

文章编号 :1004-0374(2011)01-0026-06

泛素 /26S 蛋白酶体系统介导的细胞程序化死亡

王国坤, 田风霞, 宫江峰, 王 玮*

(山东农业大学生命科学学院, 作物生物学国家重点实验室, 泰安 271018)

摘 要: 在一定的生理或者病理条件下, 细胞为了自身发育或者抵御不良刺激, 会采取细胞程序化死亡(programmed cell death, PCD)的方式结束生命。泛素 /26S 蛋白酶体系统(ubiquitin-26S proteasome system, UPS)作为生物体中重要的翻译后蛋白质调节系统, 对 PCD 起着关键的调节作用。该文介绍 UPS 通过两条细胞凋亡信号转导通路以及天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶来调控 PCD 的研究进展。

关键词: 细胞程序化死亡; 泛素 /26S 蛋白酶体系统; 天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶; 凋亡抑制因子
中图分类号: Q814; Q255; R730 **文献标识码:** A

Programmed cell death mediated by ubiquitin-26S proteasome system

WANG Guo-Kun, TIAN Feng-Xia, GONG Jiang-Feng, WANG Wei*

(State Key Laboratory of Crop Science, College of Life Sciences, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China)

Abstract: Programmed cell death (PCD) is an active process, by which cells choose to die for development or in response to environment. Ubiquitin-26S proteasome system (UPS) as a post-translational regulatory system, plays a prominent role in regulation of initiation and progress of PCD. Here we summarize the major findings on the function of UPS in PCD regulation by two signal approaches and caspases.

Key words: programmed cell death; ubiquitin-26S proteasome system; caspase; inhibitor of apoptosis

细胞程序性死亡(programmed cell death, PCD)是存在于真核生物中, 对受到破坏或不需要的细胞进行选择性去除的机制。它是一种由基因编码的主动、有序的细胞死亡进程, 在多细胞生物的生长发育及环境响应等过程中起着重要作用^[1,2]。PCD可以由生物胁迫因子(如病原体)及非生物胁迫因素(如温度、UV、盐分等)诱导发生^[3-5]。

泛素/26S蛋白酶体系统(ubiquitin-26S proteasome system, UPS)是细胞内重要的蛋白质降解系统^[6]。该系统在泛素活化酶(ubiquitin-activating enzyme, E1)、泛素结合酶(ubiquitin-conjugating enzyme, E2)和泛素连接酶(ubiquitin ligase, E3)的共同作用下, 将 76 个氨基酸组成的标签蛋白泛素结合到底物蛋白上。标记后的蛋白被蛋白酶体降解(图 1)或者进行信号通路的调节。通过对底物蛋白进行不同形式的泛素化修饰, 可以调节多种细胞活动, 如信号转导、基因转录以及 PCD 等。

泛素途径中的E3连接酶是蛋白质泛素化过程中最复杂、最多样的一环。近十多年, E3 连接酶成为国内外的研究热点, 它是一个蛋白家族, 根据其结构可以分为 4 类: N-末端规则 E3(N-end rule E3)家族、HECT(homology to E6AP C-terminus)家族、环指 E3(RING finger)家族和环指相关 E3 家族^[7]。环指 E3 家族与 PCD 关系最为紧密^[8,9]。

越来越多的研究表明, UPS 在细胞凋亡调节中起到关键而复杂的作用。UPS 对 PCD 的调节表现在很多方面。细胞凋亡的途径主要有两条: 一条是通过膜受体途径激活细胞内的天冬氨酸特异性半胱氨

收稿日期: 2010-06-10; 修回日期: 2010-07-15

基金项目: 国家自然科学基金项目(30671259); 国家科技支撑计划项目(2006BAD01A02-15)

* 通讯作者: E-mail: wangw@sdau.edu.cn; Tel: 0538-8246166

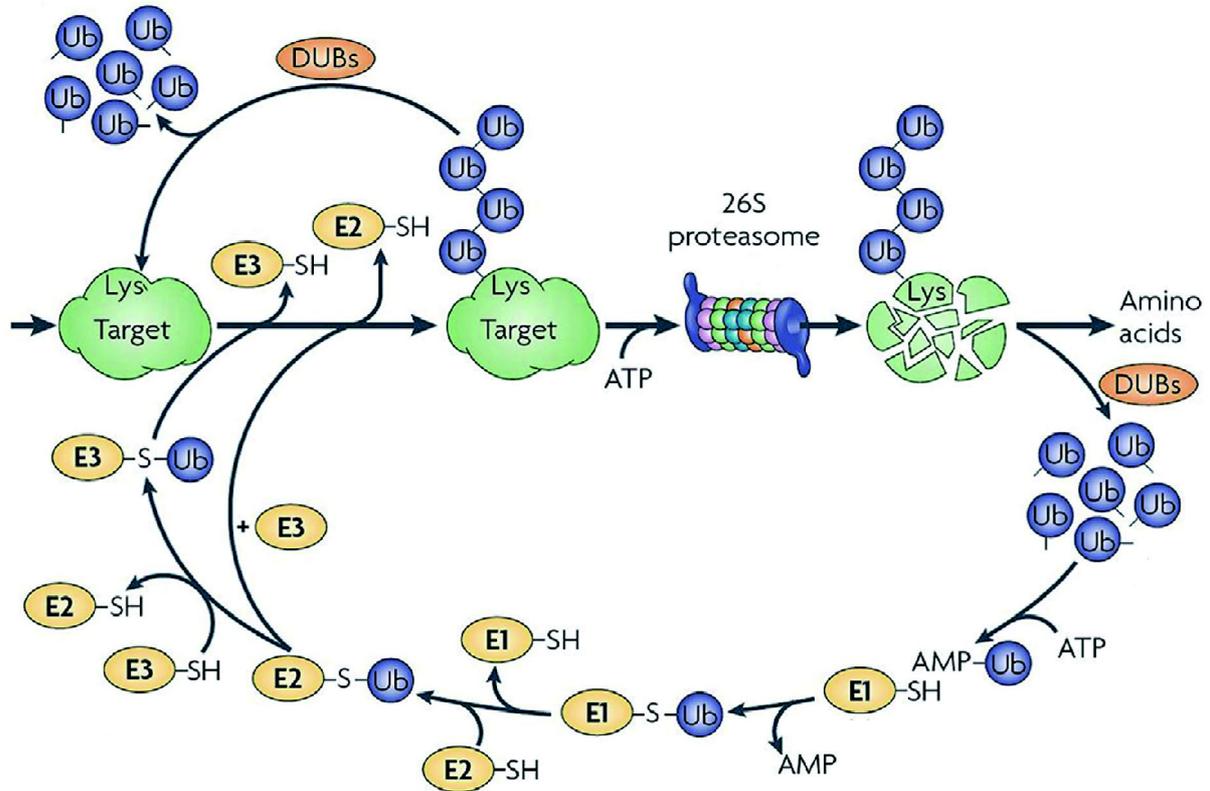


图1 泛素/26S蛋白酶体系统介导的48位赖氨酸连接的泛素链标记蛋白的降解^{[10]#}

注:首先, E1 利用 ATP 水解释放的能量活化 Ub; 然后, 通过转酰基作用将活化的 Ub 转移到 E2 上; 最后, 在 E3 协助下将 Ub 以 48 位赖氨酸连接的方式连接到靶蛋白上。连有多聚泛素链的蛋白质复合物一旦形成, 要么以依赖 ATP 的方式被 26S 蛋白酶体识别并降解, 要么在去泛素酶(DUBs)的作用下拆除复合物, 释放 Ub 和完整的靶蛋白。#: 稍作修改

酸蛋白酶(caspase); 另一条是通过线粒体途径释放凋亡酶激活因子, 激活 caspase。这些活化的 caspase 可将细胞内的重要蛋白质降解, 引起细胞凋亡。本文主要介绍 UPS 对两条细胞凋亡信号转导通路以及 caspase 的调控过程。

1 UPS对膜受体细胞凋亡途径的调节

膜受体途径是通过癌症坏死因子(TNF)受体家族的受体(如 CD95 等)与配体结合开始的(图 2)。这些配体包括 TNF 和其他细胞因子, 在 Fas 偶联死亡区域蛋白(fas-associated death domain protein, FADD)或 TNF 受体相关死亡结构域蛋白(TNF receptor type 1-associated cell death domain, TRADD)的协助下, 受体不断地在细胞质中收集 caspase-8 前体。后者通过高密度自催化方式激活自身, 活化的 caspase-8 将引发 caspase 级联反应。

受体相互作用蛋白(RIP1)是 TNF-R1 死亡信号途径中复合体 I 的组成部分。RIP1 受体受到 TNF 刺激后, 与 TNF、TNF 受体 1(TNF-receptor 1, TNFR1)、

TRADD、肿瘤坏死因子受体相关因子(tumor necrosis factor receptor-associated factor-1/2, TRAF-1/2)形成膜结合的复合体 I。该复合体可以通过 I κ B 复合体的募集, 激活 NF- κ B 信号途径, 并通过 TRAF-2 依赖的机制, 激活 c-Jun 氨基端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)(图 2)。正常情况下, NF- κ B 介导的对特定基因(如cellular FLICE-like inhibitory protein, c-FLIP)的诱导会抑制 caspase-8 活性, 并促进细胞存活^[11]。复合体 I 不含有 FADD 和 caspase-8 酶原, 但是它可以转移到胞质中, 与 FADD、FLIPL/S、caspase-8/10 酶原形成复合体 II^[12]。复合体 II 的 caspase-8 酶原被激活之后会激活下游死亡信号途径。

RIP1 是 UPS 对细胞凋亡调节的一个关键点。正常情况下, RIP1 作为一种促凋亡分子作用于 caspase-8。当 RIP1 被 cIAP(哺乳动物胞内 IAP)1、2 和 TRAF2 介导修饰后, 与以 63 位赖氨酸残基连接的泛素链结合, 然后作用于信号通路中的组分, 引起 I κ B 的活化, 最终达到促进细胞存活的目的^[14,15]。

如果 63 位赖氨酸残基连接的泛素链被去除,或者与以 48 位赖氨酸残基连接的泛素链连接并被降解,则细胞倾向于细胞凋亡的进行。

细胞中的类 FLICE 抑制蛋白 cFLIP 是 CD95、TRAILR1、TRAILR2 死亡信号途径中凋亡诱导复合体(DISCs)和 TNF-R1 死亡信号途径中复合体 II 的组成成分(图 2)。cFLIP 以两种不同的形式存在: cFLIP_S 和 cFLIP_L。cFLIP_S 只含有两个死亡效应结构域, cFLIP_L 是缺乏具有 caspase 蛋白酶活性的特定氨基酸的 caspase-8 同源物。cFLIP 在细胞凋亡信号途径中的作用尚无定论。从过量表达 cFLIP 的细胞和缺乏 cFLIP 的小鼠中得到的实验证据表明, cFLIP 具有抗凋亡的作用^[16]。cFLIP 可以被促成活 TNF α 信号通路中的 NF- κ B 诱导, 并可以阻断 caspase-8 的激活, 从而达到切断肿瘤细胞中 TNF α 和 CD95 介导的信号传递的效果。但是, TNF α 介导的 JNK 的激活也会促进 cFLIP 的泛素化并使其降解^[8]。cFLIP 同样可以调节其他信号途径组分的泛素化^[17]。

2 UPS对细胞凋亡线粒体途径的调节

细胞应激反应或凋亡信号, 如 DNA 损伤、极度氧胁迫等, 能引起线粒体细胞色素 c 释放。作为细胞凋亡诱导因子, 细胞色素 c 能与 Apaf-1(凋亡蛋白酶活化因子-1)、caspase-9 前体以及 ATP/dATP 形成凋亡体(apoptosome), 然后召集并激活 caspase-3, 进而引发 caspases 级联反应, 导致细胞凋亡(图 2); 而 p53 和 Bcl-2(B 细胞淋巴瘤/白血病-2)蛋白家族成员在对线粒体途径的感知与控制上有关键的调节作用。

p53 基因是一种肿瘤抑制基因。该基因编码一种相对分子质量为 53 k 的磷酸化蛋白质 p53。p53 的失活对肿瘤形成起重要作用。p53 主要集中于核仁区, 能与 DNA 特异结合, 其活性亦受磷酸化调控。p53 在细胞周期 S 期磷酸化, 其抑制细胞分裂的活性消失。正常的 p53 在 G₁ 期检查 DNA 损伤点, 如有损伤, p53 会阻止复制的进行, 提供足够的时间

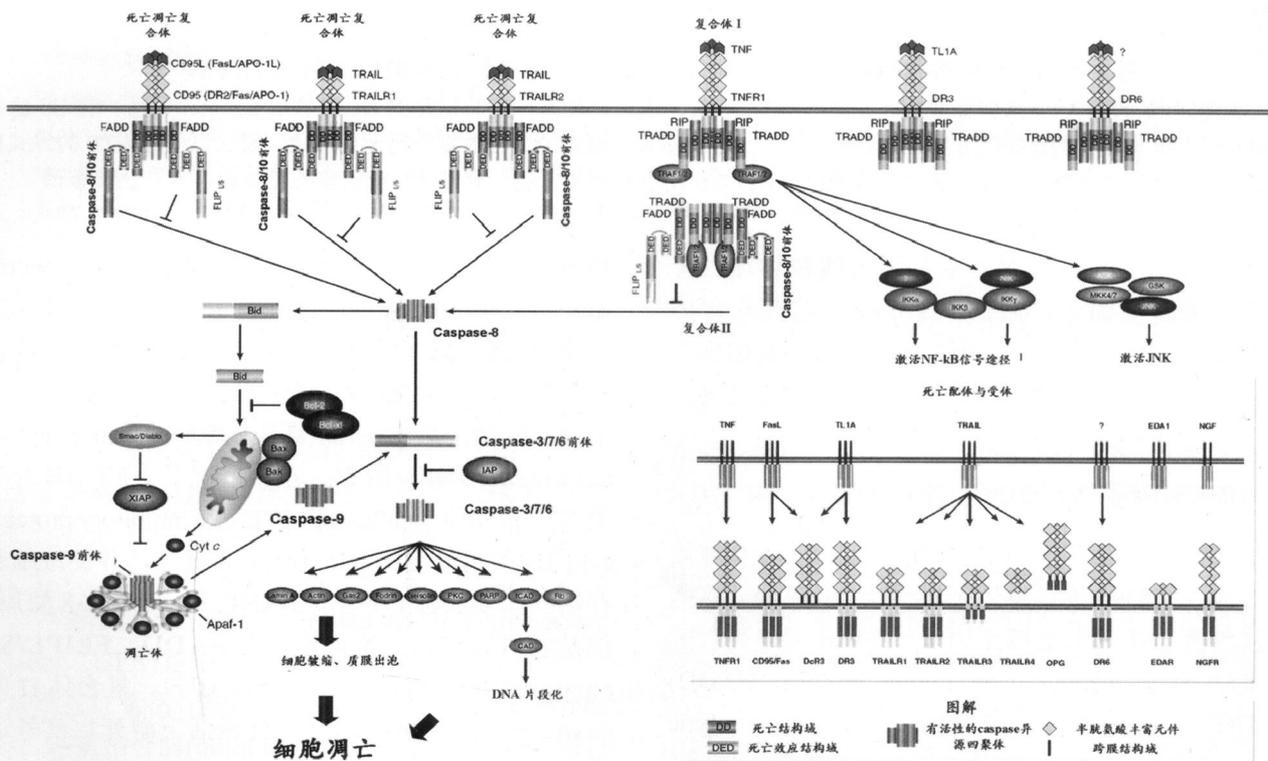


图 2 死亡信号转导途径 [13]

注: CD95L、TRAIL、TNF 等死亡配体与相应受体作用, 形成凋亡诱导复合体或者复合体 II, 活化 caspase-8, 直接或通过诱导 cyt c 等因子由线粒体外泄形成凋亡体而激活 caspase 级联反应, 最终引起细胞凋亡的发生。TNF 还可以与 TNFR1、RIP、TRADD、TRAF-1/2 形成复合体 I, 激活 NF- κ B 信号途径和 JNK(c-Jun 氨基端激酶)。这一过程中, cFLIP、XIAPs 以及 Bcl-2 家族的促成活的成员对细胞凋亡起抑制作用

修复损伤的DNA;如果修复失败,p53则引发细胞程序性死亡以阻止基因损伤,可能诱发癌变的细胞产生^[18]。在正常细胞中,p53始终处于合成和降解的平衡状态,并维持在较低的数量水平。这种平衡状态的维持主要是通过一种特殊的E3酶(Mdm2)调控。其他一些E3连接酶,如ARF-BP等,也参与p53的调节。Mdm2自身作为一种E3连接酶,促进p53的泛素化降解^[19];另一方面还可以募集转录抑制因子与p53的转录激活区结合,从而抑制其转录^[20]。

Bcl-2蛋白家族对于线粒体途径的调节和线粒体的完整性都具有十分重要的影响。这个家族中的有些成员促进细胞凋亡,如Bax、Bim、Bid;有些成员阻止细胞凋亡,如Bcl-2、Mcl-1。Bcl-2蛋白家族的促成活成员的特点是含有Bcl-2同源结构域,可以保护线粒体免受损害引起的膜透性增加,如cyt c等因子外漏引起的损害。Bcl-2等促成活因子通过与杀手蛋白Bax和Bak的直接结合使其失效,从而达到避免线粒体损伤和细胞凋亡的目的。促成活的Bcl-2和促凋亡的BH3-only蛋白的活性和整体水平在转录和翻译后水平都受到严格控制。正常细胞中,Bcl-2水平较高,而游离的BH3-only蛋白要么不存在,要么在结构上被限制。但是,当细胞受到胁迫后,这种平衡就会被打破,BH3-only蛋白被迅速诱导,而不同的胁迫激活不同种类的BH3-only蛋白产生。

在^{-/-}破骨细胞中发现了Bim依赖泛素化调节的重要性。**bim**^{-/-}破骨细胞是只含有非泛素化的Bim的突变体。在胁迫条件下,野生型可以抵抗损害并存活,而突变体则死亡^[21]。在破骨细胞中,含有RING结构的蛋白c-CHL可能是一种Bim的E3连接酶^[21]。但之后的研究显示,在c-CHL^{-/-}的内皮和上皮细胞中,Bim的降解正常进行^[22]。这虽然可能是因为细胞类型不同造成的差异,但是c-CHL是不是Bim的E3连接酶还需要进一步的证据证明。

很多胁迫条件下,细胞存活也受Mcl-1水平的影响。不同于其他Bcl-2家族促成活因子成员,Mcl-1有一个PEST序列(由Pro-Glu-Ser-Thr氨基酸序列组成的多肽),它可以引起蛋白质的半衰期变短。Mcl-1的总体表达水平受到复杂的转录和转录后调控,也可以由多种细胞因子和生长因子修饰。高丰度的Mcl-1表达与细胞存活的增强以及对药物的抗性升高有关^[23]。PEST区域的磷酸化可以影响Mcl-1的稳定性,糖原合成酶激酶3(GSK3)活化引起的Mcl-1的

159位丝氨酸磷酸化会使其成为蛋白酶体降解的对象。据报道,HECT和ARF-BP1在Mcl-1的泛素化过程中行使泛素E3连接酶的功能^[24]。有意思的是,这种E3也可以标记p53,然后由蛋白酶体降解^[25]。

3 UPS对caspase的调节

细胞凋亡程序以caspase的活化达到顶点。caspase是一个高特异性半胱氨酸蛋白酶家族,它是细胞的破坏过程中必需的^[26]。caspase在通常情况下以酶原的形式表达,通过级联反应进行活化。一旦被活化,起始caspase就会被切割,进而激活下游的效应caspase,从而放大消化蛋白的活性。

在对caspase进行泛素化调控的过程中,细胞凋亡抑制因子(IAPs)扮演着非常重要的角色(图3)。IAPs是一种对细胞凋亡具有双重调节作用的因子,它是通过调节caspase活性而实现的。IAP超家族的成员较多,如c-IAP1、c-IAP2、XIAP、NIAP和Survivin等。调控凋亡的IAPs有1~3个N端BIR结构域和RING结构域,后者有E3连接酶活性^[27]。BIR结构域可以介导蛋白质之间的互作,它通常与IAP拮抗剂和caspase的IAP结合元件结合。虽然IAP家族的所有成员都含有BIR结构域,但是只有部分IAP的BIR结构域可以调控caspase和细胞凋亡过程^[28]。

哺乳动物中的XIAP(X-linked IAP)是研究最深入的IAP,它可以在严格的生化实验中行使caspase抑制剂的功能^[20],而其他一些IAPs,如DIAP(果蝇IAP)1、DIAP2、cIAP1、cIAP2等,在体外实验中都不能对caspase表现出很好的抑制作用。在体外实验中,XIAP介导的caspase-3、-7、-9的失活都不需要具有功能的RING结构域^[26]。XIAP第二个BIR结构域上有的残基可以与caspase-3、-7的活性位点结合,并阻碍底物的进入^[29-31];而XIAP介导的caspase-9的失活则是以另一种方式实现的,它将caspase-9保持在单体非活性的状态^[32]。尽管在体外实验和XIAP超表达的情况下,XIAP对caspase的抑制作用并不需要RING结构,但是这种情况在体内正常的生理条件下可能不太相同。Schile等^[33]发现,内源XIAP在表现抗凋亡的能力上需要功能型的RING结构。

通过多聚泛素化来抑制caspase的机制还不清楚,可能有降解和非降解两种失活机制。但毫无疑问,DIAP1介导的Dronc(果蝇起始caspase)的酶原形式的泛素化,在对Dronc的调节中很重要^[34,35]。尽管很多研究发现,DIAP1很容易泛素化Dronc,

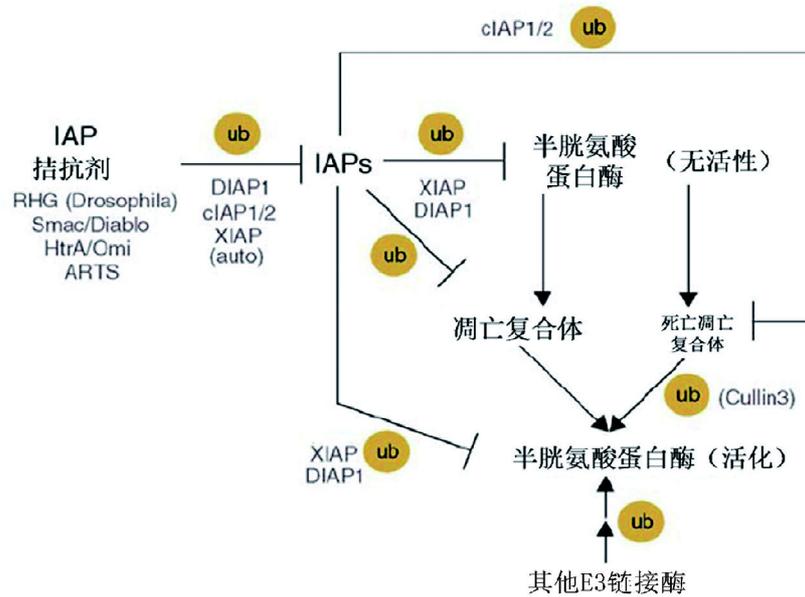


图3 泛素在 IAP 介导的细胞凋亡中的调节作用^{[9] #}

注：在活细胞中，IAP 介导的泛素化抑制不需要 caspase 活性。IAP 依赖的 caspase 的泛素化会通过蛋白酶体降解和非降解途径抑制细胞凋亡，这种方式也可以去除如凋亡小体亚基等 caspase 激活子。细胞凋亡一经诱导，IAP 的 RING 结构会促进 IAP 蛋白与泛素结合并由 UPS 介导降解，从而使细胞凋亡得以进行。通过介导 caspase 的自身剪切，非降解的泛素化也可以直接激活 caspase。除了 IAPs，如基于 Cullin 蛋白的 E3 等其他 E3 连接酶也可以调节 caspase 的激活；#：稍作修改

但并未发现其被蛋白酶体降解。有研究显示，DIAP1 的突变体中 Dronc 的水平很高^[34]，在悬浮细胞中抑制 Dronc 的积累需要 DIAP1^[35]。一项体内研究阐述了 Dronc 的命运，即 Dronc 只有在作为死亡诱导的凋亡小体的一部分时才会被标记，然后通过蛋白酶体降解^[36]。有意思的是，Dronc 介导的凋亡小体对 d-Apaf-1(凋亡蛋白酶活化因子)的剪切，对于它们的蛋白酶降解是必需的。与此相反，游离的 Dronc 和没有加工的 d-Apaf-1(Dark/HAC-1)都是很稳定的。很明显，当 Dronc 与非降解形式的泛素链连接，而这种 Dronc 并不与凋亡小体连接时，d-Apaf-1 的剪切是如何促使 DIAP1 将 48 位赖氨酸连接的泛素链结合到 Dronc 上的，对这个问题的解释需要更多的工作。

4 结语与展望

近年来的研究显示，UPS 介导的泛素化在细胞凋亡的起始、发生过程中都具有十分重要的调节作用，但一些具体机制还存在争议，这将是以后继续研究的热点问题。UPS 介导的泛素化对细胞凋亡的调控也为人类认识肿瘤发生提供了一个方向，并为肿瘤治疗技术的发展提供了新思路。另外，以往的

研究绝大部分集中在对果蝇、人类等动物方面，在植物中的研究还非常少；但通过基因沉默的方法抑制蛋白酶体的功能，也会引起烟草细胞 PCD 的发生^[37]；转 ubR48(泛素变体，翻译而成的多肽链第 48 位赖氨酸被精氨酸替换)拟南芥的泛素/26S 蛋白酶体系统会受到抑制，从而诱导细胞死亡^[38]。植物中的 UPS 途径采取何种方式调节 PCD，以及 UPS 各组分在该调节过程中的作用，都将是今后需要阐明的问题。

[参 考 文 献]

- [1] Gechev TS, Van BF, Stone JM, et al. Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death. *Bioessays*, 2006, 28: 1091-101
- [2] Lam E. Controlled cell death, plant survival and development. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2004, 5: 305-15
- [3] Greenberg JT, Yao N. The role of regulation of programmed cell death in plant-pathogen interactions. *Cell Microbiol*, 2004, 6: 201-11
- [4] Koukalova B, Kovarik A, Fajkus J, et al. Chromatin fragmentation associated with apoptotic changes in tobacco cells exposed to cold stress. *FEBS Lett*, 1997, 414: 289-92
- [5] Huh GH, Damsz B, Matsumoto TK, et al. Salt causes ion disequilibrium-induced programmed cell death in yeast and plants. *Plant J*, 2002, 29: 649-59

- [6] Smalle J, Vierstra RD. The ubiquitin 26S proteasome proteolytic pathway. *Annu Rev Plant Biol*, 2004, 55: 555-90
- [7] 程翌. 泛素连接酶E3和肿瘤关系的研究进展. *实用医学杂志*, 2009, 25 (8): 1341-2
- [8] Chang L, Kamata H, Solinas G, et al. The E3 ubiquitin ligase itch couples JNK activation to TNF α -induced cell death by inducing c-FLIP_L turnover. *Cell*, 2006, 124: 601-13
- [9] Bader M. Regulation of cell death by the ubiquitin-proteasome system. *Curr Opin Cell Biol*, 2009, 21: 878-84
- [10] Vierstra RD. The ubiquitin-26S proteasome system at the nexus of plant biology. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10 (6): 385-97
- [11] Yu JW, Shi Y. FLIP and the death effector domain family. *Oncogene*, 2008, 27: 6216-27
- [12] Micheau O, Tschopp J. Induction of TNF receptor I-mediated apoptosis via two sequential signaling complexes. *Cell*, 2003, 114: 181-90
- [13] Lavrik I, Golks A, Peter H, et al. Death receptor signaling. *J Cell Sci*, 2005, 118: 265-7
- [14] Varfolomeev E, Goncharov T, Fedorova AV, et al. c-IAP1 and c-IAP2 are critical mediators of tumor necrosis factor α (TNF α)-induced NF- κ B activation. *J Biol Chem*, 2008, 283 (36): 24295-9
- [15] Yang QH, Du C. Smac/DIABLO selectively reduces the levels of c-IAP1 and c-IAP2 but not that of XIAP and livin in HeLa cells. *J Biol Chem*, 2004, 279: 16963-70
- [16] Imler M, Thome M, Hahne M, et al. Inhibition of death receptor signals by cellular FLIP. *Nature*, 1997, 388: 190-5
- [17] Ishioka T, Katayama R, Kikuchi R, et al. Impairment of the ubiquitin-proteasome system by cellular FLIP. *Genes Cells*, 2007, 12: 735-44
- [18] 王金发. 细胞生物学[M]. 北京: 科学出版社, 2003: 622-5
- [19] Haupt Y, Maya R, Kazaz A, et al. Mdm2 promotes the rapid degradation of p53. *Nature*, 1997, 387 (6630): 296-9
- [20] Mirnezami AH, Campbell SJ, Darley M, et al. Hdm2 recruits a hypoxia-sensitive corepressor to negatively regulate p53-dependent transcription. *Curr Biol*, 2003, 13(14): 1234-9
- [21] Akiyama T, Bouillet P, Miyazaki T, et al. Regulation of osteoclast apoptosis by ubiquitylation of proapoptotic BH3-only Bcl-2 family member Bim. *EMBO J*, 2003, 22: 6653-64
- [22] Wiggins CM, Band H, Cook SJ. c-Cbl is not required for ERK1/2-dependent degradation of Bim_{FL}. *Cell Signal*, 2007, 19: 2605-11
- [23] Le GS, Podar K, Harousseau JL, et al. Mcl-1 regulation and its role in multiple myeloma. *Cell Cycle*, 2004, 3: 1259-62
- [24] Zhong Q, Gao W, Du F, et al. Mule/ARF-BP1, a BH3-only E3 ubiquitin ligase, catalyzes the polyubiquitination of Mcl-1 and regulates apoptosis. *Cell*, 2005, 121: 1085-95
- [25] Chen D, Kon N, Li M, et al. ARF-BP1/Mule is a critical mediator of the ARF tumor suppressor. *Cell*, 2005, 121: 1071-83
- [26] Shi Y. Mechanisms of caspase activation and inhibition during apoptosis. *Mol Cell*, 2002, 9: 459-70
- [27] Vaux DL, Silke J. IAPs, RINGs and ubiquitylation. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, 6: 287-97
- [28] Silke J, Vaux DL. Two kinds of BIR-containing protein-inhibitors of apoptosis, or required for mitosis. *J Cell Sci*, 2001, 114: 1821-7
- [29] Silke J, Ekert PG, Day CL, et al. Direct inhibition of caspase-3 is dispensable for the anti-apoptotic activity of XIAP. *EMBO J*, 2001, 20: 3114-23
- [30] Chai J, Shiozaki E, Srinivasula SM, et al. Structural basis of caspase-7 inhibition by XIAP. *Cell*, 2001, 104: 769-78
- [31] Huang Y, Park YC, Rich RL, et al. Structural basis of caspase inhibition by XIAP: differential roles of the linker versus the BIR domain. *Cell*, 2001, 104: 781-90
- [32] Shiozaki EN, Chai J, Rigotti DJ, et al. Mechanism of XIAP-mediated inhibition of caspase-9. *Mol Cell*, 2003, 11 (2): 519-27
- [33] Schile AJ, Garcí a-Fernández M, Steller H. Regulation of apoptosis by XIAP ubiquitinligase activity. *Genes Dev*, 2008, 22: 2256-66
- [34] Ryoo HD, Gorenc T, Steller H. Apoptotic cells can induce compensatory cell proliferation through the JNK and the Wingless signaling pathways. *Dev Cell*, 2004, 7: 491-501
- [35] Wilson R, Goyal L, Ditzel M, et al. The DIAP1 RING finger mediates ubiquitination of Dronc and is indispensable for regulating apoptosis. *Nat Cell Biol*, 2002, 4: 445-50
- [36] Shapiro PJ, Hsu HH, Jung H, et al. Regulation of the *Drosophila* apoptosome through feedback inhibition. *Nat Cell Biol*, 2008, 10: 1440-6
- [37] Kim M, Ahn JW, Jin U, et al. Activation of the programmed cell death pathway by inhibition of proteasome function in plants. *J Biol Chem*, 2003, 278: 19406-15
- [38] Schölgehofer P, Garzón M, Kerzendorfer C, et al. Expression of the ubiquitin variant ubR48 decreases proteolytic activity in *Arabidopsis* and induces cell death. *Planta*, 2006, 223: 684-97