

Puma在肿瘤和干细胞中作用的研究进展

赵 蕾 袁卫平 程 涛*

(中国医学科学院北京协和医学院血液学研究所, 血液病医院, 实验血液学国家重点实验室, 天津 300020)

摘要 Puma(p53 upregulated modulator of apoptosis)是2001年发现的Bcl-2家族BH3-only亚家族的一个新成员, 参与各种应激刺激诱导的p53依赖和非依赖细胞凋亡过程并扮演一个关键的介导者。Puma参与生命过程内环境稳态的调节, 并与一些疾病的发生发展密切相关。近年来, Puma在人类恶性肿瘤发生发展以及干细胞损伤保护等方面的作用越来越受到人们的重视, 因此熟悉并掌握Puma诱导细胞凋亡及其在肿瘤形成和干细胞调控方面的作用机制, 对以Puma为靶点开发治疗相关疾病的新方法有重要的指导意义。该文就Puma的分子特性、对细胞凋亡的调控及其在肿瘤和干细胞中的作用等方面作一简要综述。

关键词 Puma; p53; 凋亡; 肿瘤; 干细胞

Research Progress on the Role of Puma in Cancer and Stem Cells

Zhao Lei, Yuan Weiping, Cheng Tao*

(State Key Laboratory of Experimental Hematology, Institute of Hematology and Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China)

Abstract Puma (p53 upregulated modulator of apoptosis), a Bcl-2 homology 3 (BH3)-only Bcl-2 family member, mediates cell apoptosis through a p53-dependent or p53-independent pathway and participates in the regulation of biological processes to maintain cellular homeostasis. In recent years, more attentions have been given to the roles of Puma in the development of human malignancies and in the protection of stem cells upon injury. A better understanding of the mechanism of Puma-induced apoptosis in cancer and stem cells would be helpful in the pursuit of new therapeutic treatments for relevant diseases. In this review, the molecular features of Puma, biochemical functions of Puma in apoptosis and especially its roles in cancer and stem cells were discussed.

Key words Puma; p53; apoptosis; cancer; stem cell

Puma(p53 upregulated modulator of apoptosis)是Bcl-2家族成员之一^[1], 属于BH3-only亚家族, 通过p53依赖和非依赖途径介导细胞发生凋亡, 对参与生命过程调控、维持内环境稳态至关重要^[2]。Puma诱导的细胞凋亡不仅与一些恶性肿瘤发生发展密切相关, 而且对于维持机体干细胞的生存也很重要。本文就Puma的生化结构、凋亡机制以及与肿瘤和干

细胞的相互作用关系等方面作一简要综述。

1 Puma的基因及其蛋白结构

Puma于2001年由三个科学小组分别发现。其中, 两组科学家通过基因表达差异分析发现, Puma为p53基因的一个转录调控靶点^[3-4]。而另一组科学家通过酵母双杂交发现, Puma作为Bcl-2相互作用的一个

收稿日期: 2014-05-07 接受日期: 2014-06-03

国家自然科学基金(批准号: 81090411、81330015)和天津市科学技术委员会自然科学基金(批准号: 11JCZDJC27900、13JCYBJC39400)资助的课题

*通讯作者。Tel: 022-23909156, E-mail: chengtao@ihcams.ac.cn

Received: May 7, 2014 Accepted: June 3, 2014

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81090411, 81330015) and Tianjin Municipal Science and Technology Commission (Grant No.11JCZDJC27900, 13JCYBJC39400)

*Corresponding author. Tel: +86-22-23909156, E-mail: chengtao@ihcams.ac.cn

网络出版时间: 2014-09-17 11:10

URL: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.11844/cjcb.2014.10.0152.html>

伴侣蛋白^[5]。Puma在人和鼠中高度保守,其基因结构在人和鼠中也非常类似^[1],分别定位于人的19q31和鼠7A2。Puma基因不仅包含两个主要的转录本Puma- α 和Puma- β ,编码包含BH-3结构域的蛋白质,还能够延伸切割形成多种多样的转录片段。

Puma的基础表达通常比较低,这是由于在Puma基因的启动子序列、外显子1a、内含子1都富含谷氨酸和半胱氨酸,这种结构有利于形成二级结构进而有效抑制转录^[6]。但当给予各种刺激后,Puma会在人和鼠的各种组织细胞中被快速诱导。生物信息学分析发现,Puma存在多个转录因子结合的潜在区域,其中许多区域在人和鼠的基因组中高度保守,比如结合p53、c-Myc和Fox3a的区域^[7]。在激活Puma表达的转录因子中,p53的作用被人们所熟知^[8]。当发生DNA损伤时,p53被募集到Puma启动子的p53效应元件处与之结合。基因靶向研究表明,p53和p53结合域在针对DNA损伤时出现的Puma诱导表达都是必不可少的。p53结合到Puma启动子区域启动核心组蛋白的修饰,例如组蛋白H3、H4乙酰化修饰,利于染色质结构打开和转录激活。

2 Puma与凋亡

10年前已经有科学家发现,Puma蛋白对Bcl-2家族的抗凋亡成员具有高度亲和性^[9]。研究表明,Puma通过线粒体凋亡途径与两个关键的多结构域促凋亡蛋白Bax和Bak结合,激活其活性而诱导细胞发生细胞凋亡^[10]。当缺失Bax和Bak两种蛋白时,细胞将出现凋亡抵抗效应。Puma的作用则是确保两种蛋白在线粒体外膜正确定位^[11],形成离子通道,增加线粒体外膜的通透性,释放大量的凋亡前体分子如细胞色素C、Smac/DIABLO、凋亡蛋白酶进入细胞质中,诱导凋亡瀑布式级联效应^[12]。但是,Puma是如何激活Bax和Bak两种蛋白进而导致线粒体通透性增加以及Puma在线粒体凋亡途径中扮演的角色如何,都没有得到明确的解释。目前,有关上述问题存在两种假说:直接激活模式和间接激活模式。

在直接激活模式^[13]中,BH3-only蛋白被分为两个亚类,一类被称为激活者,包括Bim、tBid、Puma。激活者直接结合并激活Bax和Bak两种蛋白。而剩余的BH3-only蛋白组成的第二类被称为激敏者,包括Bad、Noxa、Bik、BMF、HRK以及Puma。Puma既可作为激活者,又可作为激敏者。一般情况下,促

凋亡蛋白Bax和Bak处于静息状态。当给予细胞凋亡信号,Puma作为BH3-only直接激活者开始激活Bax和Bak,其BH3结构域与Bax和Bak相互作用,导致两种蛋白的构型发生改变。Puma刺激Bax的 $\alpha 1$ 螺旋使其暴露N末端,接着释放Bax C末端 $\alpha 9$ 螺旋使其从BH3结合沟槽解脱出来并重新定位于线粒体外膜。当Bax和Bak发生构象改变后,Puma与其N末端的 $\alpha 1$ 螺旋结合,诱导Bax和Bak同源聚合反应,最终在线粒体外膜形成离子孔道,激活线粒体凋亡途径。

在间接激活模式中,Bax和Bak被认为是处于持续激活状态中^[10]。因此,一般情况下,为了抑制细胞凋亡,两种蛋白被抗凋亡蛋白结合所抑制。BH3-only蛋白通过将Bax和Bak从与抗凋亡蛋白结合的异源二聚体中解离出来而促进程序性细胞死亡。因此,只有当所有抗凋亡蛋白都被BH3-only蛋白抑制后才能出现细胞凋亡。在间接激活模式假说中,Puma、tBid、Bim三种蛋白组成主要的效应分子,快速有效地中和所有抗凋亡蛋白,激活细胞凋亡途径。激活凋亡的过程中,Puma也同时激活胞质中的p53^[14],二者共同在细胞核和细胞质发挥促凋亡作用。

3 Puma与肿瘤

只有当各种促凋亡和抗凋亡调节机制之间保持平衡时,机体才能维持稳态^[15]。如果其中抗凋亡机制占优势或者促凋亡机制失活,则会诱发肿瘤的形成。研究表明,Puma功能失调会促进某些肿瘤的发生^[16]。p53在大约超过50%的人类肿瘤中表达不足,当p53发生突变或者完全缺失时,会伴随Puma的缺失^[17],导致肿瘤细胞凋亡缺失。研究指出,Puma在恶性肿瘤细胞中表达不足也有可能是由于Bcl-2家族中抗凋亡蛋白的过度作用,导致肿瘤细胞继续得以存活^[18]。

值得注意的是,在迄今为止发现的所有人类肿瘤中,都没有检测到Puma基因编码区的突变位点。说明该基因本身并不通过表达序列的改变参与肿瘤的形成。在头颈肿瘤和肺部肿瘤细胞系中发现,Puma基因本身并不是基因失活作用的直接靶点。同样,在肝脏和结肠肿瘤中,Puma失活的主要原因并不是由于基因突变。基因组研究指出,淋巴瘤是由于myc癌基因主要诱导形成的^[16]。在大约40%伯基特淋巴瘤的患者中,Puma的表达程度极低甚至检测不到的原因在于启动子和编码区的CpG岛高度甲基化的作用,最终沉默Puma基因表达^[19]。使用甲基

化抑制剂可以恢复基因正常功能,从而提高*Puma*的表达水平。

有报道指出,可以采用microRNA作为靶向调节*Puma*表达效应剂^[20-21]。miR-221/miR-222小分子可以直接与*Puma* mRNA的3'UTR区域结合,抑制转录和翻译,维持细胞存活和促进肿瘤的形成;而沉默miR-221/miR-222表达,可以恢复*Puma*促凋亡活性,诱导恶性胶质瘤细胞、MCF-7细胞、A549细胞凋亡,最终抑制肿瘤的生长。在暴发性肝衰竭中也可以观察到miR-221/miR-222类似的作用。因此,miR-221/miR-222可以作为潜在的治疗靶点,用于治疗肝炎、肝衰竭、恶性胶质瘤和上皮细胞癌^[22]。

*Puma*作为细胞凋亡的强烈诱导分子之一,被认为是抑制肿瘤发生的强有力的“安全护卫”。然而,最近有研究提出了“*Puma*矛盾”现象^[23]。研究发现,基因敲除*Puma*不仅可以保护造血干祖细胞免于 γ 放射损伤^[24],而且在特定条件下能够抑制淋巴瘤和肝细胞肿瘤的形成^[25]。抑制或者缺失*Puma*有利于暴露于致死剂量的老鼠长期存活,而其恶性肿瘤的发生率并没有增加。在二乙基亚硝胺(diethylnitrosamine, DEN)诱导的鼠肝癌模型中, DEN诱导p53非依赖的*Puma*表达, *Puma*表达导致肝细胞凋亡和肝细胞代偿性的增殖,最终促进肝癌的发生^[25]。“*Puma*矛盾”现象的出现,是由于在细胞凋亡时,干祖细胞可以产生一种有利于肿瘤细胞生长的条件。带有突变的细胞持续凋亡会同时刺激邻近的机体干祖细胞代偿性增殖来补充细胞和组织的不足。这一过程也会激活caspase-3、caspase-7和磷脂酶A2,诱导带有基因缺陷的干祖细胞不断增殖、积累,造成细胞的二次突变,促进基因组不稳定,最终导致组织恶变。

4 *Puma*与干细胞

*Puma*作为p53启动细胞凋亡下游通路的重要靶基因,对生命过程中调控内环境稳态至关重要。*Puma*的表达不仅与一些疾病特别是肿瘤的发生发展密切相关,而且近几年随着干细胞领域的发展,*Puma*作为一个重要的调控靶点,在干细胞方面的作用也逐渐被人们所重视。

为了保持机体肠道系统的稳态,肠上皮细胞会周期性地自我更新,而这一过程是由存在于肠上皮隐窝基底部位的小肠干祖细胞介导的。当出现肠

道感染性疾病,或者肠道肿瘤时,肠干细胞会因凋亡而减少。研究发现,坏死性结肠炎时,肠干细胞的Toll样受体4表达增加,通过*Puma*介导肠干细胞凋亡增加,导致不可逆性病理过程^[26]。2009年, Yu等^[27]通过偶氮甲烷(azoxymethane, AOM)/葡聚糖硫酸钠盐(dextran sulfate sodium salt, DSS)处理过的老鼠和*APC*^{Min/+}老鼠两种模型证实, *Puma*在抑制小肠肿瘤中发挥了重要作用。同时, Yu等^[27]还研究发现, *Puma*介导的肠干祖细胞凋亡在放射诱导胃肠道损伤性疾病中也发挥了重要作用。通过抑制*Puma*的表达抑制小肠干祖细胞凋亡,可以促进小肠隐窝细胞再生,延长致死性放射刺激后的小鼠生存期。

骨髓损伤是肿瘤放射治疗和化学治疗的首要副作用,如何尽量减少治疗过程中造血系统的损伤并尽快恢复造血重建是肿瘤治疗的一个亟待解决的问题。2010年, Yu等^[24]和Shao等^[28]研究发现,在*Puma*缺失的条件下,造血干祖细胞可以有效抵御 γ 放射损伤, *Puma*缺失的小鼠在接受致死高剂量 γ 射线的刺激后可以长期存活。*Puma*缺失能够在低剂量照射条件下保护原始和分化的造血细胞,在高剂量照射时能够保护造血干祖细胞,进而加速放射后造血系统的恢复,促进造血重建。更有意思的是,研究中发现,在暴露过射线的*Puma*敲除的老鼠中,肿瘤的发生率并没有相应增加^[24]。这一现象可能归于*Puma*能够维持造血干细胞静态以及促进DNA损伤修复。*Puma*有可能作为今后保护造血干细胞免于放射损伤的潜在治疗靶点。

2010年, Liu等^[29]研究发现, *Puma*对于p53诱导的成体干细胞耗竭是必须的。哺乳动物衰老伴随着基因组DNA损伤以及组织的退化,并激活肿瘤抑制分子p53,抑制细胞周期、诱导细胞静息或细胞凋亡。有研究指出, p53的持续激活和部分早衰是与组织包括骨髓、大脑和睾丸中成体干细胞的耗竭高度相关的,并且这一过程高度依赖*Puma*的表达^[29]。如果*Puma*缺失,会挽救部分早衰组织,抑制成体干细胞的耗竭。这项研究提示,如果能够抑制*Puma*的表达,也许能够治疗某些组织退行性疾病。2013年, Cregan等^[30]研究发现,在神经系统感染条件下,神经小胶质细胞分泌肿瘤坏死因子 α (tumour necrosis factor α , TNF α)通过NF- κ B依赖机制,诱导神经祖细胞中的*Puma*表达,导致神经祖细胞发生凋亡,抑制神经细胞再生和修复能力,引起神经系统功能障碍,

诱发或加重神经系统相关疾病。如果抑制Puma的表达,神经祖细胞在移植入脊髓损伤造成的感染环境中后,其存活率是对照组的13倍,因此,通过调控神经感染性凋亡通路也许能够治疗和改善多种神经系统疾病。

Puma除了在小肠干细胞、骨髓造血干细胞以及其他类型成体干细胞中发挥重要作用,在精原干细胞中也发现Puma具有不可替代的作用^[31]。研究发现,基因毒应激诱导的细胞凋亡过程主要依赖于Puma的内源性途径,并且,Puma虽然对自然条件下生殖细胞的凋亡不起主导作用,但是在基因毒应激条件下对精原干细胞维持基因组稳定性方面发挥重要作用^[31]。除此之外,在人类胚胎干细胞方面发现,体外扩增培养人胚胎干细胞时,BH3-only促凋亡蛋白表达增多,包括NOXA、BIK、BIM、BMF和Puma,而这一过程不伴随抗凋亡蛋白相应增加,提示可能有一种机制在诱导人胚胎干细胞分化过程中通过程序性细胞死亡来调控畸胎瘤细胞的产生^[32]。

将分化的细胞通过导入四个转录因子(Oct4、Sox2、Klf4和Myc)可以重编程为多潜能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC),这是目前再生医学相当具有前景的领域^[33]。近两年有科学家发现,通过抑制Puma的表达不仅可以在诱导多潜能干细胞的过程中减少DNA损伤和染色体突变,而且可以增加重编程效率^[33-34]。虽然抑制p53或p21都可以提高iPSC诱导效率,但是Puma抑制可以提高细胞存活质量,增强基因组稳定性。因此,短暂地抑制Puma活性,不仅能够提高重编程效率,而且可以减少细胞DNA损伤积累,为将来应用于iPSC临床应用打下坚实的基础^[35]。

5 展望

Puma在多种凋亡信号刺激下,通过与Bcl-2家族抗凋亡成员相互作用,激活p53依赖或非依赖途径诱导细胞发生凋亡^[35]。细胞凋亡不足可导致肿瘤、组织退行性疾病以及自身免疫病等多种疾病,因而,熟悉并掌握Puma诱导细胞凋亡的机制及其在各种疾病中的作用,从而通过调节Puma开拓相关疾病的治疗研究十分必要。虽然Puma的研究取得了许多进展,特别是在肿瘤和干细胞领域方面已有了重要的研究突破,但是许多确切机制仍需继续探索,如Puma与肿瘤发生的关系,如何进一步解释肿瘤发生

中的“Puma矛盾”现象,以及抑制Puma表达能否增加肿瘤细胞形成的可能性,等等。目前,许多研究集中于Puma在肿瘤和干细胞方面的作用以及探索各种小分子化合物对于Puma的影响,为今后肿瘤治疗和干细胞应用研究提供一个重要的分子靶点。相信随着进一步的深入研究,对于目前难以根治的恶性肿瘤和凋亡相关疾病,通过新型药物和干细胞治疗能够实现更大的突破性进展。

参考文献 (References)

- 1 Garrison SP, Phillips DC, Jeffers JR, Chipuk JE, Parsons MJ, Rehg JE, *et al.* Genetically defining the mechanism of Puma- and Bim-induced apoptosis. *Cell Death Differ* 2012; 19(4): 642-9.
- 2 Sperka T, Song Z, Morita Y, Nalapareddy K, Guachalla LM, Lechel A, *et al.* Puma and p21 represent cooperating checkpoints limiting self-renewal and chromosomal instability of somatic stem cells in response to telomere dysfunction. *Nat Cell Biol* 2012; 14(1): 73-9.
- 3 Yu J, Zhang L, Hwang PM, Kinzler KW, Vogelstein B. PUMA induces the rapid apoptosis of colorectal cancer cells. *Mol Cell* 2001; 7(3): 673-82.
- 4 Nakano K, Vousden KH. PUMA, a novel proapoptotic gene, is induced by p53. *Mol Cell* 2001; 7(3): 683-94.
- 5 Han J, Flemington C, Houghton AB, Gu Z, Zambetti GP, Lutz RJ, *et al.* Expression of bbc3, a pro-apoptotic BH3-only gene, is regulated by diverse cell death and survival signals. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98(20): 11318-23.
- 6 Yu J, Zhang L. PUMA, a potent killer with or without p53. *Oncogene* 2008; 27 Suppl 1: S71-83.
- 7 Sandow JJ, Jabbour AM, Condina MR, Daunt CP, Stomski FC, Green BD, *et al.* Cytokine receptor signaling activates an IKK-dependent phosphorylation of PUMA to prevent cell death. *Cell Death Differ* 2012; 19(4): 633-41.
- 8 Jabbour AM, Daunt CP, Green BD, Vogel S, Gordon L, Lee RS, *et al.* Myeloid progenitor cells lacking p53 exhibit delayed up-regulation of Puma and prolonged survival after cytokine deprivation. *Blood* 2010; 115(2): 344-52.
- 9 Wu WS, Heinrichs S, Xu D, Garrison SP, Zambetti GP, Adams JM, *et al.* Slug antagonizes p53-mediated apoptosis of hematopoietic progenitors by repressing puma. *Cell* 2005; 123(4): 641-53.
- 10 Hikiş P, Kilianska ZM. PUMA, a critical mediator of cell death—one decade on from its discovery. *Cell Mol Biol Lett* 2012; 17(4): 646-69.
- 11 Zhao Y, Coloff JL, Ferguson EC, Jacobs SR, Cui K, Rathmell JC. Glucose metabolism attenuates p53 and Puma-dependent cell death upon growth factor deprivation. *J Biol Chem* 2008; 283(52): 36344-53.
- 12 Chipuk JE, Green DR. PUMA cooperates with direct activator proteins to promote mitochondrial outer membrane permeabilization and apoptosis. *Cell Cycle* 2009; 8(17): 2692-96.
- 13 Labi V, Villunger A. PUMA-mediated tumor suppression: A tale of two stories. *Cell Cycle* 2010; 9(21): 4269-75.
- 14 Asai T, Liu Y, Bae N, Nimer SD. The p53 tumor suppressor

- protein regulates hematopoietic stem cell fate. *J Cell Physiol* 2011; 226(9): 2215-21.
- 15 Feng L, Pan M, Sun J, Lu H, Shen Q, Zhang S, *et al.* Histone deacetylase 3 inhibits expression of PUMA in gastric cancer cells. *J Mol Med (Berl)* 2013; 91(1): 49-58.
 - 16 Garrison SP, Jeffers JR, Yang C, Nilsson JA, Hall MA, Rehg JE, *et al.* Selection against PUMA gene expression in Myc-driven B-cell lymphomagenesis. *Mol Cell Biol* 2008; 28(17): 5391-402.
 - 17 Buggins AG, Pepper CJ. The role of Bcl-2 family proteins in chronic lymphocytic leukaemia. *Leuk Res* 2010; 34(7): 837-42.
 - 18 Qiu W, Wang X, Leibowitz B, Yang W, Zhang L, Yu J. PUMA-mediated apoptosis drives chemical hepatocarcinogenesis in mice. *Hepatology* 2011; 54(4): 1249-58.
 - 19 Lai C, Dunleavy K. Tackling Burkitt lymphoma in older patients: Novel strategies and the promise of targeted agents. *Leuk Lymphoma* 2013; 54(3): 443-44.
 - 20 Zhang C, Zhang J, Zhang A, Wang Y, Han L, You Y, *et al.* PUMA is a novel target of miR-221/222 in human epithelial cancers. *Int J Oncol* 2010; 37(6): 1621-26.
 - 21 Zhang CZ, Zhang JX, Zhang AL, Shi ZD, Han L, Jia ZF, *et al.* MiR-221 and miR-222 target PUMA to induce cell survival in glioblastoma. *Mol Cancer* 2010; 9: 229.
 - 22 Sharma AD, Narain N, Handel EM, Iken M, Singhal N, Cathomen T, *et al.* MicroRNA-221 regulates FAS-induced fulminant liver failure. *Hepatology* 2011; 53(5): 1651-61.
 - 23 Llambi F, Green DR. Apoptosis and oncogenesis: Give and take in the BCL-2 family. *Curr Opin Genet Dev* 2011; 21(1): 12-20.
 - 24 Yu H, Shen H, Yuan Y, XuFeng R, Hu X, Garrison SP, *et al.* Deletion of Puma protects hematopoietic stem cells and confers long-term survival in response to high-dose gamma-irradiation. *Blood* 2010; 115(17): 3472-80.
 - 25 Neal MD, Sodhi CP, Jia H, Dyer M, Egan CE, Yazji I, *et al.* Toll-like receptor 4 is expressed on intestinal stem cells and regulates their proliferation and apoptosis via the p53 up-regulated modulator of apoptosis. *J Biol Chem* 2012; 287(44): 37296-308.
 - 26 Qiu W, Carson-Walter EB, Liu H, Epperly M, Greenberger JS, Zambetti GP, *et al.* PUMA regulates intestinal progenitor cell radiosensitivity and gastrointestinal syndrome. *Cell Stem Cell* 2008; 2(6): 576-83.
 - 27 Yu J. PUMA Kills Stem Cells to Stall Cancer? *Mol Cell Pharmacol* 2009; 1(3): 112-18.
 - 28 Shao L, Sun Y, Zhang Z, Feng W, Gao Y, Cai Z, *et al.* Deletion of proapoptotic Puma selectively protects hematopoietic stem and progenitor cells against high-dose radiation. *Blood* 2010; 115(23): 4707-14.
 - 29 Liu D, Ou L, Clemenson GJ, Chao C, Lutske ME, Zambetti GP, *et al.* Puma is required for p53-induced depletion of adult stem cells. *Nat Cell Biol* 2010; 12(10): 993-98.
 - 30 Guadagno J, Xu X, Karajgikar M, Brown A, Cregan SP. Microglia-derived TNFalpha induces apoptosis in neural precursor cells via transcriptional activation of the Bcl-2 family member Puma. *Cell Death Dis* 2013; 4: e538.
 - 31 Forand A, Bernardino-Sgherri J. A critical role of PUMA in maintenance of genomic integrity of murine spermatogonial stem cell precursors after genotoxic stress. *Cell Res* 2009; 19(8): 1018-30.
 - 32 Madden DT, Davila-Kruger D, Melov S, Bredesen DE. Human embryonic stem cells express elevated levels of multiple pro-apoptotic BCL-2 family members. *PLoS One* 2011; 6(12): e28530.
 - 33 Li Y, Feng H, Gu H, Lewis DW, Yuan Y, Zhang L, *et al.* The p53-PUMA axis suppresses iPSC generation. *Nat Commun* 2013; 4: 2174.
 - 34 Lake BB, Fink J, Klemetsaune L, Fu X, Jeffers JR, Zambetti GP, *et al.* Context-dependent enhancement of induced pluripotent stem cell reprogramming by silencing Puma. *Stem Cells* 2012; 30(5): 888-97.
 - 35 Fricker M, O'Prey J, Tolkovsky AM, Ryan KM. Phosphorylation of Puma modulates its apoptotic function by regulating protein stability. *Cell Death Dis* 2010; 1: e59.