

РЕГУЛЯЦИЯ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ У НИЗШИХ ЭУКАРИОТ

© *И. В. Шемарова*

*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург;
электронный адрес: shem@iephb.ru*

В обзоре рассматриваются механизмы ядерной и митохондриальной регуляции продолжительности жизни низших эукариот и возможности ее увеличения. Основное внимание уделено анализу механизмов функционирования теломеразного комплекса, механизмов дифференцированной экспрессии генов-РПЖ, а также митохондриальных механизмов, регулируемых белками ретроградного сигнального пути.

Ключевые слова: одноклеточные эукариоты, продолжительность жизни, Sir2, клеточный стресс, АФК, старение, апоптоз.

Принятые сокращения: АФК — активные формы кислорода, мРНК — матричная РНК, мДНК — митохондриальная ДНК, ПМ — плазматическая мембрана, рДНК — рибосомная ДНК, РПЖ — регуляторы продолжительности жизни, РІЗК — фосфатидилинозитол-3-киназа, РІР₂ — фосфатидилинозитол-4,5-фосфат, РКА — протеинкиназа А, РКВ — протеинкиназа В, TER — теломеразная РНК, TERT — теломеразная обратная транскриптаза, Ψ_m — митохондриальный трансмембранный потенциал.

В регуляции продолжительности жизни низших эукариот принимают участие сигнальные белки, комплексы ядерных белков, взаимодействующих с экспрессируемыми генами, а также цитоплазматические белки, являющиеся мишенями действия продуктов индуцированных генов. Естественно, эта тема по существу необъятна, и в рамках настоящего обзора можно охватить только малую долю вопросов регуляции продолжительности жизни. В данном обзоре мы остановимся на рассмотрении ядерного звена регуляции продолжительности жизни микроорганизмов, сопряженного с функционированием теломер и теломеразного комплекса, с экспрессией генов-РПЖ, а также митохондриального звена, получившего название ретроградного сигнального пути.

Роль теломер и теломеразного комплекса в индукции клеточного старения

Очень важное место в индукции клеточного старения и соответственно сокращения продолжительности жизни играет молекулярный механизм, связанный с укорачиванием хромосом при участии теломераз. Этот механизм эволюционно консервативен и имеет место в клетках как высших, так и низших эукариот (Shore, 1998; Blackburn et al., 2006). Его открытие носило концептуальный характер и было связано с выявлением в соматических клетках ограниченной способности к пролиферации (Hauflick, Moorhead, 1961; Hauflick, 1965). Детерминированность процесса клеточного старения предполагает наличие молекулярного часового механизма, позволяющего клетке «отсчитывать» число пройденных удвоений. При этом ядерная ДНК является единственной макромолекулой,

обладающей достаточной стабильностью, чтобы служить базой такого механизма. Основой функционирования «молекулярных часов» могут быть изменения ДНК, сопряженные с процессом ее репликации, такие как метилирование ДНК либо потеря части ДНК в результате ее неполной репликации. В настоящее время роль «молекулярных часов» отводится теломерам — специализированным ДНК-белковым структурам. Вероятно, эти структуры стабилизируют концы хромосом, защищая ДНК от деградации и лигирования (Zakian, 1989; Counter et al., 1992; McEachern et al., 2000; Blackburn et al., 2006).

У позвоночных линейные хромосомы оканчиваются последовательностью TTAGGG, повторенной в теломерах сотни и тысячи раз (Blackburn, 1991). Анализ длины теломерных повторов выявил, что соматические клетки теряют от 50 до 200 нуклеотидов при каждом клеточном делении (Harley et al., 1990). Причиной этого явления служит неполная репликация концов хромосом из-за особенностей молекулярного механизма репликативного синтеза ДНК (Оловников, 1971; Watson, 1982). Отстающая цепь репликативной вилки в синтезе ДНК не может синтезироваться до 5'-конца в отсутствие рибопрайма, который в свою очередь не образуется непосредственно на концевом фрагменте. Потери концевой ДНК делают невозможной бесконечную пролиферацию.

В 90-е годы минувшего века была предложена гипотеза, согласно которой укорачивание хромосом до определенного размера индуцирует процессы клеточного старения, а длина теломер, по этим представлениям, может служить мерой пролиферативного потенциала клеток (Allsopp et al., 1992). В дальнейшем было предложено несколько гипотетических моделей, объясняющих, каким образом клетка «определяет» длину своих теломер и в со-

ответствующий момент запускает механизм блока пролиферации. Из них наибольшее распространение получили две модели. Согласно одной из них, общее количество повторов TTAGGG определяется учетом специфически связывающегося с ними белка (Kipling, Cooke, 1992). Согласно другой, по мере укорачивания теломер область гетерохроматина начинает включать в себя все больше субтеломерной ДНК, что приводит к инактивации локализованного в этой области гена-супрессора и запуску механизма клеточного старения (Wright, Shay, 1992).

Напомним, что механизм репликативного старения клеток, сопряженный с укорачиванием хромосом, функционально активен в соматических клетках Metazoa, обладающих ограниченным пролиферативным потенциалом, а также у одноклеточных организмов, находящихся в поздней стационарной фазе. Функционирование этого механизма объясняется отсутствием или низкой активностью теломеразы — фермента, достраивающего свободные 3'-концы хромосом короткими повторяющимися последовательностями (в случае позвоночных — TTAGGG; Greider, Blackburn, 1985). В противоположность соматическим клеткам и клеткам низших эукариот, приобретшим фенотип стареющих клеток, большинство иммортализованных клеток, обладающих способностью к бесконечной пролиферации, содержат активную теломеразу (Kim et al., 1994; Lee et al., 1998). Следует отметить, что длина теломер может поддерживаться и без помощи теломеразы — за счет альтернативных механизмов, широко распространенных в бласттрансформированных клетках (Henson et al., 2002). Так, например, в клетках примерно 15 % злокачественных опухолей теломеразной активности не обнаружено (Kim et al., 1994).

Теломераза представляет собой сложный рибонуклеопротеид, состоящий из белковой каталитической субъединицы (теломеразной обратной транскриптазы TERT) и теломеразной РНК (TER), небольшой определенной участок которой служит матрицей для синтеза теломерных повторов (Kelleher et al., 2002). По этой матрице и достраивается выступающий одноцепочечный 3'-конец теломеры. Репликацию комплементарной цепи катализируют, вероятно, ДНК-полимеразы polalpha и polbeta (Diede, Gottschling, 1999).

Поскольку теломераза содержит собственную РНК-матрицу, фермент может быть отнесен к обратным транскриптазам (Greider, Blackburn, 1989), из чего можно предположить, что ингибиторы обратных транскриптаз могут подавлять ее работу в клетке, вызывая процесс, похожий на старение клеток *in vitro*. Он включает в себя постепенное прекращение пролиферации и специфическое изменение морфологии клеток, характерное для фенотипа стареющих клеток. Такие изменения под действием ингибиторов обратных транскриптаз были отмечены в постмитотических клетках человека, у инфузорий и гемоспоридий (Strahl, Blackburn, 1996; Bottius et al., 1998). Эти данные могут свидетельствовать о наличии теломеразной системы регуляции продолжительности жизни не только в быстро делящихся клетках млекопитающих, но и в клетках низших эукариот.

К настоящему времени обнаружено несколько видов эукариотических микроорганизмов, обладающих активными теломеразами. К ним относятся инфузории *Oxytricha nova*, *Tetrahymena thermophila*, *Euplotes aediculatus*, гемоспоридии *Plasmodium falciparum* и дрожжи *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae* и *Schizosaccharomyces pombe* (Greider, Blackburn, 1985; Lundblad, Szostak,

1989; Singer, Gottschling, 1994; Collins, Greider, 1995; McEachern, Blackburn, 1995; Nakamura et al., 1997; Bottius et al., 1998; Hammond, Cech, 1998; Horvath et al., 1998). Механизм функционирования теломераз у микроорганизмов пока не объяснен. Для понимания его работы в клетке в настоящее время широко применяются методы структурного и функционального реконструирования теломераз, позволяющие изучать строение и взаимодействие компонентов теломеразного комплекса с ДНК-праймером *in vitro* (Щербакова и др., 2006). Однако свойства, обнаруживаемые теломеразой в реакции *in vitro*, не всегда однозначно соответствуют характеру ее активности в клетке. Так, например, дрожжевая теломераза удлиняет теломеры только в поздней S/G₂-фазе клеточного цикла (Marcand et al., 2000), хотя теломеразная фракция активна *in vitro* в экстракте из клеток на любой стадии клеточного цикла. В отличие от условий *in vitro* в клетке функционирование теломеразы на теломере регулируется компонентами теломерного хроматина и самого холюфермента. Возможно, отличается и сам характер теломеразной активности. Так, теломераза дрожжей за один клеточный цикл добавляет от нескольких до ста нуклеотидов, но только на ограниченное число теломер (Teixeira et al., 2004). В штамме дрожжей, содержащем две TLC1 РНК с разными матричными участками, на теломерах обнаруживают чередование нуклеотидных последовательностей этих участков (Prescott, Blackburn, 1997a). Вероятно, после присоединения каждой последовательности нуклеотидов, соответствующей матричному участку TER, с помощью дополнительных белковых факторов теломеразы отделяется от теломеры, а затем вновь связывается с ней для следующего удлинения праймера. Если исходить из данных о том, что теломераза дрожжей, как и теломераза человека, представляет собой димер (Prescott, Blackburn, 1997b; Beattie et al., 2001; Moriarty et al., 2002), то в этом случае не исключена возможность и процессивного удлинения праймеров ДНК (Щербакова и др., 2006).

В клетке теломеразный комплекс подвергается сложной регуляции, поэтому его состав непостоянен и может различаться на разных стадиях клеточного цикла. В частности, для функционирования дрожжевой теломеразы в клетке помимо TERT (белок Est2p у *S. cerevisiae*) и теломеразной РНК (TLC1 РНК) необходимы дополнительные белки (Est1p, Est3p, Cdc13 или Est4p) (Lendvay et al., 1996), часть из которых входит в состав холюфермента (Est1p и Est3p) (Hughes et al., 2000). Отмечено, что у *S. cerevisiae* фенотип стареющих клеток EST (ever shorter telomeres) наблюдается при нокауте генов *EST1-4* (Lendvay et al., 1996). Функции и степень взаимодействия вспомогательных белков между собой и с теломерной ДНК исследованы недостаточно. Для их изучения применяют методы направленного мутационного анализа. Использование таких методов позволило установить, что температурочувствительные мутации в N-концевом домене Est2p (TERT дрожжей) комплементируются усилением синтеза вспомогательных белков теломеразного комплекса. При этом белок Est3p специфически подавляет эффект температурочувствительных мутаций в домене N-CQ белка Est2p, что указывает на возможное взаимодействие вспомогательных белков Est1p и Est3p с N-концевым доменом Est2p (Friedman et al., 2003). Показано, что белок Est1p участвует в «посадке» теломеразы на ее субстрат — теломеру — и, возможно, в поздней S-фазе клеточного цикла переводит ее в активную форму (Taggart, Zakian, 2003). Est1p взаимодействует с белком Cdc13p (Est4p), связыва-

ющим одноцепочечный конец теломерной ДНК, обогащенный гуанинами. Сам белок Est1p тоже может связывать теломерный одноцепочечный конец ДНК (Taggart et al., 2002).

Предполагается, что у дрожжей вспомогательные белки, изменяя свойства корового фермента, обеспечивают удлинение теломерной ДНК и тем самым инициируют так называемый эффект оздоровления хромосом. Сходные черты белков-партнеров теломеразы отмечены и у инфузорий (Cristofari, Lingner, 2003). Интересно, что выделенная из экстракта *Tetrahymena* теломераза более процессивна, чем фермент, реконструированный *in vitro*. Вероятно, нативный фермент содержит дополнительные субъединицы, которых нет в реконструированном ферменте. Таким образом, как и предполагалось еще в ранних работах, свойства фермента могут зависеть от состава теломеразного комплекса (Petrov et al., 1998).

Сравнение теломеразных каталитических субъединиц у высших и низших организмов выявило высокую степень их структурного сходства. Такая гомология свидетельствует о том, что эти белки должны выполнять сходные функции, в том числе и взаимодействовать со вспомогательными белками. Следовательно, должны существовать ортологи белков Est1p и Est3p. И действительно, в клетках дрожжей *Schizosaccharomyces pombe* (Beernink et al., 2003), *Candida albicans* (Singh et al., 2002) и человека (Reichenbach et al., 2003) найдены функциональные аналоги Est1p.

Следует учесть, что, помимо вышеописанных вспомогательных белков, изменяющих свойства фермента путем ковалентного связывания с ним, в клетке функционируют транскрипционные регуляторы, воздействующие на «теломерный часовой механизм» опосредованно. К таким белкам, в частности, относятся гистоновые деацетилазы и ацетилаза Hat1 (Hat1p), которые путем посттрансляционной модификации гистонов обеспечивают репрессию теломерных участков ДНК или, другими словами, «теломерное молчание» (Kelly et al., 2000). Очевидно, что оно может быть нарушено ингибированием активности ацетилазы Hat1 и гистоновых деацетилаз (у дрожжей Rpd3 и Hda1; Rundlett et al., 1996).

И наконец, завершая раздел обзора, преимущественно посвященный «ферменту долголетия», следует сказать несколько слов о возможностях транскрипционной регуляции его активности. В клетках млекопитающих активность теломеразы контролируется онкобелком Мус, повышающим транскрипцию гена *TERT* (Wang et al., 1998; Cerni, 2000). Этот ген кодирует обратную транскриптазу — основную каталитическую субъединицу теломеразы, уровень экспрессии которой определяет активность фермента в нормальных клетках (Bodnar et al., 1998; Wang et al., 1998). Интересно, что ряд других клеточных и вирусных онкобелков (Ras, Mdm2, циклин D1, Cdc25A и E7 HPV) не активирует теломеразу (Wang et al., 1998), тогда как E6 HPV16 обладает таким свойством (Klingelutz et al., 1996), что проявляется в его способности повышать экспрессию *Мус* (Wang et al., 1998). У простейших и дрожжей пока не обнаружены механизмы влияния на активность теломеразного комплекса со стороны молекулярно-генетического аппарата клетки. Несмотря на отсутствие сведений по данному вопросу, очевидно, у одноклеточных эукариот, так же как и у *Metazoa*, регуляция активности теломеразного комплекса сопряжена с событиями клеточного цикла и функционированием белков, являющихся продуктами генов, контролирующих размножение клеток.

Справедливости ради следует отметить, что не у всех изученных видов протистов укорочение теломер приводит к сокращению репликативной жизни клеток. Так, оказалось, что у *Paramecium tetraurelia* укорочение теломерных ДНК в макронуклеусе не коррелирует с уменьшением пролиферативного потенциала клеток. Тем не менее продолжительность репликативной (клональной) жизни парамеций, как и большинства клеток других типов, носит ограниченный характер. Инфузории, если не подвергаются процессам автогамии или конъюгации, погибают после 200 делений материнской клетки (Gilley, Blackburn, 1994). Пока полностью не раскрыты молекулярные механизмы возрастных изменений в клетке, старение *P. tetraurelia* ассоциируется с нарушением стабильности генома, повреждением ДНК и драматическим уменьшением размера макронуклеуса (Gilley, Blackburn, 1994).

Однако в целом приведенные примеры функционирования теломерных ДНК и теломеразных комплексов у низших эукариот укладываются в представления ряда исследователей, рассматривающих механизм репликативного синтеза ДНК с неполной репликацией концов хромосом в качестве генетической основы для инициации естественного (программируемого) старения клеток (Оловников, 1971; Allsopp et al., 1992; Levy et al., 1992, и др.).

Экспрессия генов-регуляторов продолжительности жизни в онтогенезе

Детерминированность и однонаправленность процессов роста, развития, старения и, наконец, угасания жизни предполагают существование генетической программы развития, которая реализуется через экспрессию генов-РПЖ, а именно регуляторов клеточного цикла, дифференцировки, метаболизма и ответов на вне- и внутриклеточные стимулы. К таким генам прежде всего относятся гены, связанные с пролиферацией. Их индукция на протяжении жизни постепенно меняется. Показано, что в стареющих клетках снижается способность реагировать на митогенные стимулы, индуцируемые факторами роста и гормонами. Эти эффекты связаны не с уменьшением количества стимуляторов или рецепторов, активируемых митогенами, а с модификацией синтезируемых макромолекул и каталитических субъединиц рецепторных тирозинкиназ (Carlin et al., 1983; Chua et al., 1986). Более того, клетки, израсходовавшие пролиферативный потенциал, не способны синтезировать ДНК в ответ на стимуляцию сывороткой или факторами роста (Afshari et al., 1993).

При репликативном старении отсутствует экспрессия некоторых генов, обеспечивающих выход клеток из состояния покоя. В стареющих клетках подавлена экспрессия циклинов и Cdk (Afshari et al., 1993), инсулиноподобного фактора роста-1 (Ferber et al., 1993), а также некоторых других факторов. Тем не менее трудно предположить, что именно это является причиной блока пролиферации стареющих клеток, поскольку экспрессия циклинов и Cdk недостаточна для ее индукции (Afshari et al., 1993) и никакие экзогенные факторы, в том числе инсулиноподобный фактор роста-1, не могут вывести «старую» клетку из состояния неспособности к делению. Предполагается, что стабилизация клеток в состоянии пролиферативного покоя обусловлена ингибиторами пролиферации, однако их молекулярная природа пока не установлена (Епифанова и др., 1988).

Гены, влияющие на продолжительность жизни у дрожжей

Гены-ППЖ у <i>S. cerevisiae</i>	Аналоги генов-ППЖ у человека	Функции продуктов генов-ППЖ	Литературный источник
SIR2	<i>hSIRT1</i>	Увеличение ПЖ (+30 %); усиление метаболизма углерода; ускорение адаптивных реакций на изменение характера питания	Sinclair, Guarente, 1997; Van der Horst et al., 2004
<i>LAG1</i>	<i>LAG1Hs</i>	Увеличение ПЖ (+20 %)	D'mello et al., 1994
<i>SIP2</i>	—	Сокращение ПЖ (–20 %); замедление адаптивных реакций на изменение характера питания	Ashrafi et al., 2000
<i>SNF4</i>	<i>PRKAG2</i>	Увеличение ПЖ (+30%); активация ацетилирования гистонов; увеличение формирования внехромосомных кольцевых рДНК	Ashrafi et al., 2000; Arad et al., 2002; Lin et al., 2003
<i>RAS2</i>	<i>Ki-ras</i>	Увеличение ПЖ (+30 %); повышение устойчивости к стрессу	Sum et al., 1994; Vincent-Hubert, 2000
<i>SOD</i>	<i>CuZnSOD</i>	Увеличение ПЖ (+30 %); повышение устойчивости к окислительному стрессу	Bai et al., 1998; Fabrizio et al., 2004
<i>SCH9</i>	<i>SCH9</i>	Уменьшение ПЖ (–30 %); понижение устойчивости к окислительному стрессу и тепловому шоку	Longo, 2003; Dyczkowski, Vingron, 2005
<i>MRG19</i>	—	Уменьшение ПЖ (–50 %); понижение устойчивости к окислительному стрессу	Kharade et al., 2005
<i>RTG2, GCN5</i>	<i>PCAF, hGCN5</i>	Увеличение ПЖ; повышение стабильности генома; усиление метаболизма; повышение устойчивости к стрессу	Candau et al., 1996; Borghouts et al., 2004; Kim et al., 2004; Jazwinski, 2005
<i>RPD3, HDA1</i>	<i>RPD3L1</i>	Увеличение ПЖ; сплайсинг в гетерохроматиновых локусах	Furukawa et al., 1996; Kim et al., 1999
<i>PHB1, PHB2</i>	<i>PHBP1-5</i>	Увеличение ПЖ; формирование прогибитинного комплекса; участие в сигнальных процессах и транскрипционном контроле	Sato et al., 1999; Nijtmans et al., 2000; Piper et al., 2002; Artal-Sanz et al., 2003
<i>MSN2, MSN4</i>	—	Активация STRE-регулируемых генов, повышение устойчивости к стрессу	Schmitt, McEntee, 1996; Fabrizio et al., 2004
<i>Rim 15</i>	<i>hPASKIN</i>	Увеличение ПЖ; повышение устойчивости к окислительному стрессу	Hofer et al., 2001; Cameroni et al., 2004
<i>TOR2 (S. pombe)</i>	<i>RAPT1</i>	Сокращение ПЖ (–30 %); понижение устойчивости к стрессу; увеличение катаболизма углеводов	Chiu et al., 1994; Alvarez, Moreno, 2006; Powers et al., 2006

Альтернативным механизмом, направленным на поддержание клеток в состоянии пролиферативного покоя, является генетический механизм регуляции состояния хроматина с помощью белков Sir («silent information regulators»). Первоначально эти белки (Sir2—4) и кодирующие их гены были описаны у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (Ivy et al., 1986). Позднее у человека была обнаружена NAD-зависимая деацетилаза hSir2(SIRT1) со свойствами белка Sir2 дрожжей (Frye, 1999; Vaziri et al., 2001; Van der Horst et al., 2004). В настоящее время у млекопитающих, в том числе и у человека, насчитывают семь SIRT1—7 — гомологов белка Sir2 (Haigis, Guarente, 2006; см. таблицу).

В модельных экспериментах на *S. cerevisiae* установлена прямая корреляционная связь между активностью Sir2 и увеличением жизни. Показано, что при повышении активности этого фермента продолжительность жизни дрожжей увеличивается в среднем на 30 %. В основе влияния Sir2 на продолжительность жизни, как уже отмечалось выше, лежит его способность защищать хромосомы

от вырезания рДНК. Известно, что кольцевые рДНК, вырезанные из геномной ДНК, остаются в материнской клетке и реплицируются одновременно с ее хромосомой. После 15—20 делений их скапливается слишком много, в результате материнская клетка утрачивает способность поддерживать собственную репликацию и погибает (Sinclair, Guarente, 1997). Заставляя уязвимую область генома скручиваться плотнее, Sir2 защищает хромосомы от вырезания рДНК, в результате материнская клетка живет дольше.

Кроме того, ряд белков Sir и их аналогов из клеток Metazoa вовлечен в такие важные клеточные процессы, как апоптоз и метаболизм. Таким образом, роль генов семейства SIR как потенциальных генов долголетия распространяется и на клетки многоклеточных организмов. Правда, у высших эукариот механизм действия их продуктов на клетки гораздо сложнее (Nemoto, Finkel, 2004).

К потенциальным генам долголетия можно отнести и ген *LAG1* (longevity assurance gene-1) дрожжей *S. cerevisiae* (D'mello et al., 1994), гомологи которого обнаружены

у нематоды *Caenorhabditis elegans* и человека (Jiang et al., 1998). Этот ген более активен в молодых клетках, чем в старых. Дополнительная индукция активности *LAG1* в постаревших клетках после того, как его нормальная экспрессия уже закончена, продлевает жизнь этих клеток примерно на треть. Следует отметить, что старые дрожжевые клетки с такой дополнительной активностью этого гена не становятся бессмертными (в отличие от раковых клеток в многоклеточных организмах), а просто дольше функционируют как молодые. Установлено, что белок *lag1p* (продукт гена *LAG1*) локализуется в эндоплазматическом ретикулуме, где участвует в транспорте гликозил(фосфатидил)-закоривающих белков к аппарату Гольджи. Эта функция сопряжена с вовлечением *lag1p* в синтез церамида и соответственно в керамидзависимый путь, включенный в систему регуляции роста, пролиферации, апоптоза и устойчивости к стрессу (Jazwinski, Conzelmann, 2002).

Другим важным геном, контролирующим продолжительность репликативной жизни как дрожжевых клеток, так и клеток млекопитающих, является ген *RAS2* (у млекопитающих в эту регуляцию включены и другие классы онкогенов *RAS*). В сравниваемых типах клеток продукты этого гена связаны с процессами пролиферативного роста, однако результаты индукции *RAS2* могут быть совершенно противоположными (Sun et al., 1994; Shama et al., 1998a, 1998b; Jazwinski, 1999; Fabrizio et al., 2004). Так, экспрессия *RAS* в бласттрансформированных клетках млекопитающих стимулирует продолжительность их жизни и является своего рода фактором клеточного бессмертия, в то время как в нормальных клетках этот белок, напротив, необратимо блокирует клеточное деление (Sergano et al., 1997). Интересно, что и в дрожжевых клетках, и в клетках млекопитающих индукция генов *RAS* приводит к продукции большого количества оксидантов, которые являются активаторами митохондриальных сигнальных путей, также ответственных за изменение репликативной продолжительности жизни клеток.

С помощью мутационно-генетических исследований, проведенных на почвенной нематоды *Caenorhabditis elegans*, были получены первые доказательства участия генетических факторов в регуляции продолжительности хронологической жизни многоклеточных организмов (Friedman, Johnson, 1988). Авторам исследований удалось показать, что мутация гена *age-1* увеличивает продолжительность жизни *C. elegans* на 65%. При сравнительном анализе биохимических изменений у мутантных животных и животных дикого типа выяснилось, что у мутантов повышен уровень антиоксидантов (как цитоплазматической супероксиддисмутазы, так и каталазы) и они более устойчивы к токсическому действию гербицида, известного под названием «паракат», который вызывает образование супероксидных радикалов. К настоящему времени установлено, что продукт гена *age-1* нематод является гомологом белка *p110* — каталитической субъединицы фосфатидилинозитол-3-киназы млекопитающих, ключевого фермента сигнального пути АКТ/ПКВ, берущего начало от инсулиновых и(или) инсулиноподобных рецепторов (инсулин/IGF-1-R) (Morris et al., 1996; Gami et al., 2006). У нематод стимуляция рецепторов *DAF-2*, являющихся гомологами рецептора *IGF-1*, приводит к активации АКТ1/2-киназ, которые фосфорилируют фактор транскрипции *DAF-16* и тем самым вызывают его ядерную транслокацию. Следствием перемещения *DAF-16* в ядро являются задержка морфогенеза и уменьшение продол-

жительности жизни *C. elegans* (Lin et al., 1997). Однако имеются данные и о вовлечении *PI3K* в процессы, направленные на увеличение продолжительности жизни.

Убедительные доказательства участия *PI3K* в регуляции скорости старения клеток млекопитающих получены в экспериментах на диплоидных фибробластах человека *in vitro*. Сравнительный анализ действия на фибробласты ингибитора *PI3K* (соединения *LY2940002*) и ингибитора *MEK-1* (соединения *PD58029*) показал, что оба химических агента вызывают торможение пролиферации клеток. При этом только в первом случае (при действии ингибитора *PI3K*) задержка клеточного роста сопровождается появлением комплекса специфических фенотипических изменений, характерного для стареющих фибробластов, а именно активации галактозидазы, повышения экспрессии гена коллагеназы и подавления экспрессии специфического маркера пролиферирующих фибробластов гена *EPC-1* (early population doubling level cDNA-1; Tresini et al., 1998).

Складывается впечатление, что при *PI3K*-зависимой регуляции клеточного старения наибольшее функциональное значение имеют компоненты антиапоптотического сигнального пути (Brunet et al., 1999), контролируемого *PI3K*, но не зависящего от *MAP*-киназ. Видимо, именно активация антиапоптотического пути (и в первую очередь протеинкиназы *B*) во многом определяет участие *PI3K* в регуляции процессов развития и старения у *Metazoa*. Не исключено, что и у низших эукариот *PI3K* может влиять на скорость развития и изменение продолжительности жизни клеток. На это может указывать активное участие *PI3K* в процессах развития и клеточной дифференцировки у миксомицетов *Dictyostelium discoideum* (Шемарова, 2004).

Экспрессия генов-РПЖ в условиях стресса

Для изучения механизмов регуляции продолжительности жизни используется широкий набор методов. Одним из самых интересных приемов физиологического влияния на продолжительность хронологической жизни эукариот является так называемый метод пищевого ограничения, или дефицита калорий. В основу этого метода было положено наблюдение, показывающее, что ограничение калорийности питания приводит к удлинению срока жизни теплокровных животных (McCay et al., 1935). Этот метод нашел широкое применение в геронтологических исследованиях на молекулярном уровне при использовании различных модельных многоклеточных и одноклеточных организмов (Lee et al., 1999, 2004; Weindruch et al., 2002; Koubova, Guarente, 2003; Masoro, 2003; Haigis, Guarente, 2006; Chen, Guarente, 2007; Tatar, 2007).

Долгое время молекулярные механизмы клеточного долголетия, инициируемые дефицитом потребляемых организмом калорий, оставались совершенно непонятными. На протяжении многих лет существовало мнение о том, что при использовании низкокалорийной пищи метаболизм замедляется, а следовательно, уменьшается синтез веществ, которые негативно влияют на жизнеспособность клеточных систем. Сегодня такие представления признаны ошибочными. Низкокалорийная диета вовсе не замедляет метаболизм ни у млекопитающих, ни у одноклеточных организмов, напротив, происходит усиление обмена веществ. В настоящее время наиболее распространенной считается точка зрения, согласно которой дефицит кало-

рий, так же как и недостаток пищи, служит для организма мощным фактором стресса, который включает защитные системы организма, мобилизуя их на борьбу за выживание. У млекопитающих при этом меняется эффективность работы клеточных систем репарации и производства энергии, отсрочиваются клеточное старение и апоптоз (Koubova, Guarente, 2003; Sinclair, 2005).

У дрожжей *S. cerevisiae* клеточный стресс, вызванный ограничением поступления в клетку питательных веществ, инициирует по крайней мере два важных ядерных события. Во-первых, экспрессируется ген *PNC1*, который кодирует фермент, расщепляющий никотинамид, в норме подавляющий активность Sir2 (Anderson et al., 2003; Kaerberlein et al., 2005). Во-вторых, активируется механизм получения энергии, при котором в качестве побочного продукта образуется NAD и одновременно уменьшается уровень его антагониста NADH. Следовательно, при изменении соотношения NAD/NADH в клетке существенно трансформируется и активность Sir2. С учетом всего, что известно о связи между действием стресс-факторов на организм и активностью Sir2, правомочно предположить, что наличие данного белка является необходимым условием увеличения продолжительности жизни. К настоящему времени на мушках *Drosophila melanogaster* и дрожжах получены первые экспериментальные данные, согласующиеся с этой гипотезой (Anderson et al., 2003; Tatar, 2007). Так, например, показано, что умеренный стресс, повышая активность этого фермента, увеличивает продолжительность жизни дрожжей в среднем на 30 % (см. выше).

Клеточные ответы на стресс всегда сопряжены с возрастанием энергетического обмена. Но всегда ли эти перемены сопутствуют увеличению длительности жизни? Приведенные выше примеры, казалось бы, однозначно указывают на такую возможность. Но в действительности в клетках существует множество препятствий на пути к увеличению продолжительности жизни. У дрожжей *S. cerevisiae* одним из таких барьеров является ферментный комплекс Snf1, который активируется в условиях углеводного голодания. Snf1 представляет собой гетеротримерный белок, состоящий из каталитической α -субъединицы (киназы Snf1p), фосфорилирующей белки-мишени по остаткам серина и треонина, одной из трех β -субъединиц (белков Sip1p, Sip2p и Gal83), связывающихся с Snf1p, и активирующей γ -субъединицы (белка Snf4p). Ранее было установлено, что усиление экспрессии *Snf1* или понижение уровня Sip2p приводит к преждевременному старению, а удаление ядерного белка Snf4p способствует увеличению продолжительности жизни микроорганизмов (см. таблицу) (Ashrafi et al., 2000). Как показали дальнейшие исследования, в основе влияния Snf1 на сокращение продолжительности жизни дрожжей лежит способность ферментного комплекса влиять на структуру хроматина в специфических геномных локусах через фосфорилирование гистоновой киназы H3. Индуцируется этот процесс перемещением Sip2p от клеточной мембраны в цитоплазму, что ускоряет транспорт активирующей Snf4p и каталитической Snf1p субъединиц в ядро и запуск ядерных событий, сопряженных с процессами ацетилирования гистонов, активации генов и с увеличением формирования внехромосомных кольцевых рДНК (Lin et al., 2003). В молодых клетках и в клетках, растущих в обогащенной глюкозой среде, этот механизм не активируется, так как регуляторная субъединица Sip2p ковалентно связана с ПМ клетки (Lin et al., 2003). Какие факторы участвуют в высвобождении Sip2p из мембраны, пока неизвестно.

По-видимому, для того чтобы возможности, заложенные в механизме положительного влияния стрессовых факторов на продолжительность жизни реализовывались, необходимо сопряжение сигнальных систем, активируемых стрессом, с внутриклеточными системами противострессовой защиты. Так, например, с помощью мутантов *S. cerevisiae*, отличающихся пониженной активностью аденилатциклазы Cyt1 и серин(треонин)киназы Sch9 (гомолога Akt/PKB млекопитающих), было установлено, что увеличение хронологической жизни клеток связано с активацией устойчивых к стрессу транскрипционных факторов Msn2 и Msn4 (Smith et al., 1998; Fabrizio et al., 2001). Сигнальные белки Cyt1 и Sch9 функционируют в пути, который опосредует передачу сигналов, идущих от сенсоров глюкозы, и одновременно понижают устойчивость клеток к стрессу (Toda et al., 1988; Morano, Thiele, 1999; Thevelein, de Winde, 1999). Оказалось, что важное место во взаимодействии этих клеточных процессов у дрожжей играют белки Ras1 и Ras2, которые являются пусковыми элементами гликолитического пути, опосредуемого PKA, перекрещивающегося с путями, ответственными за рост, клеточную дифференцировку (псевдогифальное развитие) и устойчивость к стрессу (Toda et al., 1985; Roberts et al., 1997; Gasch, Werner-Washburne, 2002).

При исследовании роли Ras-белков в сигнальной передаче стрессовых сигналов у дрожжей было обнаружено, что именно они, являясь положительными регуляторами PKA, подавляют активность устойчивых к стрессу транскрипционных факторов Msn2 и Msn4 (Smith et al., 1998). Эти факторы регулируют многочисленные гены, которые содержат в своих промоторах активируемые стрессом элементы STRE (Martinez-Pastor et al., 1996). Среди генов, регулируемых Msn2 и Msh4, находятся и гены, ответственные за кодирование белков теплового шока, каталазы (*CTT1*), ген *DDR2*, экспрессирующийся при повреждении ДНК (Martinez-Pastor et al., 1996), ген супероксиддисмутазы (*SOD2*), а также гены, включенные в регуляцию депонирования запасных веществ (Ruis, Schuller, 1995). На участие Msn2 и Msn4 в регуляции продолжительности жизни могут указывать и косвенные данные, полученные при сравнении хронологического возраста клеток *S. cerevisiae* дикого типа и мутантов, негативных по белкам, кодируемым STRE-содержащими генами. В одном из таких исследований было установлено, что мутанты, негативные по *SOD2*, живут значительно меньше, чем клетки дикого типа (Fabrizio et al., 2001, 2004).

Сходный результат был получен и в отношении клеток, негативных по *SOD1* — гену, который в отличие от *SOD2* кодирует не митохондриальную, а цитозольную форму супероксиддисмутазы (Harris et al., 2005). В то же время хронологическая продолжительность жизни у двойных мутантов *SOD1/SOD2* с повышенной экспрессией обоих генов увеличена примерно на 30 % по сравнению с клетками дикого типа (Fabrizio et al., 2001). Авторы этого исследования полагают, что увеличение хронологической жизни дрожжей (в G_0 -фазе) связано с понижением продукции супероксида и инактивацией аконидазы, что в свою очередь требует высокой активности Sod. Примечательно, что сходный механизм регуляции продолжительности жизни имеет место и у многоклеточных беспозвоночных — червей и насекомых (Johnson, 1990; Kenyon et al., 1993; Lin et al., 1997; Honda, Honda, 1999). Отдельные элементы этого пути обнаруживаются и у теплокровных животных (Nemoto, Finkel, 2002).

Важно отметить, что понижение активности ряда других транскрипционных факторов, в частности Yap1 и Skn7, индуцируемых в условиях окислительного стресса, заметным образом не влияет на продолжительность жизни *S. cerevisiae* (Piper et al., 2006). Это означает следующее. Во-первых, увеличение продолжительности жизни дрожжей не является прямым следствием экспрессии генов, регулируемых данными белками. Во-вторых, служит косвенным доказательством существования специализированного кислородзависимого сигнального пути, ответственного за регуляцию продолжительности хронологической жизни *S. cerevisiae*. Помимо уже названных транскрипционных факторов Msn2 и Msn4 и их мишеней в структуру этого пути могут входить белки, понижение активности которых в условиях стресса драматическим образом отражается на дальнейшей судьбе дрожжевых клеток. К таким белкам могут относиться транскрипционные факторы Nap 4 и Mrg19, которые экспрессируются в *S. cerevisiae* при переходе дрожжей из фазы ферментации к дыханию (Lin et al., 2002; Kharade et al., 2005).

Недавно было обнаружено, что увеличение продолжительности хронологической жизни *S. cerevisiae* может инициироваться супрессией гена *MRG19* (Kharade et al., 2005). Авторы показали, что делеция *MRG19* вызывает у дрожжей изменение метаболизма углерода и азота, приводящее к повышению продукции АФК, усилению антиоксидантной защиты, повышению жизнеспособности и вследствие этого — к увеличению продолжительности жизни.

У *S. cerevisiae* был обнаружен еще один посттрансляционный механизм регуляции продолжительности жизни, сходный с таковым в клетках Metazoa. В данном случае он связан с функционированием высококонсервативного TOR-сигнального пути, берущего начало от пищевых сенсоров (Powers et al., 2006). Этот путь распространен в клетках эукариот разного уровня эволюционного развития и помимо продолжительности жизни регулирует множество клеточных процессов, в том числе метаболизм углеводов, реакции на стрессовое воздействие, биогенез рибосом и, что особенно важно в данном контексте, метаболическое репрограммирование в ответ на пищевой стресс (Martin, Hall, 2005; Powers et al., 2006).

Структурная организация TOR-пути у *S. cerevisiae* пока мало изучена. Известно, что у дрожжей имеются два близкородственных белка TOR (target of rapamycin) — Tor1 и Tor2, из которых в регуляции роста, устойчивости к тепловому и окислительному стрессам, а также продолжительности жизни участвует белок Tor1 (из семейства TOR-киназ), в то время как Tor2 преимущественно контролирует процессы клеточного ремоделирования (Martin, Hall, 2005). Отмечено, что увеличение хронологической жизни *S. cerevisiae*, наблюдаемое при понижении активности TOR-киназы, коррелирует с ядерной релокализацией фактора транскрипции Msn2.

Интересные данные получены при исследовании роли TOR-пути в опосредовании ответов на стресс, индуцированный азотным голоданием (Santhanam et al., 2004). Авторами цитируемой работы было установлено, что накоплению Msn2 в ядре способствует не только ингибирование TOR-киназы, но и инактивация белка Tap42p, являющегося регулятором Tor1. Этот эффект может быть супрессирован делецией гена *TIP41*, который кодирует одноименный белок, взаимодействующий с Tap42p. Оказалось, что Tap42p оказывает свое действие на TOR-киназу опосредованно путем взаимодействия с каталитиче-

ской и регуляторной субъединицами фосфатазы PP2A, т. е. через механизм инактивации киназы путем ее дефосфорилирования. На это указывает отсутствие ядерного накопления Msn2 в *tap42(-)*-мутантах *S. cerevisiae* или в клетках дикого типа, обработанных рапамицином, негативных по каталитической или регуляторной субъединице PP2A-фосфатазного комплекса (Santhanam et al., 2004). Полученные данные говорят о том, что Tap42p является ингибитором фосфатазы PP2A, которая в свою очередь ингибирует ядерный экспорт Msn2. Примечательно, что участие фосфатазы PP2A в аккумуляции Msn2 в ядре наблюдалось в ответ на многие факторы стресса, включая тепловой и осмотический шок (Santhanam et al., 2004).

Дрожжи другого вида — *Schizosaccharomyces pombe* — представляют собой удобную модельную систему, с помощью которой можно изучать координацию клеточного роста и дифференцировки (Alvarez, Moreno, 2006). Показано, что при наличии питательных веществ в среде эти микроорганизмы растут и делятся, а при их отсутствии, при пищевом голодании подвергаются дифференцировке. Сходным образом осуществляется физиологический контроль над этими программируемыми клеточными процессами и у миксомицетов *Dictyostelium discoideum* (Williams, 2006). Молекулярные механизмы, которые лежат в основе такой регуляции, изучены недостаточно. Недавно появились первые доказательства участия белка Tor2 в контроле за процессами перехода клеток из одного функционального состояния в другое, сопровождающимися изменением их возрастного статуса (см. таблицу) (Alvarez, Moreno, 2006). Авторами цитируемой работы показано, что Tor2 контролирует клеточный рост и биогенез рибосом путем регуляции генной экспрессии рибосомных белков. Обнаружено, что Tor2 участвует в ингибировании половой дифференцировки *S. pombe*. При повышенной экспрессии этого белка не происходит спаривания, возникают нарушения в протекании мейоза и споруляции. Инактивация Tor2, напротив, приводит к клеточной дифференцировке, невзирая на присутствие в среде высококалорийных веществ. Авторы полагают, что у *S. pombe* функция Tor2 обусловлена его взаимодействием с фактором транскрипции Ste11 и РНК-связывающим белком Mei2, участвующим в регуляции мейоза. В целом полученные данные говорят об уникальной функции TOR-пути у одноклеточных микроорганизмов, а именно о возможности регуляции программируемых клеточных процессов путем изменения условий внешней среды.

До сих пор мы преимущественно говорили о положительной роли умеренного стресса в регуляции роста, развития и продолжительности жизни организмов. Однако в условиях пониженной устойчивости организмов к стрессу или под действием длительного и(или) более интенсивного стресса усиливаются дегенеративные клеточные процессы, приводящие к преждевременному клеточному старению или апоптозу. Важную роль в развитии этих процессов играют реактивные формы кислорода, являющиеся основными индукторами клеточного стресса у организмов разного уровня эволюционного развития (Ameisen, 2002; Demple, 2004; Calabrese et al., 2006; Chakravarti, Chakravarti, 2006; Chandel, Budinger, 2007). Ниже мы остановимся на рассмотрении влияния АФК на индукцию процессов клеточного старения и апоптоза у низших эукариот (на примере дрожжей и некоторых видов простейших).

В последние годы появились доказательства того, что в стареющих клетках *S. cerevisiae* усилена продукция

АФК, повышены активность каспаз и уровень белков, являющихся молекулярными маркерами апоптоза (Herker et al., 2004). У дрожжей описано несколько путей, приводящих к апоптозу (Giannattasio, 2005; Buttner et al., 2006; Gourlay et al., 2006; Guaragnella et al., 2006; Frohlich et al., 2007, и др.). В их число входит протеосомный апоптотический путь, индуцирующий смерть клеток через разрушение белка Cdc6p — регулятора репликации ДНК. Этот путь ранее был обнаружен в клетках млекопитающих (Blanchard et al., 2002). Однако по мнению большинства исследователей, основным механизмом, приводящим к апоптозу, является кислородозависимый (Madeo et al., 1999; Laun et al., 2001; Ludovico et al., 2002; Giannattasio et al., 2005).

К развитию преждевременного старения и апоптозу у *S. cerevisiae* приводит как индукция АФК вследствие инкубации клеток с H_2O_2 , так и уменьшение продукции глутатиона — низкомолекулярного пептида, поддерживающего сульфгидрильные группы в белках в восстановленном состоянии (Madeo et al., 1999; Herker et al., 2004). В тестах с использованием флуоресцентного красителя дигидрооротамина 123В (DNR), способного окисляться в присутствии радикалов кислорода, было установлено, что уже со 2-х сут культивирования в отдельных клетках *S. cerevisiae* начинают появляться радикалы кислорода, по мере развития культуры (3—12 сут культивирования) АФК продолжают накапливаться, а через 12 сут они обнаруживаются уже во всей клеточной популяции (Herker et al., 2004). При этом была выявлена прямая корреляционная зависимость между количеством DNR-окрашенных клеток и количеством клеток, вступивших в апоптоз. Оказалось, что жизнь популяции стареющих клеток можно существенно продлить. Достигается это с помощью следующих приемов: 1) путем разрушения гена *YCA1*, продуктом которого является одноименная каспаза (Madeo et al., 2004); 2) повышением экспрессии гена *YAP1* (гомолога *AP-1* — регулятора апоптоза в клетках человека); 3) путем использования аутокринных факторов роста, выделяемых клетками, вступившими в апоптоз (Herker et al., 2004). Исходя из того, что при наличии высокоэффективной антиоксидантной защиты апоптоз у дрожжей индуцируется относительно низкими концентрациями АФК, можно предположить следующее. Во-первых, развитие кислородного стресса — самый естественный и распространенный триггерный механизм регулируемого апоптотического процесса (Шемарова, 2007). Во-вторых, апоптоз, сопряженный с процессами естественного старения клеток — одна из форм альтруистической смерти, когда гибель большей части клеток обеспечивает выживание популяции (Herker et al., 2004).

У протозойных микроорганизмов процессы клеточного старения и смерти, инициируемые клеточным стрессом, изучены в меньшей степени. Как уже отмечалось нами ранее (Шемарова, 2007), у большинства изученных видов одноклеточных эукариот на клеточной поверхности нет специализированных рецепторов, воспринимающих суицидный сигнал. Роль сенсоров апоптотического сигнала у них выполняют белки, чувствительные к изменению физико-химических свойств окружающей среды. Эти белки локализованы в ПМ клеток и способны запускать стрессактивируемые сигнальные пути через изменение Ca^{2+} -гомеостаза и генерацию АФК. Вероятно, у микроорганизмов именно эти белки, трансформирующие внеклеточные сигналы во внутриклеточные, являются ведущими и в индукции дальнейших событий, в конечном

счете приводящих к апоптозу. Более того, в клетках кинетопластных простейших, как и у дрожжей, АФК выполняют функцию прямых индукторов апоптоза (Ridgley et al., 1999). В данном случае апоптотический путь может запускаться свободными лигандами кислорода, генерируемыми в результате перекисного окисления липидов ПМ. Во внутриклеточной передаче апоптотических сигналов АФК и ионы Ca^{2+} играют роль вторичных посредников. Им отводится важная роль в стимуляции митохондриального апоптотического механизма (Mehta, Shaha, 2004), но в то же время имеются указания на то, что эти вторичные посредники также служат коактиваторами белков, обладающих функциями каспаз (Madeo et al., 2004) — основных участников лигандопосредованного апоптотического пути.

Ядерные мишени белков, являющихся индукторами дегенеративных клеточных процессов у простейших, изучены недостаточно. Например, известно, что у *Leishmania donovani* к фрагментации ДНК приводят инкубация клеток в слабых растворах NO или липополисахаридов — веществ, генерирующих NO, а также действие теплового шока или пищевого голодания (Zangger, 2002). Однако неизвестно, имеются ли у них STRE-содержащие гены, активируемые различными факторами стресса, в том числе и вышеприведенными, а также гены, регулируемые устойчивыми к стрессу транскрипционными факторами типа Msn2 и Msn4. Соответственно пока нет прямых доказательств участия сопряжения стрессактивируемых сигнальных путей с ядерными механизмами, осуществляющими контроль за продолжительностью жизни протозойных микроорганизмов. Очевидно, что проблема регуляции продолжительности жизни микроорганизмов неразрывно связана с проблемой их выживаемости в неблагоприятных условиях среды. Обнаружение у лейшманий белков — продуктов гена *LmSir2* (гомолога *Sir2* дрожжей), которые повышают выживаемость амастиготных форм паразита в клетках хозяина (Vergnes et al., 2002), является первым шагом к пониманию этих взаимосвязанных проблем.

Митохондриальные механизмы регуляции продолжительности жизни

Первые сведения о том, что помимо ядерного звена регуляции продолжительности жизни имеется еще и митохондриальное, появились в конце прошлого столетия (Parikh et al., 1987). На примере *S. cerevisiae* было показано, что дисфункция митохондрий, а именно понижение их дыхательной способности, является первым звеном в цепочке событий, сопряженных с возрастными изменениями клеток. Эти изменения носят комплексный характер, но многие из них направлены на адаптацию клеток в условиях клеточного стресса (Butow, Avadhani, 2004), а следовательно, на поддержание жизнеспособности клеток и увеличение продолжительности их жизни.

Сигнальный путь, инициируемый митохондриями с пониженной дыхательной способностью, получил название ретроградного пути (Liao et al., 1991). В настоящее время уже имеются общие представления о его структуре и функционировании в клетках дрожжей и позвоночных, однако мало известно о конкретных механизмах его активации и реализации (Butow, Avadhani, 2004; Jazwinski, 2005). Так, например, неизвестна природа сигнала, передающегося на каскад ферментов ретроградного пути.

Пока лишь с уверенностью можно сказать, что индуктором этого пути является понижение Ψ_m клеток, что может говорить о включении в сигнальную трансдукцию механизмов преобразования электрических сигналов в биохимические. Возможно, что ключевую роль в этом механизме играет F_1 -АТФаза, так как именно она ответственна за создание разности Ψ_m ($\Delta\Psi_m$) (Lai et al., 2002). Отмечено, что с увеличением репликативного возраста клеток Ψ_m понижается в несколько раз, что некоторые авторы связывают с нарушениями в работе этого фермента (Lai et al., 2002). В митохондриях клеток человека также имеется F_1 -АТФаза, которая наряду с АТФ/АДФ-обменником участвует в формировании и поддержании $\Delta\Psi_m$ (Buchet, Godinot, 1998). Возможно, что и в клетках млекопитающих мутации этого фермента, естественно возникающие при старении, могут включаться в индукцию ретроградного пути.

Считается, что непосредственным сенсором Ψ_m является белок Rtg2, обладающий признаками шаперона (Koonin, 1994). В сигнальной трансдукции этот белок играет исключительно важную роль, так как через сопряжение с ключевыми ферментами других внутриклеточных сигнальных систем он вовлекается в регуляцию метаболизма, адаптацию и генную экспрессию (Jazwinski, 2005).

В ретроградном сигнальном пути нисходящими мишенями Rtg2 являются преимущественно транскрипционные факторы Rtg1p и Rtg3p, локализованные в цитоплазме (Sekito et al., 2000). Под действием Rtg2 эти транскрипционные факторы, существующие в виде гетеродимерного комплекса Rtg1p/Rtg3p, активируются (путем частичного дефосфорилирования Rtg3p) и вследствие этого транслоцируются в ядро, где связываются с регуляторными элементами в промоторах генов ретроградного ответа. В круг генов, экспрессия которых регулируется Rtg1p/Rtg3p, входят гены, кодирующие ацетил-коэнзим А-синтетазу, ферменты глиоксилатного цикла, а также множество регуляторных цитоплазматических, митохондриальных и пероксисомальных белков (Erstein et al., 2001). Интересно, что уровень продуктов ряда метаболитических генов (*CIT1*, *ACO1*, *IDH1* и *IDH2*), которые находятся под контролем генов ретроградного ответа, повышен в мутантных клетках *S. cerevisiae* с высокой дыхательной активностью, что может свидетельствовать о важной роли ретроградного пути в обеспечении компенсаторных механизмов регуляции клеточного дыхания при дисфункции митохондрий (Rosenkrantz et al., 1994).

Важно отметить, что спектр экспрессируемых генов ретроградного ответа во многом зависит от конечных звеньев описываемого митохондриального пути. Выше мы рассмотрели ретроградный путь, который регулирует экспрессию метаболитических генов через образование Rtg1p/Rtg3p-комплекса. Здесь же имеет смысл упомянуть о вкладе ретроградного пути в изменение экспрессии генов стрессового ответа. Активируются эти гены вследствие образования комплекса Rtg2—SLIK, подобного SAGA (Pray-Grant et al., 2002), а подавляются корепрессирующими комплексами, содержащими Rpd3p и Hda1p (Huisinga, Pugh, 2004).

Как оказалось, индукция обоих митохондриальных механизмов влияния на генную транскрипцию положительным образом отражается на продолжительности репликативной жизни клеток. Это доказывается тем, что увеличение продолжительности жизни клеток ассоциируется с индукцией гена *CIT2* (диагностического гена ретроградного пути), а сокращение — с репрессией гена *RTG2* или *RTG3* (Kirchman et al., 1999; Borghouts et al., 2004).

Важно подчеркнуть, что в естественных условиях ретроградный путь приводит к существенному увеличению продолжительности репликативной жизни в клеточных системах с высоким пролиферативным потенциалом, в то время как в терминально детерминированных клетках он функционально малоактивен. Это связано с тем, что белок Rtg2p, способный частично подавлять образование кольцевых рДНК в интенсивно делящихся клетках, не справляется с этой функцией в медленно пролиферирующих клетках, перегруженных данными структурами (Jazwinski, 2005).

Неожиданным оказалось, что продолжительность репликативной жизни клеток Metazoa и дрожжей находится под контролем генов прогибитинового комплекса (см. таблицу) (Dell'Orco et al., 1996; Jazwinski, 1996). Долгое время считалось, что прогибитины являются негативными регуляторами размножения, оказывая на клетки антипролиферативное действие путем их блокирования в фазе G₁/S клеточного цикла (Nuell et al., 1991). Однако с помощью методов генетического анализа были выявлены новые свойства белков прогибитинового комплекса, которые позволяют рассматривать их в качестве важных регуляторов процессов клеточного старения (Coates et al., 1997; Piper, Bringle, 2002). Так, например, было установлено, что у дрожжей *S. cerevisiae* делеция генов *PHB1* и *PHB2*, являющихся гомологами прогибитинов млекопитающих, приводит к уменьшению продолжительности жизни (Coates et al., 1997; Piper, Bringle, 2002). Установлено, что негативные по прогибитиновым генам мутанты приобретают фенотип стареющих клеток, подробно описанный в классической работе Мортимера и Джонсона (Mortimer, Johnston, 1959). Прогибитины называют «белками, гарантирующими долголетие» (Coates et al., 1997). Однако молекулярные механизмы влияния этих белков на продолжительность жизни не совсем ясны. Прогибитины локализуются во внутренней мембране митохондрий и участвуют в процессах внутриклеточной сигнализации путем поддержания $\Delta\Psi_m$ (Coates et al., 1997). Однако одним влиянием прогибитинов на активность митохондрий нельзя объяснить широкое вовлечение этих белков в регуляцию прогрессии клеточного цикла, старения и апоптоза (Tatsuta et al., 2005). В последние годы появились данные о том, что прогибитины способны взаимодействовать с регуляторными киназами MAP-киназного пути и транскрипционными факторами (Montano et al., 1999; Wang et al., 1999; Rajalingam, Rudel, 2005). Дальнейшее выяснение участия прогибитинов в межбелковых взаимодействиях сигнальных молекул поможет получить ответ на этот вопрос.

Таким образом, приведенные в данном разделе обзора примеры участия специализированных митохондриальных комплексов белков в сигнальных процессах, направленных на увеличение продолжительности жизни, не укладываются в сложившиеся представления о том, что митохондрии являются индукторами исключительно дегенеративных изменений в клетках. Вышеприведенные данные позволяют по-новому взглянуть на устоявшееся положение гипотезы Хармана, назвавшего митохондрии «молекулярными часами» клеток (Harman, 1972).

Однако не следует забывать, что именно в митохондриях клеток, в том числе и клеток протистов, берет начало митохондриальный сигнальный путь, приводящий к программируемой клеточной смерти (Шемарова, 2007). Напомним некоторые особенности передачи сигналов по этому пути у одноклеточных эукариот.

У эукариотических микроорганизмов отсутствует характерный для клеток высших эукариот механизм активации митохондриального проапоптотического пути через формирование супрамолекулярного сигнального комплекса при участии каспазо-3-подобных белков. У них передача суицидных сигналов, индуцированных клеточным стрессом, происходит преимущественно по схеме: активация каспазо-3-подобных протеаз \rightarrow понижение $\Delta\Psi_m \rightarrow$ повышение активности ядерных нуклеаз \rightarrow частичная конденсация хроматина. Наиболее подробно этот путь передачи сигнала изучен у кинетопластидных протозойных паразитов (Sen et al., 2004). О том, как передаются апоптотические сигналы в ядро других протистологических объектов, пока известно очень мало. По-видимому, эта передача осуществляется преимущественно без участия каспазоподобных белков. Механизмы такой передачи у протистов различны и зависят как от вида микроорганизма, так и от типа передаваемого сигнала. У большинства исследованных микроорганизмов исключительно важную роль в индукции апоптоза играют АФК. Участие АФК в развитии апоптоза доказывается тем, что их продукция в клетках существенно возрастает перед такими важными событиями апоптоза, как деполяризация митохондриальной мембраны, освобождение цитохрома *c* и фрагментация ядерной ДНК (Burhans et al., 2003). В настоящее время появляется все больше данных о том, что АФК могут участвовать в передаче апоптотических сигналов, не зависящих от каспазного пути (Castedo et al., 2002; Kang et al., 2004; Liu et al., 2005). В клетках млекопитающих этот путь связан с понижением Ψ_m , освобождением из митохондрий апоптогенных белков АИФ и эндонуклеазы *G* и последующим перемещением последних из цитоплазмы в ядро (Liu et al., 2005). Интересно, что гомологи вышеназванных апоптогенных белков выявлены в клетках низших грибов — миксомицетов (Arnoult et al., 2001) и дрожжей (Vincent et al., 1988; Ikeda, Kawasaki, 2001; Wissing et al., 2001; Low, Gerschenson, 2002). По-видимому, они также опосредуют передачу апоптотических сигналов по каспазозависимому пути, сходному с таковым в клетках высших эукариот (подробнее см.: Шемарова, 2007).

В данном разделе представляется интересным рассмотреть новый Ca^{2+} -зависимый путь передачи апоптотических сигналов, инициируемый окислительным стрессом. Такой путь, приводящий к апоптозу, выявлен в клетках лейшманий (Mukherjee et al., 2002) и трипаносом (Ridgley et al., 1999) и может являться прототипом апоптотических путей митохондриального происхождения в клетках Metazoa.

Пусковым фактором в Ca^{2+} -зависимой передаче апоптотических сигналов является многократное повышение концентрации внутриклеточного кальция, вызванное АФК. У промастигот *Leishmania donovani* к возникновению апоптотического кальциевого сигнала приводит понижение Ψ_m (Mukherjee et al., 2002), у *Trypanosoma cruzi* — нарушение их способности аккумулировать Ca^{2+} (Ridgley et al., 1999). Ранее на примере нескольких типов клеток млекопитающих было показано, что нарушение кальциевого гомеостаза в сочетании с увеличенной продукцией АФК токсично для клеток и может инициировать клеточную смерть (Richter et al., 1995; Lipton, Nicotera, 1998; Nicotera, Orrenius, 1998; Tan et al., 2001). Механизм развития апоптоза в таких клетках связан с повышением проницаемости каналов внутренней митохондриальной мембраны (образование гигантской поры) при участии

проапоптотических белков *Bax* и *Bid* в сочетании с кардиолипином (Zoratti, Szabo, 1995; Zamzami, Kroemer, 2003). Открывание такой поры вызывает набухание митохондрий, повреждение их наружной мембраны и выход из межмембранного пространства в цитоплазму апоптогенных белков — цитохрома *c* и АИФ. На примере лейшманий было показано, что у простейших изменение проницаемости митохондрий не сопряжено с формированием гигантской поры (Mukherjee et al., 2002). Каким образом инициируются дальнейшие внутриклеточные события, приводящие к смерти клеток, пока не совсем ясно. На сегодняшний день очевиден лишь факт, что у простейших (на примере *T. cruzi*) под действием АФК происходит повышение проницаемости ядерной мембраны для Ca^{2+} (Ridgley et al., 1999). Авторы цитируемой работы предполагают, что ионы Ca^{2+} в результате массивного проникновения в ядро могут непосредственно активировать эндонуклеазу, ответственную за фрагментацию ДНК. В клетках протистов специфические Ca^{2+} -зависимые эндонуклеазы пока не идентифицированы, но исходя из данных о широком распространении этих ферментов в клетках разного уровня организации можно с уверенностью допустить возможность их существования и у простейших (Eastman, 1995; Urbano et al., 1998; Hickey et al., 2001).

В целом цикл исследований, посвященный изучению роли митохондрий в регуляции продолжительности жизни эукариотических микроорганизмов, пока находится в начальной стадии и не может предоставить достаточного фактического материала для глубоких теоретических обобщений.

Заключение

Проведенный анализ литературных данных показал, что у низших эукариот имеются высокоспециализированные ядерные и митохондриальные механизмы регуляции продолжительности жизни. Из ядерных механизмов можно выделить два. Один из них связан с функционированием теломеразного комплекса (рассмотрен на примере дрожжей и инфузорий), второй — с регуляцией активности генов-РПЖ.

Важную координирующую роль в регуляции продолжительности жизни низших эукариот играют транскрипционные факторы, взаимодействующие с генами антистрессового ответа. На примере дрожжей показано, что активация этих факторов (*Msn2* и *Msn4*) опосредует стимулирующее влияние умеренного стресса на антиоксидантную систему защиты клеток, в то время как сильнодействующие стрессоры, в том числе АФК, способны оказывать прямое действие на гены-РПЖ. В основном это действие наносит урон системам жизнеобеспечения клеток, что приводит к их преждевременному старению и(или) апоптозу.

Исследования митохондриальных механизмов регуляции продолжительности жизни показали, что дисфункция митохондрий, а именно понижение их дыхательной способности, является первым звеном в цепочке событий, сопряженных с необратимыми дегенеративными изменениям клеток. Однако в митохондриях имеются и сигнальные звенья, регулируемые «белками долголетия», а также белками ретроградного пути, которые вносят вклад в увеличение продолжительности жизни клеток с пониженным пролиферативным потенциалом.

Феномен регуляции продолжительности жизни представляет предмет особого интереса молекулярных биологов. Благодаря этому достигнут настоящий прорыв в решении многих проблем геронтологии и эволюционной биологии. Исследования процессов клеточного роста, старения и апоптоза у низших эукариот (на примере модельных организмов) позволили получить новые доказательства единства молекулярных механизмов контроля за программируемыми процессами в клетках организмов разного уровня филогенетического развития.

Список литературы

- Епифанова О. И., Полуновский В. А., Терских В. В. 1988. Регуляция размножения клеток в процессе специализации, старения и неопластической трансформации. М.: ВИНТИ. Итоги науки и техники. 11 : 120 с.
- Оловников А. М. 1971. Принцип маргинотомии в матричном синтезе полинуклеотидов. ДАН СССР. 201 (6) : 1496—1499.
- Шемарова И. В. 2004. Роль фосфоинозитидного пути передачи сигнала в клетках низших эукариот. Цитология. 46 (2) : 136—150.
- Шемарова И. В. 2007. Пути передачи апоптотических сигналов в клетках низших эукариот. Цитология. 49 (3) : 229—242.
- Щербакова Д. М., Зверева М. Э., Шпанченко О. В., Донцова О. А. 2006. Теломераза: строение и свойства фермента, особенности теломеразы дрожжей. Молекуляр. биол. 40 (4) : 580—594.
- Afshari C. A., Vojta P. J., Annab L. A., Futreal P. A., Willard T. B., Barrett J. C. 1993. Investigation of the role of G₁/S cell cycle mediators in cellular senescence. *Exp. Cell Res.* 209 : 231—237.
- Allsopp R. C., Vaziri H., Patterson C., Goldstein S., Younglai E. V., Fletcher A. B., Greider C. W., Harley C. B. 1992. Telomere length predicts replicative capacity of human fibroblasts. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 89 : 10 114—10 118.
- Alvarez B., Moreno S. 2006. Fission yeast Tor2 promotes cell growth and represses cell differentiation. *J. Cell Sci.* 119 : 4475—4485.
- Ameisen J. C. 2002. On the origin, evolution, and nature of programmed cell death: a timeline of four billion years. *Cell Death Differ.* 9 : 367—393.
- Anderson R. M., Bitterman K. J., Wood J. G., Medvedik O., Sinclair D. A. 2003. Nicotinamide and PNC1 govern lifespan extension by calorie restriction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature.* 423 : 181—185.
- Arad M., Benson D. W., Perez-Atayde A. R., McKenna W. J., Sparks E. A., Kanter R. J., McGarry K., Seidman J. G., Seidman C. E. 2002. Constitutively active AMP kinase mutations cause glycogen storage disease mimicking hypertrophic cardiomyopathy. *J. Clin. Invest.* 109 : 357—362.
- Arnoult D., Tatischeff I., Estaquier J., Girard M., Sureau F., Tissier J. P., Grodet A., Dellinger M., Traincard F., Kahn A., Ameisen J. C., Petit P. X. 2001. On the evolutionary conservation of the cell death pathway: mitochondrial release of an apoptosis-inducing factor during *Dictyostelium discoideum* cell death. *Mol. Biol. Cell.* 12 : 3016—3030.
- Artal-Sanz M., Tsang W. Y., Willems E. M., Grivell L. A., Lemire B. D., Van der Spek H., Nijtmans L. G. 2003. The mitochondrial prohibitin complex is essential for embryonic viability and germline function in *Caenorhabditis elegans*. *J. Biol. Chem.* 278 : 32 091—32 099.
- Ashrafi K., Lin S. S., Manchester J. K., Gordon J. I. 2000. Sip2p and its partner snf1p kinase affect aging in *S. cerevisiae*. *Genes Develop.* 14 : 1872—1885.
- Bai J., Zhu X., Zheng X., Wu Y. 1998. Overexpression of CuZnSOD gene suppresses the growth of hepatocellular cancer cell line HepG2. *Chin. Med. J.* 111 : 789—792.
- Beattie T. L., Zhou W., Robinson M. O., Harrington L. 2001. Functional multimerization of the human telomerase reverse transcriptase. *Mol. Cell. Biol.* 21 : 6151—6160.
- Beernink H. T., Miller K., Deshpande A., Bucher P., Cooper J. P. 2003. Telomere maintenance in fission yeast requires an Est1 ortholog. *Curr. Biol.* 13 : 575—580.
- Blackburn E. H. 1991. Telomeres. *Trends. Biochem. Sci.* 16 : 378—381.
- Blackburn E. H., Greider C. W., Szostak J. W. 2006. Telomeres and telomerase: the path from maize, *Tetrahymena* and yeast to human cancer and aging. *Nat. Med.* 12 : 1133—1138.
- Blanchard F., Rusiniak M. E., Sharma K., Sun X., Todorov I., Castellano M. M., Gutierrez C., Baumann H., Burhans W. C. 2002. Targeted destruction of DNA replication protein Cdc6 by cell death pathways in mammals and yeast. *Mol. Biol. Cell.* 13 : 1536—1549.
- Bodnar A. G., Ouellette M., Frolkis M., Holt S. E., Chiu C. P., Morin G. B., Harley C. B., Shay J. W., Lichtsteiner S., Wright W. E. 1998. Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. *Science.* 279 : 349—352.
- Borghouts C., Benguria A., Wawryn J., Jazwinski S. M. 2004. Rtg2 protein links metabolism and genome stability in yeast longevity. *Genetics.* 166 : 765—777.
- Bottius E., Bakhsis N., Scherf A. 1998. *Plasmodium falciparum* telomerase: de novo telomere addition to telomeric and nontelomeric sequences and role in chromosome healing. *Mol. Cell. Biol.* 18 : 919—925.
- Brunet A., Bonni A., Zigmond M. J., Lin M. Z., Juo P., Hu L. S., Anderson M. J., Arden K. C., Blenis J., Greenberg M. E. 1999. Akt promotes cell survival by phosphorylating and inhibiting a Forkhead transcription factor. *Cell.* 96 : 857—868.
- Buchet K., Godinot C. 1998. FGF functional F1-ATPase essential in maintaining growth and membrane potential of human mitochondrial DNA-depleted rho degrees cells. *J. Biol. Chem.* 273 : 22 983—22 989.
- Burhans W. C., Weinberger M., Marchetti M. A., Ramachandran L., D'Urso G., Huberman J. A. 2003. Apoptosis-like yeast cell death in response to DNA damage and replication defects. *Mutat. Res.* 532 : 227—243.
- Butow R. A., Avadhani N. G. 2004. Mitochondrial signaling: the retrograde response. *Mol. Cell.* 14 : 1—15.
- Buttner S., Eisenberg T., Herker E., Carmona-Gutierrez D., Kroemer G., Madeo F. 2006. Why yeast cells can undergo apoptosis: death in times of peace, love, and war. *J. Cell Biol.* 175 : 521—525.
- Calabrese V., Guagliano E., Sapienza M., Mancuso C., Butterfield D. A., Stella A. M. 2006. Redox regulation of cellular stress response in neurodegenerative disorders. *Ital. J. Biochem.* 55 : 263—282.
- Cameroni E., Hulo N., Roosen J., Winderickx J., De Virgilio C. 2004. The novel yeast PAS kinase Rim 15 orchestrates G₀-associated antioxidant defense mechanisms. *Cell Cycle.* 3 : 462—468.
- Candau R., Moore P. A., Wang L., Barlev N., Ying C. Y., Rosen C. A., Berger S. L. 1996. Identification of human proteins functionally conserved with the yeast putative adaptors ADA2 and GCN5. *Mol. Cell. Biol.* 16 : 593—602.
- Carlin C. R., Phillips P. D., Knowles B. B., Cristofalo V. J. 1983. Diminished *in vitro* tyrosine kinase activity of the EGF receptor of senescent human fibroblasts. *Nature.* 306 : 617—620.
- Castedo M., Ferri K., Roumier T., Metivier D., Zamzami N., Kroemer G. 2002. Quantitation of mitochondrial alterations associated with apoptosis. *J. Immunol. Methods.* 265 : 39—47.
- Cerni C. 2000. Telomeres, telomerase, and *myc*. An update. *Mutat. Res.* 462 : 31—47.
- Chakravarti B., Chakravarti D. N. 2006. Oxidative modification of proteins: age-related changes. *Gerontology.* 53 : 128—139.
- Chandel N. S., Budinger G. R. 2007. The cellular basis for diverse responses to oxygen. *Free Radic. Biol. Med.* 42 : 165—174.
- Chen D., Guarente L. 2007. SIR2: a potential target for calorie restriction mimetics. *Trends Mol. Med.* 13 : 64—71.

- Chiu M. I., Katz H., Berlin V. 1994. RAP1, a mammalian homolog of yeast Tor, interacts with the FKBP12/rapamycin complex. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 91 : 12 574—12 578.
- Chua C. C., Geiman D. E., Ladda R. L. 1986. Receptor for epidermal growth factor retains normal structure and function in aging cells. *Mech. Ageing Develop.* 34 : 35—55.
- Coates P. J., Jamieson D. J., Smart K., Prescott A. R., Hall P. A. 1997. The prohibitin family of mitochondrial proteins regulate replicative lifespan. *Curr. Biol.* 7 : 607—610.
- Collins K., Greider C. W. 1995. Utilization of ribonucleotides and RNA primers by *Tetrahymena* telomerase. *EMBO J.* 14 : 5422—5432.
- Counter C. M., Avilion A. A., LeFevre C. E., Stewart N. G., Greider C. W., Harley C. B., Bacchetti S. 1992. Telomere shortening associated with chromosome instability is arrested in immortal cells which express telomerase activity. *EMBO J.* 11 : 1921—1929.
- Cristofari G., Lingner J. 2003. Fingering the ends: how to make new telomeres. *Cell.* 113 : 552—554.
- Dell'Orco R. T., McClung J. K., Jupe E. R., Liu X. T. 1996. Prohibitin and the senescent phenotype. *Exp. Gerontol.* 31 : 245—252.
- Demple B. 2004. Protection from the dark side of NO: signaling and cellular defenses against nitric oxide toxicity. *IUBMB Life.* 56 : 59—64.
- Diede S. J., Gottschling D. E. 1999. Telomerase-mediated telomere addition *in vivo* requires DNA primase and DNA polymerases alpha and delta. *Cell.* 99 : 723—733.
- D'mello N. P., Childress A. M., Franklin D. S., Kale S. P., Pinswasdi C., Jazwinski S. M. 1994. Cloning and characterization of *LAG1*, a longevity-assurance gene in yeast. *J. Biol. Chem.* 269 : 15 451—15 459.
- Dyczkowski J., Vingron M. 2005. Comparative analysis of cell cycle regulated genes in eukaryotes. *Genome Inform.* 16 : 125—131.
- Eastman A. 1995. Assays for DNA fragmentation, endonucleases, and intracellular pH and Ca²⁺ associated with apoptosis. *Methods Cell Biol.* 46 : 41—55.
- Epstein C. B., Waddle J. A., Hale W., 4th, Dave V., Thornton J., Macatee T. L., Garner H. R., Butow R. A. 2001. Genome-wide responses to mitochondrial dysfunction. *Mol. Biol. Cell.* 12 : 297—308.
- Fabrizio P., Battistella L., Vardavas R., Gattazzo C., Liou L. L., Diaspro A., Dossen J. W., Gralla E. B., Longo V. D. 2004. Superoxide is a mediator of an altruistic aging program in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Cell Biol.* 166 : 1055—1067.
- Fabrizio P., Pozza F., Pletcher S. D., Gendron C. M., Longo V. D. 2001. Regulation of longevity and stress resistance by Sch9 in yeast. *Science.* 292 : 288—290.
- Ferber A., Chang C., Sell C., Ptaszniak A., Cristofalo V. J., Hubbard K., Ozer H. L., Adamo M., Roberts C. T., LeRoith D. 1993. Failure of senescent human fibroblasts to express the insulin-like growth factor-1 gene. *J. Biol. Chem.* 268 : 17 883—17 888.
- Freidkin I., Katcoff D. J. 2001. Specific distribution of the *Saccharomyces cerevisiae* linker histone homolog HHO1p in the chromatin. *Nucl. Acids Res.* 29 : 4043—4051.
- Friedman D. B., Johnson T. E. 1988. A mutation in the age-1 gene in *Caenorhabditis elegans* lengthens life and reduces hermaphrodite fertility. *Genetics.* 118 : 75—86.
- Friedman K. L., Heit J. J., Long D. M., Cech T. R. 2003. N-terminal domain of yeast telomerase reverse transcriptase: recruitment of Est3p to the telomerase complex. *Mol. Biol. Cell.* 14 : 1—13.
- Frohlich K. U., Fussi H., Ruckenstuhl C. 2007. Yeast apoptosis — from genes to pathways. *Semin. Cancer Biol.* 17 : 112—121.
- Frye R. A. 1999. Characterization of five human cDNAs with homology to the yeast *SIR2* gene: Sir2-like proteins (sirtuins) metabolize NAD and may have protein ADP-ribosyltransferase activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 260 : 273—279.
- Furukawa Y., Kawakami T., Sudo K., Inazawa J., Matsumine A., Akiyama T., Nakamura Y. 1996. Isolation and mapping of a human gene (*RPD3L1*) that is homologous to *RPD3*, a transcription factor in *Saccharomyces cerevisiae*. *Cytogenet. Cell Genet.* 73 : 130—133.
- Gami M. S., Iser W. B., Hanselman K. B., Wolkow C. A. 2006. Activated AKT/PKB signaling in *C. elegans* uncouples temporally distinct outputs of DAF-2/insulin-like signaling. *BMC Develop. Biol.* 46 : 45.
- Gasch A. P., Werne-Washburne M. 2002. The genomics of yeast responses to environmental stress and starvation. *Funct. Integr. Genomics.* 2 : 181—192.
- Giannattasio S., Guaragnella N., Corte-Real M., Passarella S., Marra E. 2005. Acid stress adaptation protects *Saccharomyces cerevisiae* from acetic acid-induced programmed cell death. *Gene.* 354 : 93—98.
- Gilley D., Blackburn E. H. 1994. Lack of telomere shortening during senescence in *Paramecium*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 91 : 1955—1958.
- Gourlay C. W., Du W., Ayscough K. R. 2006. Apoptosis in yeast — mechanisms and benefits to a unicellular organism. *Mol. Microbiol.* 62 : 1515—1521.
- Greider C. W., Blackburn E. H. 1985. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in *Tetrahymena* extracts. *Cell.* 43 : 405—413.
- Greider C. W., Blackburn E. H. 1989. A telomeric sequence in the RNA of *Tetrahymena* telomerase required for telomere repeat synthesis. *Nature.* 337 : 331—337.
- Guaragnella N., Pereira C., Sousa M. J., Antonacci L., Passarella S., Corte-Real M., Marra E., Giannattasio S. 2006. YCA1 participates in the acetic acid induced yeast programmed cell death also in a manner unrelated to its caspase-like activity. *FEBS Lett.* 580 : 6880—6884.
- Haigis M. C., Guarente L. P. 2006. Mammalian sirtuins — emerging roles in physiology, aging, and calorie restriction. *Genes Develop.* 20 : 2913—2921.
- Hammond P. W., Cech T. R. 1998. *Euplotes* telomerase: evidence for limited base-pairing during primer elongation and dGTP as an effector of translocation. *Biochemistry.* 37 : 5162—5172.
- Harley C. B., Futcher A. B., Greider C. W. 1990. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature.* 345 : 458—460.
- Harman D. 1972. The biologic clock: the mitochondria? *J. Amer. Geriatr. Soc.* 20 : 145—147.
- Harris N., Bachler M., Costa V., Mollapour M., Moradas-Ferreira P., Piper P. W. 2005. Overexpressed Sod1p acts either to reduce or to increase the lifespans and stress resistance of yeast, depending on whether it is Cu²⁺-deficient or an active Cu,Zn-superoxide dismutase. *Aging Cell.* 4 : 41—52.
- Hayflick L. 1965. The limited *in vitro* lifetime of human diploid cell strains. *Exp. Cell Res.* 37 : 614—636.
- Hayflick L., Moorhead P. S. 1961. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp. Cell Res.* 25 : 585—621.
- Henson J. D., Neumann A. A., Yeager T. R., Reddel R. R. 2002. Alternative lengthening of telomeres in mammalian cells. *Oncogene.* 21 : 598—610.
- Herker E., Jungwirth H., Lehmann K. A., Maldener C., Frohlich K. U., Wissing S., Buttner S., Fehr M., Sigrist S., Madeo F. 2004. Chronological aging leads to apoptosis in yeast. *J. Cell Biol.* 164 : 501—507.
- Hickey E. J., Raje R. R., Reid V. E., Gross S. M., Ray S. D. 2001. Diclofenac induced *in vivo* nephrotoxicity may involve oxidative stress-mediated massive genomic DNA fragmentation and apoptotic Free Radic. *Biol. Med.* 31 : 139—152.
- Hofer T., Spielmann P., Stengel P., Stier B., Katschinski D. M., Desbaillets I., Gassmann M., Wenger R. H. 2001. Mammalian Biophys. Res. Commun. 288 : 757—764.
- Honda Y., Honda S. 1999. The *daf-2* gene network for longevity regulates oxidative stress resistance and Mn-superoxide dismutase gene expression in *Caenorhabditis elegans*. *FASEB J.* 13 : 1385—1393.
- Horvath M. P., Schweiker V. L., Bevilacqua J. M., Rugles J. A., Schultz S. C. 1998. Crystal structure of the *Oxytricha nova* telomere end binding protein complexed with single strand DNA. *Cell.* 95 : 963—974.

- Hughes T. R., Evans S. K., Weilbaecher R. G., Lundblad V. 2000. The Est3 protein is a subunit of yeast telomerase. *Curr. Biol.* 10 : 809—812.
- Huisinga K. L., Pugh B. F. 2004. A genome-wide housekeeping role for TFIID and a highly regulated stress-related role for SAGA in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Cell.* 13 : 573—585.
- Ikeda S., Kawasaki N. 2001. Isolation and characterization of the *Schizosaccharomyces pombe* cDNA encoding the mitochondrial endonuclease 1. *Biochim. biophys. acta.* 1519 : 111—116.
- Ivy J. M., Klar A. J., Hicks J. B. 1986. Cloning and characterization of four SIR genes of *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Cell. Biol.* 6 : 688—702.
- Jazwinski S. M. 1996. Longevity, genes, and aging. *Science.* 273 : 54—59.
- Jazwinski S. M. 1999. The RAS genes: a homeostatic device in *Saccharomyces cerevisiae* longevity. *Neurobiol. Aging.* 20 : 471—478.
- Jazwinski S. M. 2005. The retrograde response links metabolism with stress responses, chromatin-dependent gene activation, and genome stability in yeast aging. *Gene.* 354 : 22—27.
- Jazwinski S. M., Conzelmann A. 2002. LAG1 puts focus on ceramide signaling. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 34 : 1491—1495.
- Jiang J. C., Kirchman P. A., Zagulski M., Hunt J., Jazwinski S. M. 1998. Homologs of the yeast longevity gene *LAG1* in *Caenorhabditis elegans* and human. *Genome Res.* 8 : 1259—1272.
- Johnson T. E. 1990. Increased life-span of age-1 mutants in *Caenorhabditis elegans* and lower Gompertz rate of aging. *Science.* 249 : 908—912.
- Kaerberlein M., Hu D., Kerr E. O., Tsuchiya M., Westman E. A., Dang N., Fields S., Kennedy B. K. 2005. Increased life span due to calorie restriction in respiratory-deficient yeast. *PLoS Genet.* 1 : e69.
- Kang Y. H., Yi M. J., Kim M. J., Park M. T., Bae S., Kang C. M., Cho C. K., Park I. C., Park M. J., Rhee C. H., Hong S. I., Chung H. Y., Lee Y. S., Lee S. J. 2004. Caspase-independent cell death by arsenic trioxide in human cervical cancer cells: reactive oxygen species-mediated poly(ADP-ribose) polymerase-1 activation signals apoptosis-inducing factor release from mitochondria. *Cancer Res.* 64 : 8960—8967.
- Kelleher C., Teixeira M. T., Forstmann K., Lingner J. 2002. Telomerase: biochemical considerations for enzyme and substrate. *Trends Biochem. Sci.* 27 : 572—579.
- Kelly T. J., Qin S., Gottschling D. E., Parthun M. R. 2000. Type B histone acetyltransferase Hat1p participates in telomeric silencing. *Mol. Cell. Biol.* 20 : 7051—7058.
- Kenyon C., Chang J., Gensch E., Rudner A., Tabtiang R. A. 1993. *C. elegans* mutant that lives twice as long as wild type. *Nature.* 366 : 461—464.
- Kharade S. V., Mittal N., Das S. P., Sinha P., Roy N. 2005. Mrg19 depletion increases *S. cerevisiae* lifespan by augmenting ROS defence. *FEBS Lett.* 579 : 6809—6813.
- Kim N. W., Piatyszek M. A., Prowse K. R., Harley C. B., West M. D., Ho P. L., Coviello G. M., Wright W. E., Weinrich S. L., Shay J. W. 1994. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science.* 266 : 2011—2015.
- Kim S., Benguria A., Lai C. Y., Jazwinski S. M. 1999. Modulation of life-span by histone deacetylase genes in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Biol. Cell.* 10 : 3125—3136.
- Kim S., Ohkuni K., Couplan E., Jazwinski S. M. 2004. The histone acetyltransferase GCN5 modulates the retrograde response and genome stability determining yeast longevity. *Biogerontology.* 5 : 305—316.
- Kipling D., Cooke H. J. 1992. Beginning or end? Telomere structure, genetics and biology. *Hum. Mol. Genet.* 1 : 3—6.
- Kirchman P. A., Kim S., Lai C. Y., Jazwinski S. M. 1999. Interorganellar signaling is a determinant of longevity in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics.* 152 : 179—190.
- Klingelhut A. J., Foster S. A., McDougall J. K. 1996. Telomerase activation by the E6 gene product of human papillomavirus type 16. *Nature.* 380 : 79—82.
- Koonin E. V. 1994. Yeast protein controlling inter-organellar communication is related to bacterial phosphatase containing the Hsp 70-type ATP-binding domain. *Trends Biochem. Sci.* 19 : 156—157.
- Koubova J., Guarente L. 2003. How does calorie restriction work? *Genes Develop.* 17 : 313—321.
- Lai C. Y., Jaruga E., Borghouts C., Jazwinski S. M. 2002. A mutation in the ATP2 gene abrogates the age asymmetry between mother and daughter cells of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics.* 162 : 73—87.
- Laun P., Pichova A., Madeo F., Fuchs K., Ellinger A., Kohlwein S., Dawes I., Frohlich K. U., Breitenbach M. 2001. Aged mother cells of *Saccharomyces cerevisiae* show markers of oxidative stress and apoptosis. *Mol. Microbiol.* 39 : 1166—1173.
- Lee C. K., Klopp R. G., Weindruch R., Prolla T. A. 1999. Gene expression profile of aging and its retardation by caloric restriction. *Science.* 285 : 1390—1393.
- Lee C. K., Pugh T. D., Klopp R. G., Edwards J., Allison D. B., Weindruch R., Prolla T. A. 2004. The impact of alpha-lipoic acid, coenzyme Q10 and calorie restriction on life span and gene expression patterns in mice. *Free Radic. Biol. Med.* 36 : 1043—1057.
- Lee H. W., Blasco M. A., Gottlieb G. J., Horner J. W., 2nd, Greider C. W., DePinho R. A. 1998. Essential role of mouse telomerase in highly proliferative organs. *Nature.* 392 : 569—574.
- Lendvay T. S., Morris D. K., Sah J., Balasubramanian B., Lundblad V. 1996. Senescence mutants of *Saccharomyces cerevisiae* with a defect in telomere replication identify three additional EST genes. *Genetics.* 144 : 1399—1412.
- Levy M. Z., Allsopp R. C., Futcher A. B., Greider C. W., Harley C. B. 1992. Telomere end-replication problem and cell aging. *J. Mol. Biol.* 225 : 951—960.
- Liao X. S., Small W. C., Srere P. A., Butow R. A. 1991. Intra-mitochondrial functions regulate nonmitochondrial citrate synthase (CIT2) expression in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Cell. Biol.* 11 : 38—46.
- Lin K., Dorman J. B., Rodan A., Kenyon C. 1997. Daf-16: an HNF-3/forkhead family member that can function to double the life-span of *Caenorhabditis elegans*. *Science.* 278 : 1319—1322.
- Lin S. J., Kaerberlein M., Andalis A. A., Sturtz L. A., Defossez P. A., Culotta V. C., Fink G. R., Guarente L. 2002. Calorie restriction extends *Saccharomyces cerevisiae* lifespan by increasing respiratory. *Nature.* 418 : 344—348.
- Lin S. S., Manchester J. K., Gordon J. I. 2003. Sip2, an N-myristoylated beta subunit of Snf1 kinase, regulates aging in *Saccharomyces cerevisiae* by affecting cellular histone kinase activity, recombination at rDNA loci, and silencing. *J. Biol. Chem.* 278 : 13 390—13 397.
- Linggi B. E., Brandt S. J., Sun Z. W., Hiebert S. W. J. 2005. Translating the histone code into leukemia. *Cell. Biochem.* 96 : 938—950.
- Lipton S. A., Nicotera P. 1998. Calcium, free radicals and excitotoxins in neuronal apoptosis. *Cell Calcium.* 23 : 165—171.
- Liu P. L., Chen Y. L., Chen Y. H., Lin S. J., Kou Y. R. 2005. Wood smoke extract induces oxidative stress-mediated caspase-independent apoptosis in human lung endothelial cells: role of AIF and EndoG. *Amer. J. Physiol. Lung Cell Mol.* 289 : L739—L749.
- Longo V. D. 2003. The Ras and Sch9 pathways regulate stress resistance and longevity. *Exp. Gerontol.* 38 : 807—811.
- Low R. L., Gerschenson M. 2002. Endonuclease G isolation and assays. *Methods Mol. Biol.* 197 : 331—349.
- Ludovico P., Rodrigues F., Almeida A., Silva M. T., Barrientos A., Corte-Real M. 2002. Cytochrome c release and mitochondria involvement in programmed cell death induced by acetic acid in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Biol. Cell.* 13 : 2598—2606.
- Lundblad V., Szostak J. W. 1989. A mutant with a defect in telomere elongation leads to senescence in yeast. *Cell.* 57 : 633—643.
- Madeo F., Frohlich E., Ligr M., Grey M., Sigrist S. J., Wolf D. H., Frohlich K. U. 1999. Oxygen stress: a regulator of apoptosis in yeast. *J. Cell Biol.* 145 : 757—767.
- Madeo F., Herker E., Wissing S., Jungwirth H., Eisenberg T., Frohlich K. U. 2004. Apoptosis in yeast. *Curr. Opin. Microbiol.* 7 : 655—660.

- Marcand S., Brevet V., Mann C., Gilson E. 2000. Cell cycle restriction of telomere elongation. *Curr. Biol.* 10 : 487—490.
- Martin D. E., Hall M. N. 2005. The expanding TOR signaling network. *Curr. Opin. Cell Biol.* 17 : 158—166.
- Martinez-Pastor M. T., Marchler G., Schuller C., Marchler-Bauer A., Ruis H., Estruch F. 1996. The *Saccharomyces cerevisiae* zinc finger proteins Msn2p and Msn4p are required for transcriptional induction through the stress response element (STRE). *EMBO J.* 15 : 2227—2235.
- Masoro E. J. 2003. Subfield history: calorie restriction, slowing aging, and extending life. *Sci. Aging Knowledge Environ.* 26 : RE2.
- McCay C. M., Crowel M. F., Maynard L. A. 1935. The effect of retarded growth upon length of life span and the ultimate body size. *J. Nutr.* 10 : 63—79.
- McEachern M. J., Blackburn E. H. 1995. Runaway telomere elongation caused by telomerase RNA gene mutations. *Nature.* 376 : 403—409.
- McEachern M. J., Krauskopf A., Blackburn E. H. 2000. Telomeres and their control. *Annu. Rev. Genet.* 34 : 331—358.
- Mehta A., Shaha C. 2004. Apoptotic death in *Leishmania donovani* promastigotes in response to respiratory chain inhibition: complex II inhibition results in increased pentamidine cytotoxicity. *J. Biol. Chem.* 279 : 11 798—11 813.
- Montano M. M., Ekena K., Delage-Mourroux R., Chang W., Martini P., Katzenellenbogen B. S. 1999. An estrogen receptor-selective coregulator that potentiates the effectiveness of antiestrogens and represses the activity of estrogens. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 96 : 6947—6952.
- Morano K. A., Thiele D. J. 1999. The Sch9 protein kinase regulates Hsp90 chaperone complex signal transduction activity *in vivo*. *EMBO J.* 18 : 5953—5962.
- Moriarty T. J., Huard S., Dupuis S., Autexier C. 2002. Functional multimerization of human telomerase requires an RNA interaction domain in the N terminus of the catalytic subunit. *Mol. Cell. Biol.* 22 : 1253—1265.
- Morris J. Z., Tissenbaum H. A., Ruvkun G. 1996. A phosphatidylinositol-3-OH kinase family member regulating longevity and diapause in *Caenorhabditis elegans*. *Nature.* 382 : 536—539.
- Mortimer R. K., Johnston J. R. 1959. Lifespan of individual yeast cells. *Nature.* 183 : 1751—1752.
- Mukherjee S. B., Das M., Sudhandiran G., Shaha C. 2002. Increase in cytosolic Ca²⁺ levels through the activation of non-selective cation channels induced by oxidative stress causes mitochondrial depolarization leading to apoptosis-like death in *Leishmania donovani* promastigotes. *J. Biol. Chem.* 277 : 24 717—24 727.
- Nakamura T. M., Morin G. B., Chapman K. B., Weinrich S. L., Andrews W. H., Lingner J., Harley C. B., Cech T. R. 1997. Telomerase catalytic subunit homologs from fission yeast and human. *Science.* 277 : 955—959.
- Nemoto S., Finkel T. 2002. Redox regulation of forkhead proteins through a p66 shc-dependent signaling pathway. *Science.* 295 : 2450—2452.
- Nemoto S., Finkel T. 2004. Ageing and the mystery at Arles. *Nature.* 429 : 149—152.
- Nicotera P., Orrenius S. 1998. The role of calcium in apoptosis. *Cell Calcium.* 23 : 173—180.
- Nijtmans L. G., de Jong L., Artal Sanz M., Coates P. J., Berden J. A., Back J. W., Muijers A. O., van der Spek H., Grivell L. A. 2000. Prohibitins act as a membrane-bound chaperone for the stabilization of mitochondrial proteins. *EMBO J.* 19 : 2444—2451.
- Nuell M. J., Stewart D. A., Walker L., Friedman V., Wood C. M., Owens G. A., Smith J. R., Schneider E. L., Dell'Orco R., Lumpkin C. K. 1991. Prohibitin, an evolutionarily conserved intracellular protein that blocks DNA synthesis in normal fibroblasts and HeLa cells. *Mol. Cell. Biol.* 11 : 1372—1381.
- Parikh V. S., Morgan M. M., Scott R., Clements L. S., Butow R. A. 1987. The mitochondrial genotype can influence nuclear gene expression in yeast. *Science.* 235 : 576—580.
- Petrov A. V., Dokudovskaya S. S., Sokolov K. A., Lavrik O. I., Favre A., Dontsova O. A., Bogdanov A. A. 1998. Telomerase from *Saccharomyces cerevisiae* contains several protein subunits and may have different activities depending on the protein content. *FEBS Lett.* 436 : 35—40.
- Piper P. W., Bringle D. 2002. Loss of prohibitins, though it shortens the replicative life span of yeast cells undergoing division, does not shorten the chronological life span of G₀-arrested cells. *Mech. Ageing Develop.* 123 : 287—295.
- Piper P. W., Harris N. L., Mac Lean M. 2006. Preadaptation to efficient respiratory maintenance is essential both for maximal longevity and the retention of replicative potential in chronologically ageing yeast. *Mech. Ageing Develop.* 127 : 733—740.
- Piper P. W., Jones G. W., Bringle D., Harris N., Mac Lean M., Mollapour M. 2002. The shortened replicative life span of prohibitin mutants of yeast appears to be due to defective mitochondrial segregation in old mother cells. *Aging Cell.* 1 : 149—157.
- Powers R. W., 3rd, Kaerberlein M., Caldwell S. D., Kennedy B. K., Fields S. 2006. Extension of chronological life span in yeast by decreased TOR pathway signaling. *Genes Develop.* 20 : 174—184.
- Pray-Grant M. G., Schieltz D., McMahon S. J., Wood J. M., Kennedy E. L., Cook R. G., Workman J. L., Yates J. R., 3rd, Grant P. A. 2002. The novel SLIK histone acetyltransferase complex functions in the yeast retrograde response pathway. *Mol. Cell. Biol.* 22 : 8774—8786.
- Prescott J., Blackburn E. H. 1997a. Functionally interacting telomerase RNAs in the yeast telomerase complex. *Genes Develop.* 11 : 2790—2800.
- Prescott J., Blackburn E. H. 1997b. Telomerase RNA mutations in *Saccharomyces cerevisiae* alter telomerase action and reveal nonprocessivity *in vivo* and *in vitro*. *Genes Develop.* 11 : 528—540.
- Rajalingam K., Rudel T. 2005. Ras-Raf signaling needs prohibitin. *Cell Cycle.* 4 : 1503—1505.
- Reichenbach P., Hoss M., Azzalin C. M., Nabholz M., NBucher P., Lingner J. 2003. A human homology of yeast Est1 associates with telomerase and uncaps chromosome ends when overexpressed. *Curr. Biol.* 13 : 568—574.
- Richter C., Gogvadze V., Laffranchi R., Schlapbach R., Schweizer M., Suter M., Walter P., Yaffe M. 1995. Oxidants in mitochondria: from physiology to diseases. *Biochim. biophys. acta.* 1271 : 67—74.
- Ridgley E. I., Xiong Z. H., Ruben L. 1999. Reactive oxygen species activate a Ca²⁺-dependent cell death pathway in the unicellular organism *Trypanosoma brucei brucei*. *Biochem. J.* 340 : 33—40.
- Roberts R. L., Mosch H. U., Fink G. R. 1997. 14-3-3 proteins are essential for RAS/MAPK cascade signaling during pseudohypohal development in *S. cerevisiae*. *Cell.* 89 : 1055—1065.
- Rosenkrantz M., Kell C. S., Pennell E. A., Webster M., Devenish L. J. 1994. Distinct upstream activation regions for glucose-repressed and derepressed expression of the yeast citrate synthase gene *CIT1*. *Curr. Genet.* 25 : 185—195.
- Ruis H., Schuller C. 1995. Stress signaling in yeast. *Bioessays.* 17 : 959—965.
- Rundlett S. E., Carmen A. A., Kobayashi R., Bavykin S., Turner B. M., Grunstein M. 1996. HDA1 and RPD3 are members of distinct yeast histone deacetylase complexes that regulate silencing and transcription. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 93 : 14 503—14 508.
- Santhanam A., Hartley A., Duvel K., Broach J. R., Garrett S. 2004. PP2A phosphatase activity is required for stress and Tor kinase regulation of yeast stress response factor Msn2p. *Eukaryot. Cell.* 3 : 1261—1271.
- Sato T., Sakamoto T., Takita K., Saito H., Okui K., Nakamura Y. 1993. The human prohibitin (PHB) gene family and its somatic mutations in human tumors. *Genomics.* 17 : 762—764.
- Schmitt A. P., McEntee K. 1996. Msn2p, a zinc finger DNA-binding protein, is the transcriptional activator of the multistress response in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 93 : 5777—5782.
- Sekito T., Thornton J., Butow R. A. 2000. Mitochondria-to-nuclear signaling is regulated by the subcellular localization of the transcription factors Rtg1p and Rtg3p. *Mol. Biol. Cell.* 11 : 2103—2115.

- Sen N., Das B. B., Ganguly A., Mukherjee T., Bandyopadhyay S., Majumder H. K. 2004. Camptothecin-induced imbalance in intracellular cation homeostasis regulates programmed cell death in unicellular hemoflagellate *Leishmania donovani*. *J. Biol. Chem.* 279 : 52 366—52 375.
- Serrano M., Lin A. W., McCurrach M. E., Beach D., Lowe S. W. 1997. Oncogenic Ras provokes premature cell senescence associated with accumulation of p53 and p16INK3a. *Cell.* 88 : 593—602.
- Shama S., Kirchman P. A., Jiang J. C., Jazwinski S. M. 1998a. Role of RAS2 in recovery from chronic stress: effect on yeast life span. *Exp. Cell Res.* 245 : 368—378.
- Shama S., Lai C. Y., Antoniazzi J. M., Jiang J. C., Jazwinski S. M. 1998b. Heat stress-induced life span extension in yeast. *Exp. Cell Res.* 245 : 379—388.
- Shore D. 1998. Telomeres — unsticky ends. *Science.* 281 : 1818—1819.
- Sinclair D. A. 2005. Toward a unified theory of caloric restriction and longevity regulation. *Mech. Ageing Develop.* 126 : 987—1002.
- Sinclair D. A., Guarente L. 1997. Extrachromosomal rDNA circles — a cause of aging in yeast. *Cell.* 91 : 1033—1042.
- Sinclair D. A., Guarente L. 2006. Unlocking the secrets of longevity genes. *Sci. Amer.* 294 : 48—51.
- Singer M. S., Gottschling D. E. 1994. TLC1: template RNA component of *Saccharomyces cerevisiae* telomerase. *Science.* 266 : 404—409.
- Singh S. M., Steinberg-Neifach O., Mian I. S., Lue N. F. 2002. Analysis of telomerase in *Candida albicans*: potential role in telomere end protection. *Eukaryot. Cell.* 1 : 967—977.
- Smith A., Ward M. P., Garrett S. 1998. Yeast PKA represses Msn2p/Msn4p-dependent gene expression to regulate growth, stress response and glycogen accumulation. *EMBO J.* 17 : 3556—3564.
- Steglich G., Neupert W., Langer T. 1999. Prohibitins regulate membrane protein degradation by the m-AAA protease in mitochondria. *Mol. Cell. Biol.* 19 : 3435—3442.
- Strahl C., Blackburn E. H. 1996. Effects of reverse transcriptase inhibitors on telomere length and telomerase activity in two immortalized human cell lines. *Mol. Cell. Biol.* 16 : 53—65.
- Sun J., Kale S. P., Childress A. M., Pinswasdi C., Jazwinski S. M. 1994. Divergent roles of RAS1 and RAS2 in yeast longevity. *J. Biol. Chem.* 269 : 18 638—18 645.
- Taggart A. K., Teng S. C., Zakian V. A. 2002. Est1p as a cell cycle-regulated activator of telomere-bound telomerase. *Science.* 297 : 1023—1026.
- Taggart A. K., Zakian V. A. 2003. Telomerase: what are the Est proteins doing? *Curr. Opin. Cell Biol.* 15 : 275—280.
- Tan K. S., Howe J., Yap E. H., Singh M. 2001. Do *Blastocystis hominis* colony forms undergo programmed cell death? *Parasitol. Res.* 87 : 362—367.
- Tatar M. 2007. Diet restriction in *Drosophila melanogaster*. Design and analysis. *Interdiscip. Top. Gerontol.* 35 : 115—136.
- Tatsuta T., Model K., Langer T. 2005. Formation of membrane-bound ring complexes by prohibitins in mitochondria. *Mol. Biol. Cell.* 16 : 248—259.
- Teixeira M. T., Arneric M., Sperisen P., Lingner J. 2004. Telomere length homeostasis is achieved via a switch between telomerase-extendible and -nonextendible states. *Cell.* 117 : 323—335.
- Thevelein J. M., de Winde J. H. 1999. Novel sensing mechanisms and targets for the cAMP-protein kinase A pathway in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Microbiol.* 33 : 904—918.
- Toda T., Cameron S., Sass P., Wigler M. 1988. SCH9, a gene of *Saccharomyces cerevisiae* that encodes a protein distinct from, but functionally and structurally related to, cAMP-dependent protein kinase catalytic subunits. *Genes Develop.* 2 : 517—527.
- Toda T., Uno I., Ishikawa T., Powers S., Kataoka T., Broek D., Cameron S., Broach J., Matsumoto K., Wigler M. 1985. In yeast, RAS proteins are controlling elements of adenylate cyclase. *Cell.* 40 : 27—36.
- Tresini M., Mawal-Dewan M., Cristofalo V. J., Sell C. 1998. A phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor induces a senescent-like growth arrest in human diploid fibroblast. *Cancer Res.* 58 : 1—4.
- Urbano A., McCaffrey R., Foss F. 1998. Isolation and characterization of NUC70, a cytoplasmic, hematopoietic apoptotic endonuclease. *J. Biol. Chem.* 273 : 34 820—34 827.
- Van der Horst A., Tertoolen L. G., de Vries-Smits L. M., Frye R. A., Medema R. H., Burgering B. M. 2004. FOXO4 is acetylated upon peroxide stress and deacetylated by the longevity protein hSir2(SIRT1). *J. Biol. Chem.* 279 : 28 873—28 879.
- Vaziri H., Dessain S. K., Ng Eaton E., Imai S. I., Frye R. A., Pandita T. K., Guarente L., Weinberg R. A. 2001. hSIR2(SIRT1) functions as an NAD-dependent p53 deacetylase. *Cell.* 107 : 149—159.
- Vergnes B., Sereno D., Madjidian-Sereno N., Lemesre J. L., Ouaiissi A. 2002. Cytoplasmic SIR2 homologue overexpression promotes survival of *Leishmania* parasites by preventing programmed cell death. *Gene.* 296 : 139—150.
- Vincent-Hubert F. 2000. cDNA cloning and expression of two *Ki-ras* genes in the flounder, *Platichthys flesus*, and analysis of hepatic neoplasms. *Comp. Biochem. Physiol. Biochem. Mol. Biol.* 126 : 17—27.
- Vincent R. D., Hofmann T. J., Zassenhaus H. P. 1988. Sequence and expression of *NUC1*, the gene encoding the mitochondrial nuclease in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nucl. Acids Res.* 16 : 3297—3312.
- Wang J., Xie L. Y., Allan S., Beach D., Hannon G. J. 1998. *Myc* activates telomerase. *Genes Develop.* 12 : 1769—1774.
- Wang S., Nath N., Fusaro G., Chellappan S. 1999. Rb and prohibitin target distinct regions of E2F1 for repression and respond to different upstream signals. *Mol. Cell. Biol.* 19 : 7447—7460.
- Watson J. D. 1982. Regulation of gene activity: introductory remarks. *Nat. Cancer Inst. Monogr.* 60 : 71—72.
- Weindruch R., Kayo T., Lee C. K., Prolla T. A. 2002. Effects of caloric restriction on gene expression. *Nestle Nutr. Workshop. Ser. Clin. Perform Programme.* 6 : 17—28.
- Williams J. G. 2006. Transcriptional regulation of *Dictyostelium* pattern formation. *EMBO Rep.* 7 : 694—698.
- Wright W. E., Shay J. W. 1992. Telomere positional effects and the regulation of cellular senescence. *Trends Genet.* 8 : 193—197.
- Zakian V. A. 1989. Structure and function of telomeres. *Annu. Rev. Genet.* 23 : 579—604.
- Zamzami N., Kroemer G. 2003. Apoptosis: mitochondrial membrane permeabilization — the whole story? *Curr. Biol.* 13 : R71—R73.
- Zanger H., Mottram J. C., Fasel N. 2002. Cell death in *Leishmania* induced by stress and differentiation: programmed cell death or necrosis? *Cell Death Differ.* 9 : 1126—1139.
- Zoratti M., Szabo I. 1995. The mitochondrial permeability transition. *Biochem. biophys. acta.* 1241 : 139—176.

REGULATION OF THE LIFE SPAN IN UNICELLULAR EUKARYOTES

I. V. Shemarova

I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry RAS, St. Petersburg;
e-mail: shem@iephb.ru

The review considers the mechanisms of nucleic and mitochondrial control of the life span of unicellular eukaryotes. Special attention is given to analysis of the mechanisms of functioning of telomerase complex, the mechanisms of varied expression of the genes regulating the cell cycle, and the mitochondrial retrograde pathway.

Key words: unicellular eukaryotes, intracellular signalling, life span, Sir2, cell stress, ROS, ageing, apoptosis.
