе не лише апоптоз, а й інші типи клітинної загибелі — аутофагію, каспаза-незалежну смерть клітин, кератинізацію і каріорексиз. Всі ці процеси відбуваються із залученням біохімічних змін у клітині, і такий поділ є лише семантичним [1]. Щойно комітет, який займається номенклатурою понять клітинної загибелі (Nomenclature Committee on Cell Death, NCCD), запропонував єдині критерії для визначення клітинної

смерті та різних її проявів, а також означив деякі застереження щодо неправильного використання слів і понять, що уповільнює прогрес у галузі досліджень клітинної смерті [7]. В своїй роботі ми використовуємо обидва ці терміни — апоптоз та СК — поперемінно, беручи до уваги той факт, що апоптоз — це головний медіатор СК. І хоча Kerr et al. [5] вважали, що СК відбувається через апоптоз, на сьогоднішній день встановлено, що існує більше, ніж один шлях розвитку СК [8, 9].

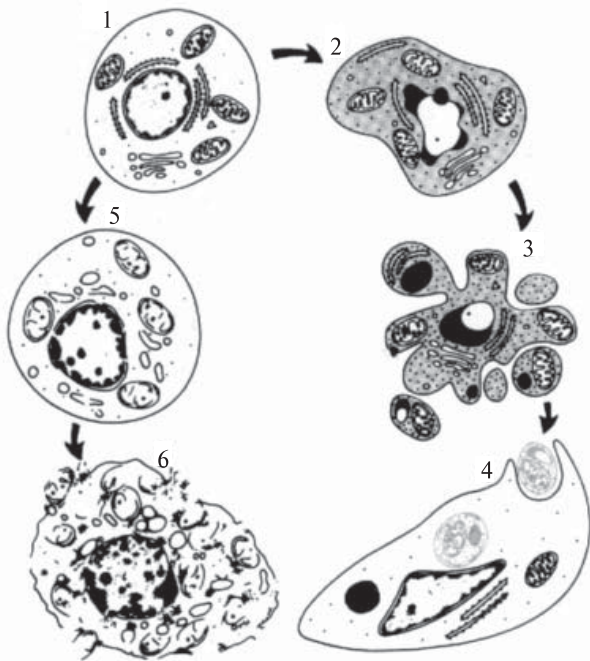
Той факт, що СК властива всім видам багатоклітинних організмів, які дивергували мільйони років тому назад, свідчить про те, що генетичні програми фізіологічної клітинної смерті відігравали древню і важливу роль у розвитку, функціонуванні та виживанні багатоклітинних організмів, зокрема тварин [6].

Апоптоз і некроз

У формуванні сучасних уявлень про СК важливе місце займає робота Kerr et al. [5] про існування двох різних видів клітинної загибелі у тварин — апоптозу і некрозу.

Апоптоз — це фізіологічний процес самознищення клітини. Цей процес відіграє істотну роль в реалізації програми індивідуального розвитку багатоклітинних організмів, імунних реакцій на вторгнення збудників, в підтриманні тканинного гомеостазу, реалізації відповіді на стресові ситуації. Відкриття апоптозу стало могутнім стимулом у розвитку клітинної біології та імунології.

За апоптозу у тварин відбувається перехід фосфатидилсерину із внутрішнього моношару цитоплазматичної мембрани в зовнішній, зменшення об'єму клітин, зморщування цитоплазматичної мембрани, конденсація ядра (каріорексиз і каріопікноз), розриви ниток ядерної ДНК та наступний розпад ядра, фрагментація клітини на мембранні везикули із внутрішньоклітинним вмістом (апоптозні тільця) [10, 11], які фагоцитуються макрофагами та сусідніми клітинами. За апоптозу зберігається цілісність мембран, органели мають вигляд морфологічно інтактних, а продукти розпаду клітини, апоптозні тільця (везикули) являють собою окремі фрагменти, оточені мембраною (рисунок). Морфологічні зміни в мітохондріях не спостерігаються, хоча їх функціонування істотно по-



Зміна ультраструктури тваринної клітини за апоптозу (2–4) та некрозу (5, 6) [14]: 1 – нормальна клітина; 2 – апоптичне зморщування клітини з утворенням пухирчастих виростів; 3 – фрагментація клітини з утворенням апоптичних везикул; 4 – фагоцитоз відмерлої клітини; 5 – набрякання клітини; 6 – некротична дезинтеграція клітини

рушується. Раніше вважали, що збільшення об'єму цих органел є більш характерним для некрозу [10], однак існують свідчення, що і за апоптозу відбувається суттєве набухання мітохондрій аж до розриву зовнішньої мітохондріальної мембрани [12, 13]. Важливою властивістю апоптозу є те, що це – активний процес, який у свою чергу регулює стан усього організму в цілому. В розвитку апоптичного процесу бере участь велика кількість сигнальних молекул, більшість із яких регулюють і інші важливі функції організму.

Існує інший, патологічний, неконтрольований варіант клітинної загибелі – некроз, за якого клітина, набухаючи, розривається, а її вміст надходить у міжклітинний простір і викликає порушення цілісності тканин. Деякі внутрішньоклітинні паразити, у тому числі найпростіші *Toxoplasma gondii* (збудник токсоплазмозу), здатні до пригнічення апоптозу [15, 16]. Нове покоління паразитів спрямову-

ється в сусідні клітини, наносячи все більшу і більшу шкоду організму в цілому. Починається запальний процес, результатом якого може бути як одужання, так і загибель організму.

Некротичну загибель можуть викликати також фізичні та хімічні uszkodження, наприклад, обмороження чи опік, органічні розчинники, гіпоксія, отруєння, гіпотонічний шок тощо. Запалення – найчастіше це катастрофа для навколишніх клітин в організмі тварини [17–19]. Наявність чи відсутність запалення у тварин використовується як ознака, що дозволяє відрізнити апоптоз від некрозу. Основні відмінні риси некрозу і апоптозу представлені в таблиці.

Молекулярні механізми апоптозу

Існують два основних шляхи розвитку апоптозу в клітині: мітохондріальний і шлях через активацію рецепторів апоптозу [20, 21]. Обидва вони призводять до активації каспаз і запускання каскаду реакцій, результатом яких є загибель клітини.

Активація рецепторів апоптозу. Апоптоз – це багатоетапний процес. На першому етапі клітина отримує сигнал, який поступає ззовні або виникає в надрах самої клітини та сповіщає її про загибель. Сигнал сприймається рецептором і піддається аналізу. Сигнальні і рецепторні молекули підходять одна до одної, як ключ до замка. Інформацією для збудження сигналу може слугувати і відсутність специфічної речовини в середовищі, що оточує клітину. Далі через рецептори отриманий сигнал послідовно передається молекулам-посередникам (месенджерам) різного рівня, які врешті-решт досягають ядра, де відбувається включення програми клітинного «самогубства» шляхом активації летальних та/або репресії антилетальних генів. Проте, існування СК в без'ядерних системах (цитопластах) свідчить, що наявність ядра не є обов'язковою умовою для реалізації процесу [15].

Рецептори апоптозу – це родина білків CD95 (Apo-1 або Fas) і TNF-R (фактор некрозу пухлин). Активація рецепторів апоптозу лігандами (наприклад, CD-95L й TNF-альфа) призводить до активації каспази-8, при цьому за-

Відмінні риси некрозу і апоптозу

| Ознака | Апоптоз | Некроз |
|-------------------------------|--|--|
| Індукція | Активується фізіологічними чи патологічними стимулами | Різна в залежності від пошкоджувального фактора |
| Розповсюдженість | Окрема клітина | Група клітин |
| Біохімічні зміни | Енергозалежна фрагментація ДНК ендогенними ендонуклеазами. Лізосоми інтактні | Порушення чи зупинка іонного обміну. Із лізосом вивільняються ферменти |
| Розщеплення ДНК | Внутрішньоядерна конденсація з розщепленням на фрагменти | Дифузна локалізація в некротизованій тканині |
| Цілісність клітинної мембрани | Збережена | Порушена |
| Морфологія клітин | Зморщування і фрагментація з формуванням апоптичних тілець, що мають ущільнений хроматин | Набухання і лізис клітин |
| Запалення | Відсутнє | Наявне |
| Видалення загиблих клітин | Поглинання (фагоцитоз) сусідніми клітинами | Поглинання (фагоцитоз) нейтрофілами і макрофагами |

пускається каскад реакцій, які ведуть до СК.

Було виявлено комплекс антиапоптичних білків, пов'язаних з рецепторами смерті. До складу цього комплексу входять глікоген – синтаза кіназа-3 (glycogen synthase kinase-3, GSK3) і клітинний інгібітор апоптозу білок-1 (cellular inhibitor of apoptosis protein-1, cIAP-1). GSK3 та cIAP-1 в клітинах пов'язані один з одним та з рецепторами смерті. Антиапоптичний комплекс блокує рецептори смерті і таким чином перешкоджає активації сигнальних шляхів, які ведуть до апоптозу [22].

Стосовно клітин тварин і людини апоптоз у більшості випадків пов'язаний з активацією каскаду каспаз – родини еволюційно консервативних протеолітичних ферментів, котрі специфічно розщеплюють білки по залишках аспарагінової кислоти [23, 24].

Мітохондріальний шлях. Мітохондрії виконують головну роль в апоптозі. При цьому спостерігається збільшення проникності мітохондріальної мембрани, зміна рівноваги між про- і антиапоптозними білками регулює вихід проапоптозних речовин з мітохондрій (apoptosis inducing factor – AIF), ендонуклеази G, цитохрому c тощо). Вивільнення цитохрому із мітохондрій спричиняє утворення в цитоплазмі апоптосом, яка активує каспазу-9 і запускає клітинну смерть [25].

В ряді випадків СК реалізується завдяки комбінованій дії двох механізмів, а саме за участю як рецепторів цитоплазматичної мембрани, так і мітохондріального цитохрому c. Так, ушкодження ДНК веде до накопичення в клітині білкового продукту гена p53, що може зупинити поділ клітин і/або індукувати апоптоз (див. огляди [26–28]). У понад 50 % вивчених видів пухлинних клітин ген p53 інактивованний [29], у них порушена p53-залежна регуляція клітинного гомеостазу. Білок p53 є фактором транскрипційної регуляції, який контролює активність ряду генів. Вважають, що відповідна реакція на утворення білка p53 залежить від ступеня ушкодження клітинного геному [28]. При незначному ушкодженні функції геному відбувається зупинка клітинного поділу, здійснюється репарація ДНК, і клітина продовжує своє існування. При надмірному порушенні геному, коли ДНК вже не піддається репарації, включаються рецепторний і цитохром c-залежний апоптозні каскади активації каспаз.

Різні шляхи апоптозу можуть переплітатись між собою. У деяких випадках залежний від рецепторів шлях веде до малоефективної активації прокаспаз-8. У цьому випадку підключається шлях реалізації апоптозу, залежний від мітохондрій [30, 31].

Апоптоз у рослин

Довгий час питанням про існування і роль СК у багатоклітинних рослин нехтували. Все ж СК існує і в рослин. Однак на відміну від тварин сигнальні шляхи та молекулярні механізми СК у рослин залишаються мало вивченими [32]. В той же час доведено, що шляхи, які ведуть до СК, у рослин мають багато спільного з апоптозом, аутофагією та некротичними формами загибелі у дріжджів та представників метазоа [33].

Клітинна смерть є важливою в розвитку рослин і бере участь в генерації судинної системи, ксилеми та флоєми, а також у старінні листків і квітів та утворенні кори [34–36]. СК у здорових рослинах підтримує гомеостаз, тому порушення СК – як гіпофункція, так і гіперфункція – веде до порушення гомеостазу.

Роботи останніх років свідчать, що патогенасоційована СК у рослин має багато спільних рис із регуляцією та механізмом апоптозу у тварин, однак деякі аспекти функціонування і механізму СК у них різні [37]. Апоптоз у рослин, як і у тварин, включає три фази: індукції, ефекторну та фазу деградації. Кінцевим результатом СК у тварин є ушкодження клітин з утворенням апоптозних везикул, які фагоцитуються макрофагами і клітинами-сусідами. Апоптоз у тварин призводить до зникнення клітини, у рослин – зовсім по-іншому. По-перше, жорстка клітинна стінка рослин перешкоджає фагоцитозу, тому у рослин відсутні спеціалізовані клітини, необхідні для даної функції. По-друге, загальна картина апоптозу значною мірою залежить від виду тканини. Замість самознищення на основі загиблих клітин часто створюються конструкції, життєво необхідні для рослини [38]. Подібно до тварин, в уражених клітинах рослин вивільняються 3'-кінці ДНК, активується Ca^{2+} -залежна ендонуклеаза, з'являються фрагменти ДНК розміром близько 50 тис. пар основ, а також олігонуклеосомні фрагменти. В модельних системах показано, що такі фрагменти утворюються лише при несумісних комбінаціях рослина–патоген. Крім того, виявлено залишкові апоптозні везикули, що мігрують до периферії рослинної клітини [39, 40].

Морфологічні зміни рослинних клітин при апоптозі також схожі на зміни у тварин: різко

зменшується розмір клітини, цитоплазматична мембрана стає складчастою, ядро конденсується й дробиться, мітохондрії набухають, протопласт відокремлюється від клітинної стінки й розпадається на окремі везикули, подібні до апоптозних тілець. Так, при інфікуванні *P. syringae* в клітинах спостерігаються апоптоз-подібні тільця. Bestwick et al. [41] виявили ранні зміни в морфології мітохондрій (набухання органел і порушення крист) в клітинах салату-латука, інфікованих *P. syringae*, подібні до змін у тваринних клітинах, що зазнають апоптозу [42]. На пізніх стадіях інфекції відбувались деструкція мембран і вакуолізація цитоплазми. Порушення мембран вважається визначальним при СК.

Відносно конденсації хроматину і порушень ядра в рослинних клітинах не повідомлялось.

За апоптозу в рослинних клітинах також відбувається пошкодження плазмодесм – мембранних каналів, які з'єднують протопласти сусідніх клітин, відтак інфекція не поширюється із інфікованих клітин в сусідні. Завдяки існуванню плазмодесм утворюється єдина внутрішньоклітинна система – симпласт. Клітинні стінки і міжклітинний матрикс утворюють єдину міжклітинну систему – апопласт. У тварин апоптозні везикули поглинаються сусідніми або спеціалізованими клітинами, у рослин же, як згадувалось вище, відсутні спеціалізовані клітини – фагоцити, і фагоцитозу перешкоджає клітинна стінка. Тому вміст протопласта руйнується за допомогою гідролітичних ферментів, а мономерні залишки зруйнованих клітин утилізуються сусідніми клітинами. Інший варіант заключного етапу клітинної загибелі у рослин полягає в тому, що при ураженні патогеном утворюється відторгувальна тканина, виникає перидерма, яка локалізує вогнище інфекції [38]. Доля ж клітинної стінки, атрибуту рослинної клітини, неоднозначна. Існують два можливих шляхи її перетворення, які диктуються прив'язкою до події й різняться між собою кінцевим результатом.

Клітинна стінка рослин може зміцнюватись завдяки зшиванню білків, утворенню целюлозних потовщень і лігніфікації клітинних стінок. Таке «зміцнення» клітинної стінки затруднює проникнення патогена в клітину або, навпаки, сприяє замуруванню мікроорганізму, що вже

потрапив усередину клітини. При формуванні твердих судин провідної системи (трахеїди ксилеми й ситовидні елементи флоєми) на стінках відповідних клітин утворюються потовщення, які потім зміцнюються відкладенням лігніну.

В іншому випадку, навпаки, може відбуватись руйнування клітинної стінки за участю активованих гідролітичних ферментів. Тотальне руйнування клітинних стінок відбувається при аеренхімогенезі [43].

У рослин, як і в тварин, поряд з апоптозом має місце некротизація рослинної тканини. За некрозу об'єм рослинної клітини значно збільшується, змінюється проникність цитоплазматичної і внутрішньоклітинної мембран, цитоплазма вакуолізується, пошкоджується тонопласт, органели набухають і руйнуються. В подальшому мембрани розриваються, відбувається дезинтеграція клітини, залишки органел лізуються. В результаті вміст клітини потрапляє в міжклітинний простір.

Регуляторних генів некрозу не описано, це й зрозуміло – адже загибель шляхом некрозу для рослини не детермінована генетично й не бажана для рослин.

Для некрозу й апоптозу існують спільні індуктори. Є фактори, які переключають апоптоз на некроз, наприклад, внутрішньоклітинна концентрація АТФ і NAD⁺. Деякі процеси апоптозу регулюються гормонами, зокрема стимулюються гібереловою і пригнічуються абсцизовою кислотами. Пероксид водню в малих концентраціях є індуктором апоптозу, а у високих – викликає швидку загибель клітин без будь-яких морфологічних змін, характерних для апоптозу [44]. На відміну від некрозу апоптоз пригнічується інгібіторами синтезу білка і є енергозалежним процесом – для нього є необхідним поповнення клітин АТФ. Тому у випадку виснаження клітин на АТФ, а також при надлишку активних форм кисню клітини стійких рослин, які в нормі йшли б по шляху апоптозу, гинуть від некрозу.

Таким чином, механізми загибелі клітин значною мірою схожі: і СК, і некроз є начебто різними екстремумами однієї і тієї ж неперервної кривої. В цьому відслідковується принцип біологічної економічності: для самодеструкції клітини пристосовані ті ж механізми,

за допомогою яких клітина гине від впливу патогена за некрозу.

Ймовірно, в апоптозі рослин беруть участь хлоропласти, подібно до мітохондрій у тварин. Lam et al. [45] припустили, що аналогічно до тварин в реалізації СК у рослин важлива роль належить мітохондріям. Про роль пластид може свідчити зміна кількості загиблих клітин під час перебігу інфекції, коли рівень протеаз із пластид FtsH зменшується чи зростає [46].

У рослин функціонує шлях СК, що реалізується за участі мітохондріального цитохрому *c*, коли активуються протеази, подібні до каспаз. Так, СК, як повідомлялось [47], пов'язана з вивільненням мітохондріями цитохрому *c* в цитозоль [48].

Таким чином, у рослин, як і в тварин, функціонує механізм апоптозу, залежний від мітохондріального цитохрому *c*.

Молекулярні механізми СК у рослин і тварин можуть бути різними. Так, апоптоз у рослин може реалізовуватись за участю вакуолярних гідролітичних ферментів. Відтак природа ефекторів, залучених до СК в рослинах, та їх можливі взаємозв'язки з ефекторами, що функціонують в метазоа, підлягають подальшому вивченню.

Області гомології між послідовностями регуляторних генів апоптозу у тварин і рослин унікальні. Це може свідчити про те, що або у рослин еволюціонували свої генетичні механізми регуляції СК, або дивергенція генів зайшла так далеко, що вони вже не ідентифікуються як гомологічні [49]. Можливо, апоптоз – це єдиний процес, який поєднує імунні системи рослин і тварин.

Надчутлива реакція і апоптоз

Рослини можуть розпізнавати патогени і активувати захисні реакції, в результаті чого ріст патогена в місці його проникнення обмежується. Одним із найбільш очевидних маркерів хворобостійкості рослин є надчутлива реакція (НЧР). Надчутлива реакція активується у відповідь на інфікування рослини патогенами (віруси, бактерії, гриби, нематоди) і характеризується швидкою загибеллю інфікованих клітин [50], причому загибель рослинних клітин обумовлена не прямою деструктивною дією патогена, а активацією ним генетичної

програми загибелі рослинної клітини. НЧР супроводжується рядом біохімічних, фізіологічних та молекулярних процесів, появою реактивного кисню (O_2 , H_2O_2 та OH^-), зростанням ліпоксигеназної активності, синтезом фітоалексинів, відкладанням лігніну та накопиченням патогенез-асоційованих білків [51]. Основними проявами НЧР при ураженні вірусами є локалізація вірусної інфекції у первинних ураженнях та зонах, що межують з ними, а також розвиток набутої стійкості до повторного вірусного ураження. За НЧР патогени потерпають від дефіциту поживних речовин, оскільки відмерла тканина швидко стає дегідратованою. Вважають, що у ході НЧР хлоропласти рослин можуть брати участь в безпосередньому регулюванні СК як джерело активних форм кисню (АФК) і виступати в ролі координаційного центру в процесі загибелі рослинних клітин [52]. АФК — це не лише утворені в результаті дихання токсичні продукти, рівень яких строго контролюється клітиною. Вони можуть функціонувати як сигнальні речовини, що регулюють багато біологічних процесів. За останні десять років АФК почали вивчати більш детально як важливі модулятори рослинної СК та чинники пероксидної сигнальної системи [53].

Індукції НЧР передують специфічне впізнання вірусу, яке у більшості випадків базується на взаємодії продуктів домінуючих генів резистентності (R) рослин і відповідних генів авірулентності (Avr) вірусів [54]. Структуру перших трьох R-білків (з томатів, арабідопсису й тютюну) встановили порівняно недавно — в 1993 р. Відтоді їх описано декілька десятків. До складу R-білків входять кілька структур, що забезпечують, з одного боку, взаємодію з лігандом (елісатором) і з молекулами-мішенями (зокрема, із ДНК), а з іншого боку — передачу сигналу на інші молекули (головним чином циклічні нуклеотиди, протеїнкінази тощо). Поліпептидні ланцюги R-білків утворюються з комбінацій різних білкових фрагментів, що й надає рослинам різних класів і порядків стійкості до вірусів, бактерій, грибів і навіть до нематод. Шляхом аналізу геномних сиквенсів за допомогою мікрочипів було ідентифіковано 247 генів, експресія яких змінювалась впродовж СК,

викликаної НЧР [52]. Рослини можуть розпізнавати патогени завдяки системі специфічної взаємодії, історично названої взаємодією «ген-на-ген» [55]. Було описано два випадки прямої взаємодії між генами стійкості та авірулентності [56, 57]. Окрім того, у взаємодії можуть брати участь, крім R- і Avr-білків, додаткові білки хазяїна [58]. R–Avr взаємодія може бути результатом ферментативної активності Avr-білків [59].

Нещодавно було встановлено, що структурний нуклеокапсидний білок N *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) може бути елісатором НЧР та індукувати СК у надчутливих до цього вірусу рослин [60]. Подібно до цього РНК-сполучні білки, кодовані UBA2 генами *Arabidopsis*, беруть участь в старінні рослин (при якому має місце СК) та активації захисних механізмів рослини [61].

У квасолі було описано ген NRP (N-rich protein), який специфічно індукується за перебігу СК і містить білковий домен, присутній у різних рослинних білках. Цей домен назвали dcd (development and cell death), оскільки його було виявлено у рослинних білках, які беруть участь в розвитку і загибелі клітин. Біологічні дослідження свідчать про роль цих білків у гормональній відповіді, ембріональному розвитку та СК. Можливо, dcd-домен бере участь у передачі сигналів в процесі розвитку рослини та СК [62]. Існування консервативних dcd-доменів, присутніх в усьому царстві рослин, хоча і різної архітектури, може свідчити про роль цих доменів у білок-білковій взаємодії. Гени, що кодують dcd-домени, надмірно експресуються впродовж розвитку рослини і СК.

Чи відбувається НЧР за апоптоз-подібним механізмом? Хоча хворобостійкість рослин часто асоційована з НЧР, у деяких випадках вона не супроводжується смертю клітин або гине лише їх невелика кількість [63]. Успішне впізнання патогена хазяїном призводить до запуску НЧР, яка по суті є формою СК в окремих рослинних клітинах. Хоча загибель клітин сама по собі вже припиняє ріст біотрофних патогенів, більш важливою є програма некротизації тканини, яка запускається ще невідомими сигналами сусідніх (навколишніх) клітин [64]. Solomon et al. [64] вважають, що у випад-

ках, коли СК супроводжується розвитком стійкості до патогена, НЧР, рослиною розпізнаються патоген-секретовані молекули, і виникає захисна відповідь. При цьому «імунна» система рослини активується локально в окремому шарі клітин, що оточують первинну інфекцію, щоб приготувати рослинні клітини для наступних атак патогенів. Часто ці сигнали із зони первинної інфекції поширюються по всій рослині, в результаті чого формується системна набута стійкість [62].

У сприйнятливих рослин ці молекули патогена виконують роль факторів вірулентності і діють за невідомими механізмами. Нещодавно було встановлено, що бактеріальні фітопатогени також синтезують антиапоптичні білки, очевидно, для того, щоб забезпечити їх вірулентність. Навпаки, ряд грибних патогенів секретують молекули, які сприяють СК і є основними факторами вірулентності [64].

НЧР, як повідомлялось [64], пов'язана з цистеїн-протеїназною активністю і може пригнічуватись ендogenousними інгібіторами цистеїн-протеїнази, такими як цистеїн. Незважаючи на те, що білки, здатні до інгібування активності тваринних каспаз, пригнічують також індукцію клітинної смерті за НЧР, однак жодного гомолога каспаз в рослинах не виявлено [65]. Між тим нещодавно в рослинах було ідентифіковано гени, що кодують подібні до каспаз білки — метакаспази, які відсутні у тварин і, очевидно, належать до спорідненої родини білків каспаза/паракаспаза/метакаспаза [66]. Цікаво, що рослинні метакаспази мають спільні домени з білками, які беруть участь у НЧР (Isd), але можлива роль метакаспаз в СК залишається не з'ясованою. AP-ATPase-подібні (apoptotic adenosine triphosphatase) білки із Toll-Іл-1 доменами беруть участь у НЧР, проте їх можлива роль в СК все ще незрозуміла [47].

Отже, СК має місце у багатьох, якщо не в усіх, взаємодіях між рослинами і патогенами. СК може бути пов'язана зі стійкістю чи сприйнятливістю в залежності від життєвого циклу патогена [67]. Очевидно, за НЧР, клітини, безпосередньо атаковані патогеном, гинуть завдяки апоптозу, але в свою чергу «запускають» загибель навколишніх клітин іншими шляхами. Форма відгуку клітини залежить від зовнішніх факторів та ресурсів самої клітини [49].

Чи важлива НЧР для стійкості? Для встановлення ролі клітинної смерті в стійкості рослин до патогенів було проведено відповідні дослідження. Однак з'ясування цього питання пов'язане з рядом труднощів, позаяк ряд генів і сигнальних молекул беруть участь не лише в клітинній смерті. Значення смерті клітини для розвитку хворобостійкості рослин залежить від типу взаємодії між хазяїном та патогеном. Це можна пояснити тим, що в різних хазяїв сила захисної відповіді залежить від сили сигналів та нисхідного захисту, котрий активується. Звичайно, в деяких випадках обмеження інфекції може відбуватись за відсутності клітинної смерті і, навпаки, клітинна смерть за відсутності інших захисних механізмів є недостатньою для того, щоб зупинити розповсюдження патогена. Так, загибель клітин тютюну (NN-генотипу), інфікованого вірусом тютюнової мозаїки (ВТМ), пригнічувалась низьким рівнем кисню в інфікованих тканинах, тоді як реплікація вірусу і активація захисних механізмів (за вмістом PR-білків) залишались незмінними. Однак СК, викликана ВТМ чи бактеріальною інфекцією, не пригнічувалась в трансгенних рослинах, які синтезували тваринний антиапоптичний білок Bcl-XL. Тобто, для ефективної індукції СК потрібна певна концентрація кисню, а активація захисної відповіді не залежить від процесів загибелі клітин [68].

Baulcombe et al. [63] вивчали стійкість рослин картоплі до X-вірусу картоплі, обумовлену доміантним геном стійкості Rx. Вони встановили, що стійкість до цього вірусу не супроводжується НЧР, незважаючи на те, що Rx-білки картоплі були схожі за фізичними характеристиками на інші R-білки, які, як відомо, запускали НЧР. Це дає підстави припустити, що у випадку певних взаємовідносин між хазяїном та патогеном захисний механізм, відомий під назвою «екстремальна стійкість», реалізується без загибелі клітин, позаяк при цьому було достатньо сигналів R-білків, які беруть участь в обмеженні патогена. Відтак Baulcombe et al. розглядають НЧР як механізм підсилення передньої лінії «екстремальної стійкості». Підґрунтям для такої точки зору є те, що перед загибеллю клітин деякі продукти захисних реакцій швидко і dokonано обмежу-

ють поширення патогенів. Щоб оцінити внесок НЧР в реалізацію захисних реакцій, необхідно знати компоненти, які беруть участь у здійсненні механізму клітинної смерті. Як згадувалось вище, в рослинах відбувається активація каспаза-подібних компонентів. Якщо ці компоненти специфічно залучені до СК, вони є ідеальними маркерами для того, щоб встановити значення НЧР для стійкості. Тому одне із головних завдань для дослідників полягало в тому, щоб встановити, чи можуть рослинні каспаза-подібні речовини бути залученими виключно до контролю за клітинною смертю.

Для в'яснення можливої участі рослинних каспаз у стійкості, Del Pozo et al. [69] перенесли ген білка р35, який інгібує активність каспаз, із бакуловірусів в тютюн NN-генотипу, надчутливий (стійкий) до ВТМ (з N-геном). Відтак трансгенні рослини інфікували ВТМ. В результаті автори виявили, що некрози мали той самий розмір і ту ж кількість, що і в інфікованих рослинах pp-генотипу, сприйнятливих до цього вірусу, але мали вигляд «менш дегідратованих». Це навело на думку, що процес СК був частково перерваним. Вражаючим було те, що в рослинах, які експресували р35, інфекція ВТМ не обмежувалась в локальних некрозах, як у вихідних рослинах N-генотипу, а поширювалась системно. Важливо, що каталітично неактивні форми р35 були неефективними при зміні типу взаємодії вірус-хазяїн. Ці результати свідчать про роль НЧР в обмеженні реплікації ВТМ.

СК за сумісної взаємодії (патоген – рослина-хазяїн). Зазвичай СК є явищем, характерним для сумісних взаємовідносин хазяїна і патогена, коли останній в тканині хазяїна може розмножуватись. У багатьох випадках різні види патогенів (гриби, віруси, бактерії) викликають СК апоптичного характеру [70]. Апоптоз-подібні реакції залежали від інфекційних агентів і відбувались у безпосередньо інфікованих або сусідніх клітинах. Подібність морфологічних змін у клітинах надчутливих і сприйнятливих рослин свідчать про подібність механізмів СК при різних типах взаємодії патогенів та їхніх хазяїв.

У сприйнятливих рослинах томатів, які продукували антикаспазний білок р35 бакуловірусів, клітини менше гинули під впливом мі-

котоксину. Симптоми, викликані рядом патогенів, також були слабкішими в трансгенних рослинах, що містили ген р35-білка. Зміни стійкості і сприйнятливості, викликані одними і тими ж антикаспазами, свідчать про те, що шляхи СК є загальними для чутливих і надчутливих рослин. На користь думки про апоптоз-подібність СК, викликані вірулентними патогенами, свідчить той факт, що ряд антиапоптичних тваринних білків, експресованих в рослинах, можуть захищати їх від розвитку симптомів, викликаних грибами [71].

* *
*

Регуляція процесу клітинної загибелі є однією із центральних проблем біології клітини і інтенсивно вивчається зараз в усьому світі. Вчені різних країн зацікавлені у більш детальному вивченні процесів, залучених до функціонування та регуляції СК, оскільки вирішення проблеми детермінованості строку життя клітини має пряме відношення до підтримки гомеостазу багатоклітинного організму, а отже, й до медико-біологічних проблем корекції цього процесу у випадку різних захворювань. Дослідження в області апоптозу відкривають нові перспективи в клітинній біології та імунології. З точки зору прикладних досліджень умовно можна виділити два напрямки у вивченні апоптозу. З одного боку, досліджуються існуючі сигнальні й рецепторні шляхи, що регулюють апоптоз в організмі. Ці дані можна використати для корекції апоптичних механізмів при різних патологіях, застосовуючи ендогенні медіатори процесу. З іншого боку, ведеться інтенсивний пошук штучних речовин, здатних цілеспрямовано впливати на перебіг апоптозу, пригнічуючи або активуючи його. Ці речовини можуть слугувати прототипами нових фармакологічних препаратів.

Що стосується СК у рослин, багато чого ще залишається не з'ясованим. Зокрема, невідомо, для яких явищ СК насправді є необхідною: для стійкості чи для сприйнятливості рослин до патогена? Можливо, в обох цих явищах задіяний механізм СК, позаяк, з одного боку, загибель клітин – це ознака (або маркер) стійкості при несумісних комбінаціях патоген-рослина, з іншого – в сприйнятливих

рослинах це прояв захворювання. Для з'ясування цих питань необхідно більш детально вивчати механізм СК в різних системах і за різних експериментальних умов. Щоб оцінити значення СК в інфекційному патогенезі рослин, необхідно мати речовини, які б вибірково пригнічували механізм СК. Це б дало змогу відслідковувати протилежні за кінцевим результатом події: захисні реакції та зміни, пов'язані з патогенезом. Необхідно встановити, чи може СК функціонувати окремо від інших імунних відповідей, і, якщо так, дослідити її внесок в стійкість чи сприйнятливність рослини до патогена.

Ще мало що відомо про сутність механізмів, які лежать в основі загибелі рослинних клітин за НЧР. Систему СК можна розглядати як суттєвий фактор «імунітету» рослин, оскільки загибель інфікованої клітини може перешкоджати поширенню інфекції. СК в здоровій рослині підтримує її гомеостаз. Однак залишається недостатньо вивченим вплив блокування СК на індукцію інших захисних механізмів, зокрема НЧР, та пов'язані з нею феномени. Дослідження в даній галузі є досить перспективними, оскільки знання механізмів апоптозу у рослин та його регуляції дозволить краще зрозуміти процеси перебігу інфекцій і створюють передумови до використання нових стратегій у створенні рослинних форм, стійких до різних патогенів.

A.M. Kyrychenko, O.G. Kovalenko

GENETICALLY PROGRAMMED CELL DEATH:
THE BASE OF HOMEOSTASIS AND FORM
OF PHYTOIMMUNITY RESPONSE

This paper gives a brief overview of the recent ideas about programmed cell death including apoptosis in animals and plants. Comparison of these processes in animal and plant cells in terms of physiological features has been presented. Necrosis as a form of pathological, not genetically programmed cell death has been characterized. Reflections about the meaning (the need) of apoptosis in the formation of hypersensitive response in plants and the role of programmed cell death in joint relations between pathogens and plants have been considered.

A.H. Kyrychenko, A.G. Kovalenko

ГЕНЕТИЧЕСКИ ПРОГРАММИРОВАННАЯ
СМЕРТЬ КЛЕТОК: ОСНОВА ГОМЕОСТАЗА
И ФОРМА ФИТОИМУННОГО ОТВЕТА

Проанализированы современные представления о программированной смерти клеток, в частности

апоптоз у животных и растений. Представлена сравнительная характеристика этих процессов в животной и растительной клетках с точки зрения физиологических особенностей клетки. Рассматривается некроз как форма патологической, генетически не запрограммированной гибели клеток. Представлены суждения о значении (необходимости) апоптоза при формировании сверхчувствительного ответа у растений и роли запрограммированной смерти клеток при совместимых взаимоотношениях патогенов и растений.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Melino G.* The meaning of death // *Cell Death Differ.* – 2002. – **9**, № 4. – P. 347–348.
2. *Hooke R.* *Micrographia.* – London. – Royal Soc. – 1665. – Facsimile.
3. *Vogt C.* *Untersuchungen uber die Entwicklungsgeschichte der Geburtshelerkroete. (Alytes obstetricians).* – Solothurn : Jent und Gassman, 1842. – 130 p.
4. *Lockshin R.A., Williams C.M.* Programmed cell death : cytology of degeneration in the intersegmental muscles of the silkworm // *J. Insect Physiol.* – 1965. – **11**. – P. 123–133.
5. *Kerr J.F.R., Wyllie A.H., Currie A.R.* Apoptosis : a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics // *Brit. J. Cancer.* – 1972. – **2**. – P. 239–257.
6. *Ameisen J.C.* On the origin, evolution, and nature of programmed cell death: a timeline of four billion years // *Cell Death Differ.* – 2002. – № 9. – P. 367–393.
7. *Kroemer G., Galluzzi L., Vandenabeele P., Abrams J., Alnemri E.S. et al.* Nomenclature Committee on Cell Death 2009 – Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009 // *Cell Death Differ.* – 2009. – **16**, № 1. – P. 3–11.
8. *Schwartz L.M., Smith S.W., Jones M.E., Osborne B.A.* Do all programmed cell death occur via apoptosis? // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1993. – **90**. – P. 980–984.
9. *Sperandio S., deBelle I., Bredesen D.* An alternative non apoptotic form of programmed cell death // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2000. – **97**. – P. 14376–14381.
10. *Kroemer G., Dallaporta B., Resche-Rigon M.* The mitochondrial death/life regulator in apoptosis and necrosis // *Annu. Rev. Physiol.* – 1998. – **60**. – P. 619–642.
11. *Новожилова А.П., Плужников Н.Н., Новиков В.С.* Программированная клеточная гибель / Под ред. В.С. Новикова. – СПб : Наука, 1996. – С. 9–29.
12. *Tsujimoto Y., Shimizu S.* Role of the mitochondrial membrane permeability transition in cell death // *Apoptosis.* – 2007. – **12**, № 5. – P. 835–840.
13. *Gottlieb R.A.* Programmed cell death // *Drug News Persp.* – 2000. – **13**, № 8. – P. 471–476.
14. *Antigen receptor molecules* // *Advanced immunology* /

- Eds D. Male, A. Cooke, M. Owen, J. Trowsdale, B. Champion. — London : Mosby, 1996. — P. 2.1–2.2.
15. Самуилов В.Д., Олескин А.В., Лагунова Е.М. Программируемая клеточная смерть // Биохимия. — 2000. — **65**, № 8. — С. 1029–1046.
 16. Nash P.B., Purner M.B., Leon R.P., Clarke P., Duke R.C., Curiel T.J. Toxoplasma gondii-infected cells are resistant to multiple inducers of apoptosis // J. Immunol. — 1998. — **160**. — P. 1824–1830.
 17. Cohen J.J. Apoptosis // Immunol. Today. — 1993. — **14**. — P. 126–130.
 18. Jacobson M.D., Weil M., Raff M.C. Programmed cell death in animal development // Cell. — 1997. — **88**. — P. 347–354.
 19. Thompson C.B. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease // Science. — 1995. — **267**. — P. 1456–1462.
 20. Ashkenazi A., Dixit V.M. Death receptors: signaling and modulation // Science. — 1998. — **281**. — P. 1305–1308.
 21. Hengartner M.O. The biochemistry of apoptosis // Nature. — 2000. — **407**. — P. 770–776.
 22. Sun M., Song L., Li Y., Zhou T., Jope R.S. Identification of an antiapoptotic protein complex at death receptor // Cell Death Differ. — 2008. — **15**, № 12. — P. 1887–1900.
 23. Haunstetter A., Izumo S. Apoptosis: basic mechanisms and implications for cardiovascular disease // Circ. Res. — 1998. — **82**. — P. 1111–1129.
 24. Kidd V.J. Proteolytic activities that mediate apoptosis // Annu. Rev. Physiol. — 1998. — **60**. — P. 533–573.
 25. Bröker L.E., Kruyt F.A.E., Giaccone G. Cell death independent of caspases // Clin. Cancer Res. — 2005. — **11**. — P. 3155–3162.
 26. Morgan S.E., Kastan M.B. Dissociation of radiation-induced phosphorylation of replication protein A from the S-phase checkpoint // Adv. Cancer Res. — 1997. — **71**. — P. 1–25.
 27. Agarwal M.L., Taylor W.R., Chernov M.V., Chernova O.B., Stark G.R. The p53 network // J. Biol. Chem. — 1998. — **1**, № 4. — P. 273–276.
 28. Bates S., Vousden K.H. Mechanisms of p53-mediated apoptosis // Cell. Mol. Life Sci. — 1999. — **55**. — P. 28–37.
 29. Raff M. Cell suicide for beginners // Nature. — 1998. — **396**. — P. 119–122.
 30. Green D.R., Reed J.C. Mitochondria and apoptosis // Science. — 1998. — **281**. — P. 1309–1312.
 31. Gross A., McDonnell J.M., Korsmeyer S.J. BCL-2 family members and the mitochondria in apoptosis // Genes and Dev. — 1999. — **13**. — P. 1899–1911.
 32. Kim M., Lee S., Park K., Jeong E.J., Ryu C.M., Choi D., Pai H.S. Comparative microarray analysis of programmed cell death induced by proteasome malfunction and hypersensitive response in plants // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2006. — **342**, № 2. — P. 514–521.
 33. Hofius D., Tsitsigiannis D.I., Jones J.D., Mundy J. Inducible cell death in plant immunity // Semin Cancer Biol. — 2007. — **17**, № 2. — P. 166–187.
 34. Greenberg J.T. Programmed cell death: a way of life for plants // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1996. — **93**. — P. 12094–12097.
 35. Beers E.P. Programmed cell death during plant growth and development // Cell Death Differ. — 1997 — **4**. — P. 649–661.
 36. Rubinstein B., Osborne B. Dying for a living : plants do it // Cell Death Differ. — 1997. — **4**. — P. 647–648.
 37. Liang H., Yao N., Song J.T., Luo S., Lu H., Greenberg J.T. Ceramides modulate programmed cell death in plants // Genes Dev. — 2003. — **17**. — P. 2636–2641.
 38. Самуилов В.Д. Программируемая клеточная смерть // Сорос. образоват. журн. — 2001. — **7**, № 10. — С. 12–17.
 39. Mittler R., Simon L., Lam E. Pathogen-induced programmed cell death in tobacco // J. Cell Sci. — 1997. — **110**. — P. 1333–1344.
 40. Дьяков Ю.Т., Багирова С.Ф. Что общего в иммунитете растений и животных? // Природа. — 2001. — № 11. — С. 52–58.
 41. Bestwick C.S., Bennet M.H., Mansfield J.W. Hrp mutant of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* induces alterations but not membrane damage leading to the hypersensitive reaction in lettuce // Plant Physiol. — 1995. — **108**. — P. 503–516.
 42. Wakabayashi Y., Karbowski M. Structural changes of mitochondria related to apoptosis // Biol. Signals Recept. — 2001. — **10**. — P. 26–56.
 43. He C.-J., Morgan P.W., Drew M.C. Transduction of an ethylene signal is required for cell death and lysis in the root cortex of maize during aerenchyma formation induced by hypoxia // Plant Physiol. — 1996. — **112**. — P. 463–472.
 44. Levine A., Pennell I., Alvarez M.E., Palmer R., Lamb C. Calcium-mediated apoptosis in a plant hypersensitive disease resistance response // Curr. Biol. — 1996. — **6**. — P. 427–437.
 45. Lam E., Kato N., Lawton M. Programmed cell death, mitochondria and the plant hypersensitive response // Nature. — 2001. — **411**. — P. 848–853.
 46. Seo S., Okamoto M., Iwai T., Iwano M., Fukui K., Isogai A. et al. Reduced levels of chloroplast FtsH protein in tobacco mosaic virus-infected tobacco leaves accelerate the hypersensitive reaction // Plant Cell. — 2000. — **12**. — P. 917–932.
 47. Aravind L., Dixit V.M., Koonin E.V. Apoptotic molecular machinery: vastly increased complexity in vertebrates revealed by genome comparisons // Science. — 2001 — **16**, № 291. — P. 1279–1284.
 48. Balk J., Leaver C.J., McCabe P.F. Translocation of cytochrome *c* from the mitochondria to the cytosol occurs during heat-induced programmed cell death in

- cucumber plants // FEBS Lett. — 1999. — **463**. — P. 151–154.
49. Дьяков Ю.Т., Озерецковская О.Л., Джавахия В.Г., Багирова С.Ф. Общая и молекулярная фитопатология. — М., 2001. — 302 с.
 50. Pennazio S. The hypersensitive reaction of higher plants to viruses: a molecular approach // New Microbiol. — 1995. — **18**, № 2. — P. 229–240.
 51. Mehdy M.C. Active oxygen species in plant defense against pathogens // Plant Physiol. — 1994. — **105**. — P. 467–472.
 52. Kim M., Lee S., Park K., Jeong E.J., Ryu C.M., Choi D., Pai H.S. Comparative microarray analysis of programmed cell death induced by proteasome malfunction and hypersensitive response in plants // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2006. — **7**, № 342. — P. 514–521.
 53. Gadjev I., Stone J.M., Gechev T.S. Programmed cell death in plants new insights into redox regulation and the role of hydrogen peroxide // Int. Rev. Cell Mol. Biol. — 2008. — **270**. — P. 87–144.
 54. Keen N.T. Gen-for-gene complementarity in plant-pathogen interactions // Annu. Rev. Genet. — 1990. — **24**. — P. 447–463.
 55. Flor H.H. Inheritance of reaction to rust in flax // J. Agr. Res. — 1947. — **74**. — P. 241–262.
 56. Tang X., Frederick R.D., Zhou J., Halterman D.A., Jia Y., Martin G.B. Initiation of plant disease resistance by physical interaction of AvrPto and Pto kinase // Science. — 1996. — **274**. — P. 2060–2063.
 57. Jia Y., McAdams S.A., Bryan G.T., Hershey H.P., Valen B. Direct interaction of resistance gene and avirulence gene products confers rice blast resistance // EMBO. — 2000. — **19**. — P. 4004–4014.
 58. Leister R.T., Katagiri F. A resistance gene product of the nucleotide binding site–leucine rich repeats class can form a complex with bacterial avirulence proteins in vivo // Plant. J. — 2000. — **22**. — P. 345–354.
 59. Shao F., Golstein C., Ade J., Stoutemyer M., Dixon J.E., Innes R.W. Cleavage of Arabidopsis PBS1 by a bacterial type III effector // Science. — 2003. — **301**. — P. 1230–1233.
 60. Lovato F.A., Inoue-Nagata A.K., Nagata T., de Avila A.C., Pereira L.A., Resende R.O. The N protein of Tomato spotted wilt virus (TSWV) is associated with the induction of programmed cell death (PCD) in Capsicum chinense plants, a hypersensitive host to TSWV infection // Virus Res. — 2008. — **137**, № 2. — P. 245–252.
 61. Kim C.Y., Bove J., Assmann S.M. Overexpression of wound-responsive RNA-binding proteins induces leaf senescence and hypersensitive-like cell death // New Phytol. — 2008. — **180**, № 1. — P. 57–70.
 62. Tenhaken R., Doerks T., Bork P. DCD — a novel plant specific domain in proteins involved in development and programmed cell death // BMC Bioinformatics. — 2005. — **6**. — P. 169–172.
 63. Bendahmane A., Kanyuka K., Baulcombe D.C. The Rx gene from potato controls separate virus resistance and cell death responses // Plant Cell. — 1999. — **11**. — P. 781–791.
 64. Solomon M., Belenghi B., Delledonne M., Menachem E., Levine A. The involvement of cysteine proteases and protease inhibitor genes in the regulation of programmed cell death in plants // Plant Cell. — 1999. — **11**. — P. 431–444.
 65. Del Pozo O., Lam E. Caspases and programmed cell death in hypersensitive response of plants to pathogen // Curr. Biol. — 1998. — **8**. — P. 1129–1132.
 66. Uren A., O'Rourke K., Aravind L., Pisabarro M., Seshagiri S., Koonin E., Dixit V. Identification of paracaspases and metacaspases: two ancient families caspase-like proteins, one of which plays a key role in MALT lymphoma // Mol. Cell. — 2000. — **6**. — P. 961–967.
 67. Grenberg J.T., Yao N. The role and regulation of programmed cell death in plant–pathogen interaction // Cell. Microbiol. — 2004. — **6**. — P. 201–212.
 68. Mittler R., Shulaev V., Seskar M., Lam E. Inhibition of programmed cell death in tobacco plants during a pathogen-induced hypersensitive response at low oxygen pressure // Plant Cell. — 1996. — **8**, № 11. — P. 1991–2001.
 69. Del Pozo O., Lam E. Expression of the baculovirus p35 protein in tobacco affects cell death progression and compromises N gene-mediated disease resistance response to tobacco mosaic virus // Mol. Plant–Microbe Interact. — 2003. — **16**. — P. 485–494.
 70. Yao N., Imai S., Tada Y., Nakayashiki H., Tosa Y., Park P. et al. Apoptotic cell death is a common response to pathogen attack in oats // Mol. Plant–Microbe Interact. — 2002. — **15**. — P. 1000–1007.
 71. Dickman M.B., Park Y.K., Oltersdorf T., Li W., Clemente T., French R. Abrogation of disease development in plants expressing animal antiapoptotic genes // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 2001. — **98**. — P. 6957–6962.