

细胞凋亡中的 Bcl-2 家族蛋白 及其 BH3 结构域的功能研究 *

柳向军^{1,2)} 张令强^{1)**} 刘小林²⁾ 贺福初^{1)**}

¹⁾军事医学科学院放射与辐射医学研究所, 北京 100850;

²⁾西北农林科技大学动物科技学院, 杨凌 712100)

摘要 凋亡相关蛋白中的 Bcl-2 家族是细胞凋亡的关键调节分子, 由抗凋亡和促凋亡成员组成, 这些成员之间通过相互协同作用调节了线粒体结构与功能的稳定性, 从而在线粒体水平发挥着细胞凋亡的“开关”作用. 抗凋亡成员大都分布于线粒体的外膜, 与促凋亡成员的 BH3 结构域相互作用对细胞凋亡发挥抵抗作用. 促凋亡成员则主要分布于细胞浆中, 细胞接受死亡信号刺激后, 促凋亡成员自身受到一系列的调节, 如典型的 Bax 构象改变、BAD 和 Bik 的磷酸化调节以及 Bid 和 Bim 的蛋白裂解效应等, 使得促凋亡成员在凋亡信号的刺激下整合于线粒体外膜, 最终导致线粒体通透转换孔的开放, 进而释放包括细胞色素 c、凋亡诱导因子、Smac 等重要的凋亡因子, 随后 caspase 被激活进而断裂重要的细胞内结构蛋白与功能分子, 执行细胞凋亡.

关键词 Bcl-2 家族, BH3 结构域; 细胞凋亡, 线粒体, 细胞色素 c

学科分类号 Q25

细胞凋亡是一种保守的细胞自杀性程序, 是多细胞个体移除有害细胞的机制. 凋亡对于细胞的发生和组织稳定性至关重要, 其非正常调节可以导致癌变及自身免疫力降低. 细胞凋亡信号通路包括死亡受体所介导的凋亡通路和线粒体凋亡通路, 两条通路最终都激活了 caspase, 而激活的 caspase 介导细胞死亡.

近年来的研究发现, 线粒体是细胞凋亡最主要的发起者和执行者^[1], 线粒体的功能变化如线粒体膜电位的降低、线粒体膜通透孔 (mitochondrial permeabilization transition pore, MPT) 的形成^[2]以及细胞色素 c 的释放^[3]成为细胞凋亡主要的特征.

线粒体凋亡通路中的 Bcl-2 家族成员发挥了重要的调节功能, 最初发现 Bcl-2 在去除白介素 3 的情况下具有抑制造血细胞死亡的效应^[4], 随后证明在各种应激条件包括药物处理和热休克等作用下均都具有抑制细胞死亡的效应^[5]. 随着对凋亡相关蛋白的发掘与功能研究, 发现 Bcl-2 家族蛋白由抗凋亡和促凋亡成员组成, 这些成员之间通过相互协同作用调节了线粒体结构与功能的稳定性, 并通过控制线粒体促凋亡因子 (mitochondrial apoptogenic

factors) 如细胞色素 c (cytochrome c) 和凋亡诱导因子 (apoptosis-inducing factor, AIF) 等的释放而决定细胞的生死. 在此过程中, Bcl-2 家族中仅含有 BH3 (BH3-only) 结构域的促凋亡蛋白发挥决定性的作用.

1 Bcl-2 家族蛋白分类

迄今为止, 已在线虫、病毒和哺乳动物中发现了 20 多个 Bcl-2 家族成员. Bcl-2 家族蛋白的一个显著特征是具有 Bcl-2 同源结构域 (Bcl-2 homology domain, BH). 其中一些蛋白质含有 BH1~BH4 结构域, 另一些则只含有一个或者几个这类结构域 (图 1). 正是这种结构域组成上的差异性, 赋予了 Bcl-2 家族成员不同的生物学功能.

典型的抗凋亡成员如 Bcl-2、Bcl-XL、Mcl-1、Bcl-W 等含有 4 个短的保守的 BH 结构域 (BH1~

*国家自然科学基金资助项目(30200043, 30321003), 国家高新技术研究发展计划(863)资助项目(2004AA221100, 2002BA71A02-5).

** 通讯联系人.

Tel: 010-66931246, Fax: 010-68177417, E-mail: hefc@nic.bmi.ac.cn

收稿日期: 2005-09-29, 接受日期: 2005-11-01

BH4) 和一个 C 端疏水尾状结构, 即跨膜 (TM) 结构域 (图 1), 这使得它们定位于线粒体的外膜, 偶尔也定位于内质网的表面, 其蛋白质的跨膜立体结

构则朝向细胞质^[6~8]. 这类成员具有抗凋亡活性, 可以使细胞免于死亡.

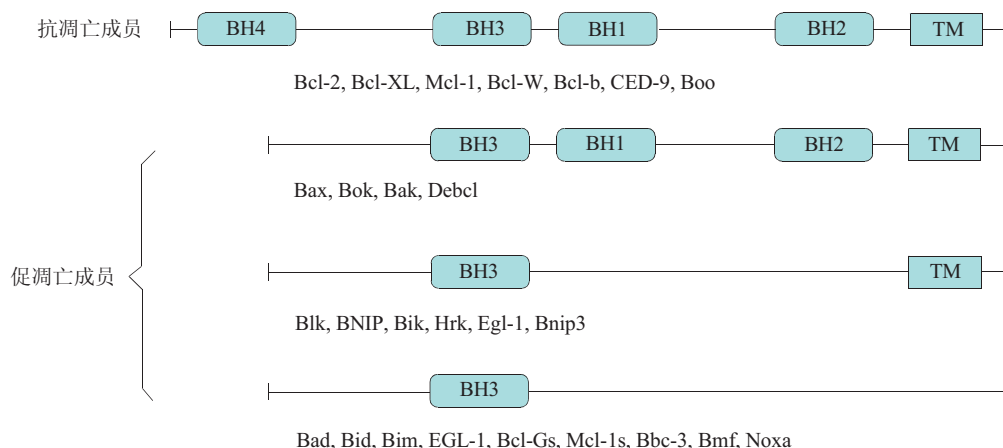


Fig. 1 Schematic drawing of Bcl-2 family proteins^[9]

图 1 Bcl-2 家族蛋白结构特征示意图^[9]

第二类成员则缺少 BH4 结构域, 它们均具有促凋亡活性. 其中含有多个结构域的主要包括 Bax 和 Bak 等, 它们在结构上与前一类成员相似, 含有除 N 端的 BH4 以外的所有结构域^[10]. 最惹人注目的是仅含有 BH3 结构域 (BH3-only) 的一类蛋白质, 其共同特征就是近 N 端含有一个由大约 12~16 个氨基酸残基组成的 BH3 结构域^[11] (图 2). BH3 结构域是死亡程序的关键性结构域, 有关它如何与促生存相关分子相互作用调控凋亡的详细机理成为近年来的研究热点^[12~14]. 虽然我们把这些成员都归为 Bcl-2 家族, 但各成员在共有的 BH3 结构域的氨基酸序列上并没有太多的相似性 (图 2), 一级结构存在较大的差异, 但高级结构和功能却基本相仿, 即作为

一个典型的 α 螺旋结构发挥促凋亡功能. 因此以上将它们统统归为 Bcl-2 家族, 仅是由于分类方便, 并不是如人们所想的那样提示着某种进化上的关系.

2 BH3 结构域

BH3 结构域存在于 Bcl-2 家族大多数成员的近 N 端 (图 1), 缺失实验及用人工合成的 BH3 结构域实验证明了 BH3 结构域确实是细胞凋亡的关键性结构域, 通常在此结构域氨基酸的修饰, 如磷酸化, 可以影响其促凋亡作用的发挥^[15].

三维结构研究表明, BH3 结构域通常是促凋亡蛋白与抗凋亡蛋白形成二聚体所必需的^[18], 并且

Bcl-2_89	VPPVHLLTRQAGDFFSRYYRRD
Bcl-XL_82	PMAAVKQALREAGDEFELRYRRA
Bcl-W_38	AADPLHQAMRAAGDEFETRFRRT
Mcl-1_205	TSRKALETLLRRYVDGVQRNHETA
Hrk_29	AAQLTAARLKALGDELHQRTMWR
Bfk_55	DVAIIAGRLRLMGDQFNGELEAS
Bid_82	IIRNIARHLAQVGDSDRSIPPG
Bik_53	GSDALALRLACTGDEMDVSLRAP
Bim_145	PEIWIAGELRRIGDEFNAYYARR
Bok_63	RLAEVCAVLLRLGDELEQIRPSV
Bcl-6_208	ILAKIVELLKYSQDLERKLKDD
BAD_106	AAQRYGRELRRMSDEFVDSFKKG
Bak_70	TMGQVGRQLAIIGDDINRRYDSE
Bax_55	STKKLSECLRRIGDELDNMLQ

Fig. 2 An alignment of the BH3 domains^[16]

图 2 不同蛋白质的 BH3 结构域序列比对^[16]

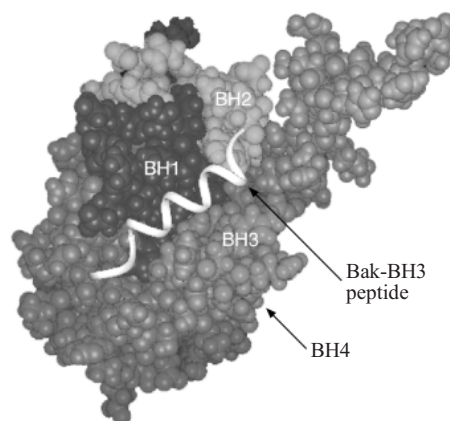


Fig. 3 Model of the Bcl-XL-Bak-BH3 peptide complex^[17]

图 3 Bak 通过其 BH3 结构域与 Bcl-XL 形成复合物的模式^[17]

一般是抗凋亡蛋白的 BH1、BH2、BH3 结构域形成一个伸长的疏水口袋, 而促凋亡蛋白的 BH3 结构域作为一个两性螺旋结构与其结合, 此过程最好的例证是 Bcl-XL 与 Bak 复合物的形成^[17](图 3), 在此过程中抗凋亡蛋白的 BH4 结构域可以稳定这种结合作用, 这种结合使得 BH3 结构域被覆盖, 从而不能发挥其有效的促凋亡活性。

3 Bcl-2 家族蛋白促凋亡机理研究

Bcl-2 家族成员的亚细胞定位与死亡信号直接相关. 抗凋亡蛋白成员最初是在线粒体、内质网或核膜中作为整合膜蛋白而被发现的. 有趣的是, 在死亡信号不存在时, 一些促凋亡蛋白大都定位于胞质或者细胞骨架, 伴随着死亡信号的刺激, 这些促凋亡成员发生了构象的改变, 并允许它们整合到膜上, 尤其是线粒体的外膜^[19]. 在此过程中, Bcl-2 家族成员促凋亡成员本身受到一系列的调节, 如 Bax 构象改变、BAD 和 Bik 的磷酸化调节以及 Bid 和 Bim 的蛋白质质裂解等, 最终导致线粒体结构与功能变化, 如线粒体膜电位的降低、线粒体通透转换孔的开放以及细胞色素 c 的释放, 同时伴随着 caspase 断裂重要的细胞内基质, 细胞凋亡信号逐级放大, 激活的 caspase 介导细胞死亡。

3.1 构象改变与凋亡

Bcl-2 家族成员具有形成同源或异源二聚体的能力, 其成员既可以单独也可共同在细胞凋亡中发挥作用. 促凋亡蛋白 Bax 通常在胞质中以单体的形式存在, 当对细胞撤除生长因子之后, 细胞接受到死亡信号的刺激, 此时 Bax 发生了构象的改变^[20], 或者, 一些仅含 BH3 结构域的促凋亡蛋白, 如 BAD, Bik 可以和抗凋亡蛋白 Bcl-2 结合的同时拮抗了 Bcl-2 的抗凋亡作用, 从而使得 Bid 和 Bim 可以直接激活 Bax^[21], 导致 Bax 移位到线粒体并形成同源二聚体蛋白通道, 这种插入到线粒体外膜的 Bax 通道足以促进细胞色素 c 的释放, 接着导致 caspase 的激活和细胞凋亡^[22]. 这种构象的改变诱导凋亡还表现在 pH 值对 Bax 构象、寡聚物的形成和线粒体整合的影响^[23].

最近对于促凋亡蛋白 Bak 的研究发现, 在健康细胞中, Bak 的 BH3 结构域直接参与了与抗凋亡蛋白 Mcl-1 和 Bcl-XL 相互作用, 而 BH3 结构域对于 Bak 的二聚化和凋亡活性是必需的, 伴随着凋亡信号的刺激, BH3 结构域从这种复合物中解离下来, 更加有趣的是, 在此过程中, 仅含有

BH3 结构域的 Noxa 参与了和 Mcl-1 的结合, 从而使得 Bak 得以解离发挥凋亡活性. 可见, 促凋亡蛋白的 BH3 结构域构象的暴露与否也直接影响了凋亡的转变^[24].

3.2 磷酸化与凋亡

仅含有 BH3 结构域的 BAD(Bcl2-antagonist of cell death)在胞浆中存在, 近年对于 BAD 研究表明, BAD 对于生存因子信号的应答使其本身 Ser 位点强烈磷酸化^[15], 导致 BAD 的失活, 因此 BAD 的促凋亡功能通过某些磷酸化位点的磷酸化被生存信号负向调节. 具体表现为具有生物活性的 BAD 以非磷酸化形式存在并与 Bcl-2 或者 Bcl-XL 相互作用, 从而在抑制两者的抗凋亡功能的同时发挥了自身的促凋亡功能. BAD 被促生存因子强烈的磷酸化而失活并与 14-3-3 分子结合, 而失去了与 Bcl-2 或者 Bcl-XL 相结合的能力. 因此, BAD 的磷酸化与去磷酸化控制了其结合能力以及促凋亡活性. 目前的研究发现 4 个丝氨酸残基 S112、S136、S155 和 S170 都以磷酸化的形式应答死亡信号的刺激, 它们分别被 MAPK、PKB/Akt、PKA 和一种未鉴定的激酶磷酸化。

另外, Bik 也是一种仅含有 BH3 结构域促凋亡蛋白^[25], 其活性可被其 Thr33 和 Thr35 的磷酸化调节, 两个磷酸化位点突变后其凋亡活性下降至 Bik 和 Bcl-2 异源二聚体的低促凋亡能力, 表明磷酸化的 Bik 对于促凋亡活性的发挥是必需的, 这与 BAD 的磷酸化对于凋亡的影响恰恰相反. 因此, 磷酸化对于凋亡具有双向调控作用。

3.3 断裂效应与凋亡

另外一种激活促凋亡蛋白的方式是促凋亡蛋白的断裂, 最好的例证便是, 仅含有 BH3 结构域的 Bid 对于死亡受体激活的应答中发挥了这种机制. 在此过程中, 死亡受体激活了 caspase-8, 使得存在于胞浆中的非活性的 Bid 断裂形成具有活性的 tBid, 并转位到线粒体^[26]. Bid 在线粒体的转位得益于其 N 端的一个豆蔻酰化位点, 此位点使得 Bid 在 caspase-8 所介导的断裂效应之后的修饰成为可能^[27], 另外, 由于 Bid 可以和线粒体特异的心磷脂高亲和性结合, 使得其向线粒体的转位更加容易, 断裂后的 tBid 向线粒体的转位增加了线粒体通透性^[28,29]. 另外一种机制认为, Bid 断裂之后通过激活 Bax/Bak 传递信号到线粒体诱导细胞色素 c 的释放以及下游 caspase 的级联反应, 导致凋亡. 另外, Bid 也可以促进 Bax 向线粒体膜的插入和二聚体的

形成。

最近有人认为, BAD 在激活其促凋亡功能之前是一种促生存因子, 内源性和过表达的 BAD_L 可以抑制神经细胞的死亡, 而间接剪切、去磷酸化和 caspase 的断裂作用产生一个缺失 N 端的 BAD_S, 导致 BAD 抗凋亡到促凋亡活性的彻底转变^[30]。

Bim 是一种在 T 和 B 淋巴细胞中广泛存在的促凋亡蛋白。最近发现, Bim 在 T 细胞中控制了凋亡的信号通路, 其中的一种剪切体 BimEL 在 T 细胞中以磷酸化和非磷酸化两种形式存在。非磷酸化的 BimEL 存在于微管并与微管蛋白相互作用, 呈现失活状态。在凋亡信号的早期启动阶段, 磷酸化的 pBimEL 从微管上释放出来, 紧接着这种自由的 pBimEL 被 caspase 断裂为 tBimEL, 从而激活线粒体死亡途径或者死亡受体依赖的凋亡途径。在此过程中, N 端所断裂的 tBimEL 比 pBimEL 与 Bcl-2 有更高的亲和性并显著增强凋亡活性^[31]。

综上所述, 线粒体凋亡通路受 Bcl-2 家族成员的严格调控, 线粒体外膜的通透性被抗凋亡蛋白如 Bcl-2、Bcl-XL 所抑制, 而促凋亡蛋白如 Bax, Bak 的构象改变则刺激细胞色素 c 的释放。BAD 和 Bik 的磷酸化调节着自身凋亡活性的改变, 仅含有 BH3 结构域的蛋白质如 Bid、Bim 的蛋白质裂解可以直接或间接地 (诱导 Bax 或者 Bak 形成寡聚体) 促进细胞的凋亡。上述作用机制诱导线粒体的通透性转换, 其线粒体的外膜对诸如细胞色素 c 等跨膜蛋白具有通透性, 一旦细胞色素 c 被释放, 即可激活下游的 caspase, 从而引起级联反应, 导致细胞凋亡。

4 展 望

回顾近 20 年间细胞凋亡的研究, 大都趋向于集中在某个特定的信号转导通路或某个特定的分子上, 使得在新的凋亡调控相关基因的发现、凋亡相关蛋白精确的生化机制及其不同的信号转导途径的调控等领域取得长足进展。

对 Bcl-2 家族成员的研究发现, Bcl-2 家族蛋白在细胞凋亡过程中由其抗凋亡成员和促凋亡成员之间协同作用, 通过线粒体途径共同决定细胞是否进入凋亡程序。但是, 这么多的凋亡相关蛋白之间是单独发挥作用还是协同发挥作用? 是否具有时空调控的特异性仍不是很清楚。目前的研究绝大多数揭示的都是 Bcl-2 家族在线粒体与细胞质中如何发挥功能。但是, 令人吃惊的是, 最近 Zinkel 和

Kramer 等分别意外发现, Bcl-2 家族中的 Bid 在健康细胞核中同样发挥重要功能, 他们发现 Bid 在由 DNA 损伤所引起细胞阻滞的 S 期检查点中发挥重要功能, 而发挥此功能的前提是 Bid 被 DNA 损伤激酶 ATM 磷酸化。用 Bid 缺陷性细胞证明了 Bid 对于细胞周期阻滞于 S 期是必需的, 第一次证明了 Bid 是 ATM 的一个底物, 从而将 Bcl-2 家族的促凋亡蛋白 Bid 与 DNA 损伤反应紧密联系起来^[32,33]。随着研究的深入, 对 Bcl-2 家族的应用研究将取得突破性的进展, 其在疾病发病中的机理研究与疾病治疗中的应用开发研究将是相关领域的研究热点。

参 考 文 献

- 1 Kroemer G, Reed J C. Mitochondrial control of cell death. *Nat Med*, 2000, **6** (5): 513~519
- 2 Gross A, McDonnell J M, Korsmeyer S J. BCL-2 family members and the mitochondria in apoptosis. *Genes Dev*, 1999, **13** (15): 1899~1911
- 3 Scorrano L, Ashiya M, Buttle K, *et al*. A distinct pathway remodels mitochondrial cristae and mobilizes cytochrome c during apoptosis. *Dev Cell*, 2002, **2** (1): 55~67
- 4 Vaux D L, Cory S, Adams J M, *et al*. Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells. *Nature*, 1988, **335** (6189): 440~442
- 5 Reed J C, Haldar S, Croce C M, *et al*. Complementation by BCL-2 and C-HA-RAS oncogenes in malignant transformation of rat embryo fibroblasts. *Mol Cell Biol*, 1990, **10** (8): 4370~4374.
- 6 Nguyen M, Millar D G, Yong V W, *et al*. Targeting of Bcl-2 to the mitochondrial outer membrane by a COOH-terminal signal anchor sequence. *J Biol Chem*, 1993, **268** (34): 252~265
- 7 Akao Y, Otsuki Y, Kataoka S, *et al*. Multiple subcellular localization of Bcl-2: detection in nuclear outer membrane, endoplasmic reticulum membrane, and mitochondrial membranes. *Cancer Res*, 1994, **54** (9): 2468~2471
- 8 Krajewski S, Tanaka S, Takayama S, *et al*. Investigation of the subcellular distribution of the Bcl-2 oncoprotein: residence in the nuclear envelope, endoplasmic reticulum, and outer mitochondrial membranes. *Cancer Res*, 1993, **53** (19): 4701~4714
- 9 Scorrano L, Korsmeyer S J. Mechanisms of cytochrome c release by proapoptotic BCL-2 family members. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003, **304** (3): 437~444.
- 10 Hockenbery D M, Oltvai Z N, Yin X M, *et al*. Bcl-2 functions in an antioxidant pathway to prevent apoptosis. *Cell*, 1993, **75** (2): 241~251
- 11 Gross A, Yin X M, Wang K, *et al*. Caspase cleaved BID targets mitochondria and is required for cytochrome c release, while BCL-XL prevents this release but not tumor necrosis factor-R1/Fas death. *J Biol Chem*, 1999, **274** (2): 1156~1163
- 12 Huang D C, Tschopp J, Strasser A, *et al*. Bcl-2 does not inhibit cell death induced by the physiological Fas ligand: implications for the existence of type I and type II cells. *Cell Death Differ*, 1999, **6** (9): 821~822
- 13 Strasser A, Puthalakath H. The role of bim, a proapoptotic BH3-only

- member of the Bcl-2 family in cell-death control. *Ann N Y Acad Sci*, 2000, **917**: 541~548
- 14 Cory S, Huang D C, Adams J M. The Bcl-2 family: roles in cell survival and oncogenesis. *Oncogene*, 2003, **22** (53): 8590~8607
 - 15 Adachi M, Zhang Y B, Imai K, *et al.* Mutation of BAD within the BH3 domain impairs its phosphorylation-mediated regulation. *FEBS Letters*, 2003, **551** (1~3): 147~152
 - 16 Kuwana T, Bouchier-Hayes L, Chipuk J E, *et al.* BH3 domains of BH3-only proteins differentially regulate Bax-mediated mitochondrial membrane permeabilization both directly and indirectly. *Mol Cell*, 2005, **17** (4): 525~535
 - 17 Sattler M, Liang H, Nettesheim D, *et al.* Structure of Bcl-xL-Bak peptide complex: recognition between regulators of apoptosis. *Science*, 1997, **275** (5302): 983~986
 - 18 Borner C. The Bcl-2 protein family: sensors and checkpoints for life-or-death decisions. *Mol Immunol*, 2003, **39** (11): 615~647
 - 19 Cory S, Adams J M. The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nat Rev Cancer*, 2002, **2** (9): 647~656
 - 20 Wolter K G, Hsu Y T, Smith C L, *et al.* Movement of Bax from the cytosol to mitochondria during apoptosis. *J Cell Biol*, 1997, **139** (5): 1281~1292
 - 21 Letai A, Bassik M C, Walensky L D, *et al.* Distinct BH3 domains either sensitize or activate mitochondrial apoptosis, serving as prototype cancer therapeutics. *Cancer Cell*, 2002, **2** (3): 183~192
 - 22 Marani M, Tenev T, Hancock D, *et al.* Identification of novel isoforms of the BH3 domain protein Bim which directly activate Bax to trigger apoptosis. *Mol Cell Biol*, 2002, **22** (11): 3577~3589
 - 23 Cartron P F, Oliver L, Mayat E, *et al.* Impact of pH on Bax alpha conformation, oligomerisation and mitochondrial integration. *FEBS Lett*, 2004, **578** (1~2): 41~46
 - 24 Willis S N, Chen L, Dewson G, *et al.* Proapoptotic Bak is sequestered by Mcl-1 and Bcl-xL, but not Bcl-2, until displaced by BH3-only proteins. *Genes Dev*, 2005, **19** (11): 1294~1305
 - 25 Verma S, Zhao L J, Chinnadurai G, *et al.* Phosphorylation of the pro-apoptotic protein BIK: mapping of phosphorylation sites and effect on apoptosis. *J Biol Chem*, 2001, **276** (7): 4671~4676
 - 26 Li H, Zhu H, Xu C, *et al.* Cleavage of BID by caspase-8 mediates the mitochondrial damage in the Fas pathway to apoptosis. *Cell*, 1998, **94** (4): 491~501
 - 27 Zha J, Weiler S, Oh K J, *et al.* Post-translational N-myristoylation of BID as a molecular switch for targeting mitochondria and apoptosis. *Science*, 2000, **290** (5497): 1761~1765
 - 28 Lutter M, Fang M, Luo X, *et al.* Cardiolipin provides specificity for targeting of tBid to mitochondria. *Nat Cell Biol*, 2000, **2** (10): 754~761
 - 29 Lutter M, Perkins G A, Wang X. The pro-apoptotic Bcl-2 family member tBid localizes to mitochondrial contact sites. *BMC Cell Biol*, 2001, **2**: 22
 - 30 Seo S Y, Chen Y B, Ivanovska I, *et al.* BAD is a pro-survival factor prior to activation of its pro-apoptotic function. *J Biol Chem*, 2004, **279** (40): 42240~42249
 - 31 Chen D, Zhou Q. Caspase cleavage of BimEL triggers a positive feedback amplification of apoptotic signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101** (5): 1235~1240
 - 32 Zinkel S S, Hurov K E, Ong C, *et al.* A role for proapoptotic BID in the DNA-damage response. *Cell*, 2005, **122** (4): 579~591
 - 33 Kamer I, Sarig R, Zaltsman Y, *et al.* Proapoptotic BID is an ATM effector in the DNA-damage response. *Cell*, 2005, **122** (4): 593~603

Role for The Bcl-2 Family Proteins and BH3 Domain in Apoptosis*

LIU Xiang-Jun^{1,2)}, ZHANG Ling-Qiang^{1)**}, LIU Xiao-Lin²⁾, HE Fu-Chu^{1)**}

⁽¹⁾Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China;

⁽²⁾College of Animal Sciences and Technology, Northwest A&F University, Shaanxi 712100, China)

Abstract Apoptosis action is primarily exerted at the level of mitochondria, in which Bcl-2 family of proteins play an important role in its regulation. Bcl-2 family consists of anti-apoptotic and pro-apoptotic members. The anti-apoptotic members usually exist in the outer mitochondrial membrane and inhibit cell death via interaction with pro-apoptotic counterparts BH3 domain. Pro-apoptotic members are commonly localize in the cytoplasm. A series of events occurred, such as typical Bax conformational change, BAD and Bik phosphorylation as well as Bid and Bim proteolysis in response to several death stimuli. As a result, these pro-apoptotic proteins directly integrate to the outer mitochondrial membranes. Finally, mitochondrial permeability transition pore is opened, by followed the release of apoptogenic factors from the mitochondrial intermembrane space, including cytochrome c, apoptosis inducing factor(AIF) and Smac, then the activation of downstream caspases and execution of cell death.

Key words Bcl-2 family, BH3 domain, apoptosis, mitochondria, cytochrome c

*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (30200043, 30321003), Hi-Tech Research and Development Program of China (2004AA221100, 2002BA71A02-5).

**Corresponding author. Tel: 86-10-66931246, Fax: 86-10-68177417, E-mail: hefc@nic.bmi.ac.cn

Received: September 29, 2005 Accepted: November 1, 2005