

Autofagiyanın Molekulyar Mexanizminə Ümumi Baxış

Zhifen Yang and **Daniel J. Klionsky**

Life Sciences Institute and Departments of Molecular, Cellular and Developmental Biology and Biological Chemistry, University of Michigan, Ann Arbor, MI, 48109-2216, USA

Zhifen Yang: ; Daniel J. Klionsky: klionsky@umich.edu

Abstrakt

Autofagiya prosesi zamanı əvvəlcə sitozolun və orqanellərin hissələri ikiqat membranlı qovuqcuğun, yəni autofaqozom ilə əhatələnir və daha sonra əmələ gələn makromolekullar vakuol və ya lizosom kimi parçalayıcı orqanellərdən birinə çatdırılaraq orada parçalanır, beləliklə bu maddələr yenidən dövranə qaytarılır. Autofagiya yüksək səviyədə qorunmuş hüceyrəvi parçalanma prosesidir. Bu proses hüceyrəni hüceyrədə baş verən müxtəlif stres hallarından qoruyur. Autofagiya hüceyrə inkişafı və differensiasiyasında mühüm rol oynayır, şiş supresiyasında funksiya göstərir və həyat müddətinin uzanmasında rolu olduğu düşünülür. Həmçinin autofagiyanın anadangəlmə və qazanılmış immun sistemdə də, məsələn patogenə qarşı müqavimətdə müxtəlif funksiyaları ola bilər. Autofagiyanın həm seçici, həm də seçici olmayan tipləri daxil olmaqla, bu hüceyrəvi prosesin baş verməsində vacib olan çox sayda autofagiya-əlaqəli genin (ATG genləri) *{autophagy-related genes}* təyin edilməsində ciddi irəliləyişlər olub. Maya göbələklərində ATG genlərinin təyini və digər orqanizmlərdə ortoloqların *{ortoloq-eyni gen əcdadına sahib*

olan və ondan saxələnən genlər toplusudur} tapılması bütün eukariotlarda autofagik sistemin qorunduğunu göstərir. Bu məqalədə biz autofagiya sistemi və onun molekulyar mexanizmi barədə hazırki biliyimizi ümumiləşdirəcəyik.

1 Giriş

Autofagiya, başqa sözlə desək hüceyrəaltı səviyyədə “öz-özünü yemə” prosesi, son bir neçə ildə böyük marağa səbəb oldu və autofagiya mexanizmi ilə bağlı biliyimiz əhəmiyyətli dərəcədə artdı¹. Eukariotik hüceyrələrdə autofagiyanın üç böyük tipi mövcuddur - makroautofagiya, mikroautofagiya və şaperon-vasitəli autofagiya (ŞVA) (CMA) {*chaperone-mediated autophagy*} və bu tiplər mexanizm baxımından bir-birindən fərqlidir^{2,3}.

| Eukariotlarda autofagiyanın tipləri | | Dinamik membran yenidən qurulması xüsusiyyəti |
|-------------------------------------|-----------------------------------|---|
| 1 | Makroautofagiya (autofagiya) | + |
| 2 | Mikroautofagiya | + |
| 3 | Şaperon-vasitəli autofagiya (ŞVA) | - |

Həm makro-, həm də mikroautofagiya sitoplazmanın hissələrini uda bilmək üçün dinamik membran yenidən qurulması xüsusiyyətinə malikdir və onlar böyük strukturları, məsələn bütöv orqanelləri belə uda bilirlər. Mikroautofagiya prosesi zamanı lizosomal membranın invaginasiyası, protruziyası və septasiyası(şaxələnməsi) vasitəsilə sitoplazmanın lizosom səthində bilavasitə udulması baş verir. Digər tərəfdən, makroautofagiya zamanı isə sitoplazma hissələri autofagosom adlanan yeni

yanmış ikiqat membranlı qovuquğun içərisinə sekvesterasiya edilir. Daha sonra tamamlanmış autofaqosom lizosom/vakuol ilə birləşir və daxili təkqatlı qovuquq boşluğuna buraxılır. Hər iki halda da əmələ gələn autofagik cisimciyin membranı əriyərək içərisindəki möhtəviyyatın parçalanmasına və əmələ gələn makromolekulların yenidən membran vasitəsilə sitozola qaytarılaraq təkrar istifadə olunmasına imkan verir. Ancaq ŞVA-da (CMA) oxşar tipli membran yenidən qurulması baş vermir, onun yerinə ŞVA (CMA) qatlanmamış həll ola bilən zülalları birbaşa lizosomun limitləyici membranından keçirir.

Bu bölmədə əsasən makroautofagiyadan bəhs edəcəyik və bundan sonra makroautofagiya yerinə sadəcə autofagiya terminindən istifadə edəcəyik. Autofagiya bütün eukaryotik hüceyrələrdə yaygın şəkildə baş verən⁴, təkamül boyu qorunan bir proses olub bir çox fizioloji rola malikdir. Autofagiya qocalmış zülalların dövriyyəsi və eləcə də artıq və ya zədələnmiş orqanellərin kənarlaşdırılması üçün bazal səviyyədə həmişə aktivdir. Zədələnmiş orqanellərin kənarlaşdırılması funksiyası autofagiyanın ömrü uzatmaqda rolunu ilə əlaqələndirilə bilər⁵. Digər tərəfdən autofagiya qida çatışmazlığı, yüksək temperatur və oksidativ stres kimi müxtəlif stres hallarına cavab olaraq yaranır. Autofagiya həm də hüceyrənin inkişafında və differensiasiyasında rol oynayır⁵. Bundan əlavə autofagiyanın xərcəng və Altsheymer, Parkinson və Hantinqton kimi neyrodegenerativ xəstəliklər də daxil olmaqla bir çox növ xəstəliklə^{6,7,8} əlaqəsi var. Həmçinin autofagiyanın anadangəlmə və qazanılmış immun sistemdə də müxtəlif rolları var⁹. Məsələn, autofagiya viruslar, parazitlər və bakteriyalar kimi invaziv patogenləri aradan qaldıra bilər; autofagiya həm də mikroba aid (ya da orqanizmin özünə aid) antigenlərin MHC II-yə təqdim olunmasını sürətləndirir. Son olaraq apoptozun yoxluğunda autofagiya apoptozdan fərqli olan proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümünün bir başqa növündə iştirak edə bilər¹⁰. Proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümünün bu növü Tip II hüceyrə

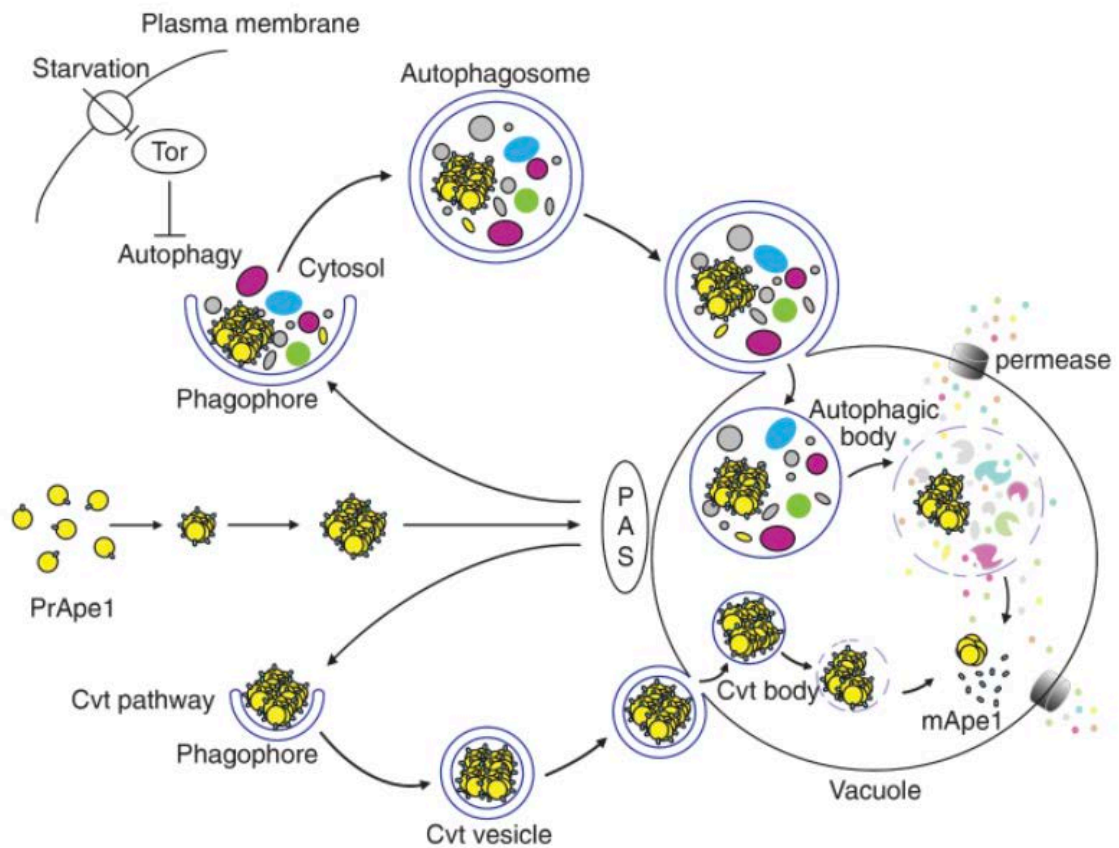
ölümü və ya autofagik hüceyrə ölümü adlanır, ancaq bu prosesin fizioloji mahiyyəti hələ məlum deyil.

Autofagiyanın morfoloqiyası ilk dəfə 1950-ci illərdə məməlilərin hüceyrələrində təyin edildi və geniş farmakoloji və morfoloji araşdırmalar bu prosesin təməl mərhələlərini müəyyənləşdirdi. Daha sonralar 1990-cı illərdə müxtəlif göbələklərdə başlanılan bir araşdırma autofagiya da iştirak edən individual molekulyar komponentlərin təyin edilməsinə imkan verdi. Günümüzdə qədər 31 ədəd autofagiya-əlaqəli (ATG) gen tapılıb^{6,11}. ATG genləri zülal dövriyyəsinə (spesifik olmayan autofagiya), peroksisom yığılmasına (peksofagiya) və sakin (*resident*) vakuolar hidrolazaya (sitoplazmadan vakuola yönələn(Svy) yol (*Cvt-cytoplasm to vacuole targeting pathway*)) təsir edən mutantların genetik gözdən keçirilməsi nəticəsində aşkarlanıb. Baxmayaraq ki, Svy (*Cvt*), peksofagiya və autofagiya yolları morfoloji baxımdan və mexanizm baxımından bənzərdir və Atg komponentlərinin çoxunu paylaşırırlar, onlar bir neçə cəhətdən bir-birlərindən fərqlənirlər (**Şək. 1.**) Autofagiya və peksofagiya yollarında parçalanma baş verdiyi halda, Svy (*Cvt*) yolu biosintetikdir.

| Yol | Xüsusiyyəti | |
|--------------------|-------------|----------------|
| Autofagiya | Parçalayıcı | Seçici olmayan |
| Peksofagiya | Parçalayıcı | Seçici |
| Svy (<i>Cvt</i>) | Biosintetik | Seçici |

Autofagiya adətən seçici olmayan, peksofagiya və Svy (*Cvt*) isə yüksək dərəcədə seçici yollardır. Svy (*Cvt*) yolu aminopeptidaza I(Ape1) və α -mannozidaza (Amz1) { α -mannosidase- *Ams1* } adlı iki sakin (*resident*) vakuolar hidrolazanı çatdırmaq üçün istifadə olunur^{12,13}. Bu iki zülal Svy (*Cvt*) adlı ikiqat membranlı qovuqcuq tərəfindən sekvesterasiya edilir. Svy (*Cvt*) qovuqcuğu ölçü

baxımından nisbətən sabit olsa da, autofaqosom ilə müqayisədə çox daha kiçik ölçüyə malikdir. Belə ki, Svy (Cvt) qovuqcuğunun diametri 140-160 nm olduğu halda, autofagosomun diametri 300-900 nm-dir¹⁴. Oxşar şəkildə peksofagiya zamanı yaranan peksofagosom adlı qovuqcuq da özünün spesifik yükü olan peroksisomlara uyğunlaşmalı olduğu üçün Svy (Cvt) qovuqcuğundan ölçücə daha böyükdür¹⁵. Autofaqosomun əksinə Svy (Cvt) qovuqcuğu və peksofagosom sitoplazmatik hissəni kənarlaşdıraraq sadəcə yükün ətrafını əhatə edir. Autofaqosom isə yükü onu əhatə edən sitoplazma hissəsi ilə birlikdə sekvesterasiya edir.



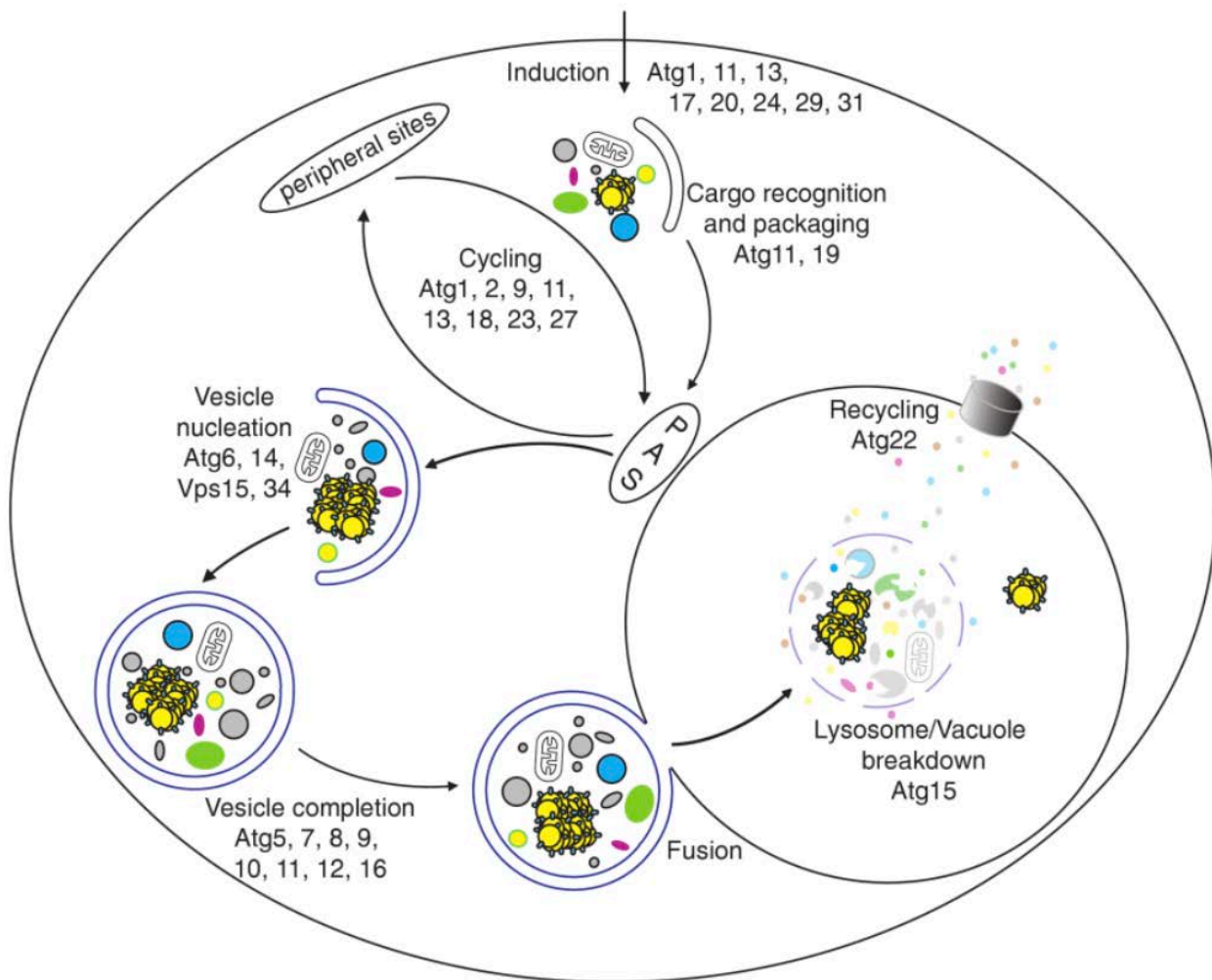
Şəkil 1.

Maya göbələklərində autofagiya və Svy (Cvt) yoluna sxematik ümumi baxış. Hər iki yolda Faqofor Toplaşma Yerindən (FTY) {*PAS-phagophore assembly site*} başlanğıc götürdükləri düşünülmən fərqli ikiqat membranlı qovuqcuqların içərisindəki yükün əhatələnməsi prosesi baş verir. Svy (Cvt) yolu biosintetik yoldur və aminopeptidaza I (Ape1) və α -mannozidaza (Amz1) {*Ams1*} adlı iki

sakin (*resident*) vakuolar hidrolazanın çatdırılmasında istifadə olunur və Svy (*Cvt*) yolu vegetativ şəraitdə (*yəni böyümə və qidalanma proseslərinin və qeyri-cinsi çoxalmanın baş verdiyi şəraitdə, bu proseslərlə əlaqəli şəkildə*) baş verir. Svy (*Cvt*) qovuqcuğunun diametri təxminən 140-160 nm olub və prApe1 (prekursor Ape1) və Atg19 reseptorundan ibarət olan Svy (*Cvt*) kompleksi şəklində spesifik yükü yaxından əhatələyərək özək sitoplazmanı kənarlaşdırır. Bunun əksinə, autofagiya parçalanma prosesi olub, rapamisinin zülal hədəfi-Rzh kinazanın (*Tor-protein target of rapamycin*) açığa cavab olaraq inaktivasiyası vasitəsilə başladılır. Autofaqosomun diametri 300-900 nm olub, orqanellər də daxil olmaqla sitoplazmanı əhatələyir və autofaqosom həmçinin spesifik olaraq Svy (*Cvt*) kompleksini də uda bilər. Tamamlandıqdan sonra ikiqat membranlı qovuqcuqlar vakuol üzərinə yerləşərək onunla birləşirlər və daxili tək membranlı qovuqcuqları (autofagik və ya Svy (*Cvt*) cisimciyi) boşluğa buraxırlar. Daha sonra bu qovuqcuqlar parçalanaraq prApe1-in (precursor Ape1) yetkinləşməsinə və sitoplazmanın parçalanmasına və bunun nəticəsində yaranan makromolekulların vakuolar permeazalar vasitəsilə yenidən döngüyə qaytarılmasına icazə verirlər. Bu şəkil Yorimitsu and Klionsky-nin məqaləsindəki (2005b) Şək.1-in qismən dəyişdirilmiş halıdır.

Bu dinamik yollar induksiya, yükün tanınması və qablaşdırılması, qovuqcuğun formalaşması, genişləməsi və tamamlanması, Atg zülal dövriyyəsi, qovuqcuğun vakuol/lizosom ilə birləşməsi, qovuqcuğun parçalanması və əmələ gələn makromolekulların yenidən dövriyyəsi kimi ardıcıl mərhələlərə bölünə bilər⁶ (**Şək. 2**). Belə ki, Atg zülalları bu dinamik yolların müxtəlif mərhələlərindəki funksiyalarına görə bir neçə fərqli qrupa bölünə bilərlər. Atg geni məhsullarının çoxlu ortoloqu daha ali eukariotlar olan qurdlar, həşəratlar, bitkilər və məməlilərdə də təyin edilib və öyrənilib və onların funksiyaları demək olar ki, maya göbələklərində olanlarla bənzərdir^{16,1}. Maya göbələklərindəki ATG geni məhsullarının

funksiyaları barədə davam edən araşdırmalar bizim autofagiya anlayışımızı böyük ölçüdə genişləndirəcək. Bu bölmədə biz əsasən autofagiyanın molekulyar mexanizmini maya göbələklərinə xüsusi diqqət verərək müzakirə edəcəyik.



Şəkil 2.

Autofagiyanın və autofagiya-əlaqəli yolların sxematik təsviri. Bu dinamik yollar induksiya, yükün tanınması və qablaşdırılması, qovuquğun nüvələşməsi, qovuquğun genişlənməsi və tamamlanması, Atg zülal döviyyəsi, qovuquğun vakuol/lizosom ilə birləşməsi, qovuquğun parçalanması və bu parçalama nəticəsində əmələ gələn makromolekulların yenidən döngüyə qaytarılması kimi ardıcıl mərhələlərə bölünə bilər. Atg zülalları bu dinamik yolların müxtəlif mərhələlərində göstərdikləri funksiyalara görə bir neçə müxtəlif qrupa bölünə bilərlər. Atg1 kompleksi

induksiya və Atg zülal dövriyyəsi daxil olmaqla yolun bir neçə müxtəlif mərhələsində fəaliyyət göstərə bilər. Qovucuğun əmələ gəlmə prosesi zamanı bir neçə Atg zülalı periferik yerlərlə Faqofor toplaşma yeri (FTY) {*PAS-phagophore assembly site*} arasındakı döngüdə iştirak edir. FTY-nin (*PAS*) faqofor formalaşmağında təşkilədiçi yer olduğu düşünülür. Bu şəkil Huang and Klionsky-nin məqaləsindəki (2007) Şəkil 1-in qismən dəyişdirilmiş halıdır.

2 Autofagiyanın Molekulyar Mexanizmi

2.1 Autofagiyanın İnduksiya və Tənzimlənməsi

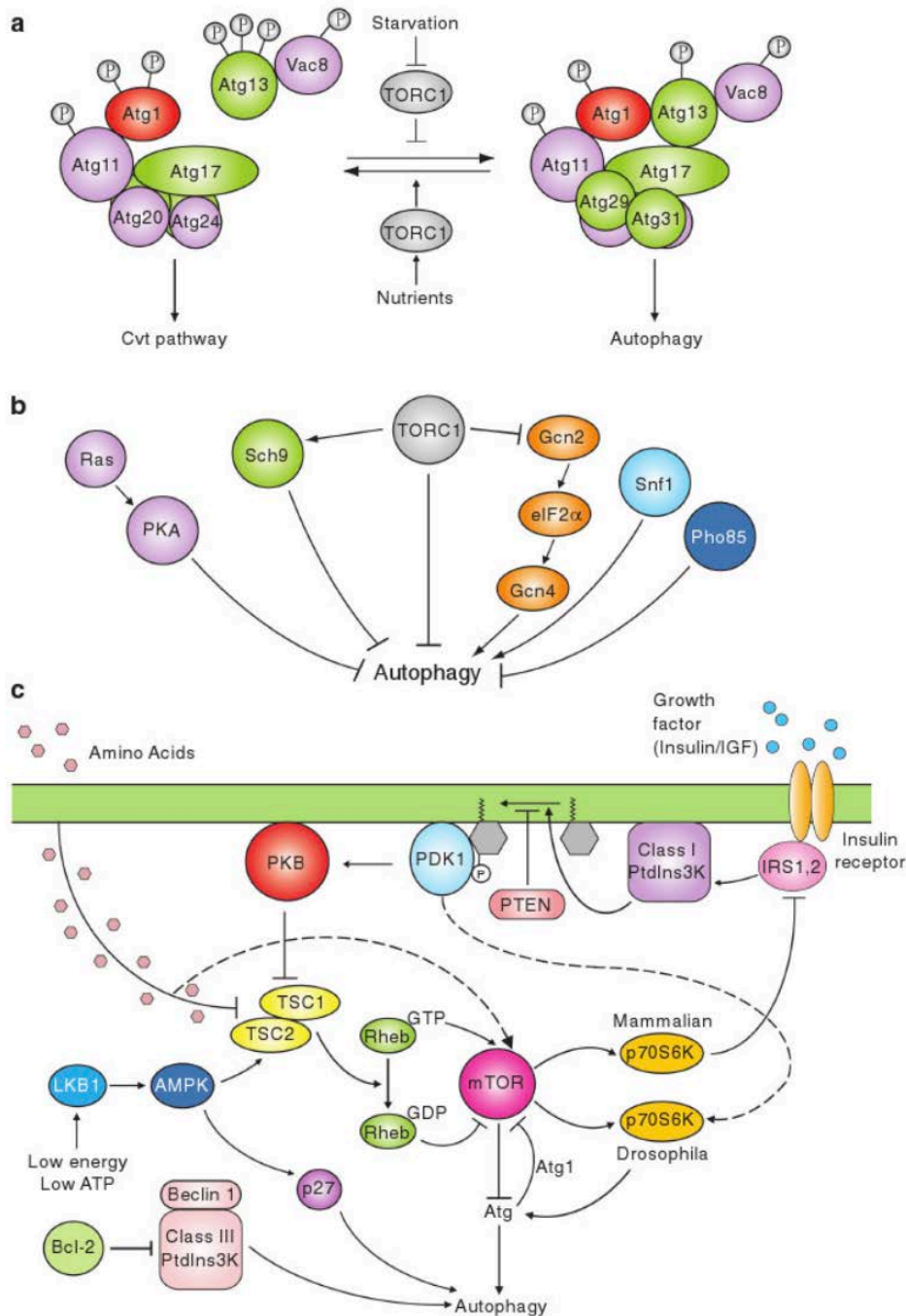
Autofagiyanın yetərsiz olması təhlükəli ola bilər^{17,18}, ancaq həddindən artıq autofagiya da zərərli ola bilər. Ona görə də autofagiya bütün eukariotlarda ciddi şəkildə tənzimlənen bir prosesdir. Autofagiyanın induksiya və tənzimlənməsi maya göbələklərində, məməli hüceyrələrində və Drozofildə ətraflı öyrənilib. Autofagiyanın tənzimlənməsində aşağıda ümumiləşdirilmiş olan bir neçə xəbərdaredici yol iştirak edir.

RZHK1 (*TORC1*)— rapamisinin zülal hədəfi(Rzh), yəni *Tor*(protein target of rapamycin) autofagiyanın induksiyaında böyük tənzimləyici rol oynayır¹⁹. Rzh(*Tor*), Rzh(*Tor*) kompleks 1 və 2 (RZHK1(*TORC1*) and RZHK2(*TORC2*)) adlı funksiya baxımından fərqli iki zülal kompleksini formalaşdırır²⁰ və autofagiyanın tənzimlənməsində əsas rol oynayan RZHK1(*TORC1*)-dir. Qida bolluğu olan hallarda RZHK1(*TORC1*) aktivdir və autofagiyanı inhibə edir, qida çatışmazlığı hallarında isə RZHK1(*TORC1*) inhibə edilərək autofagik fəaliyyətdə artışı səbəb olur²¹.

Maya göbələklərində RZHK1(*TORC1*) autofagiyaada iki yolla iştirak edir². Birincisi, RZHK1(*TORC1*) Atg1-Atg13-Atg17 kinaza kompleksini tənzimləyir (**Şək. 3a**). Bu üçlü kompleksin formalaşması artmış autofagik fəaliyyətlə bağlıdır. Bir serin treonin

kinaza olan Atg1 həm autofagiya, həm də Svy (Cvt) yolu üçün tələb olunan Atg zülallarının ən vaciblərindən biridir²². **Maya 2 hibrid analizi (M2H)** (*yeast two-hybrid screening data(Y2H)*) – [maya göbələklərindən istifadə olunaraq 2 zülal və ya 1 zülal və 1 DNT molekulu arasındakı qarşılıqlı fiziki əlaqələrin (məsələn bağlanma kimi) yoxlanılaraq zülal-zülal qarşılıqlı əlaqələrinin və zülal-DNT qarşılıqlı əlaqələrinin ortaya çıxarıldığı molekulyar biologiya texnologiyasıdır] və **affinliyə görə saflaşdırma** (*affinity isolation*) metodu, bir digər terminlə ifadə etsək **affinlik xromatoqrafiyası** [hər hansı bir qarışıqdan maddələrin affinliyinə görə qarışıqdan ayrılıb saflaşdırılması] nəticəsində əldə edilən biliklər Atg1-in Atg13 və Atg17 ilə kompleks şəklində olduğunu göstərir^{23,24}. Atg1 olmadığı zaman Atg17 və Atg13 arasında qarşılıqlı əlaqənin olmasına baxmayaraq Atg 13 olmadığı zaman Atg1 və Atg 17 arasında əlaqənin müşahidə edilməməsi Atg1 və Atg17 arasındakı qarşılıqlı əlaqəyə Atg13-ün vasitəçilik etdiyini düşündürür. RZHK1(*TORC1*) Atg13-ün fosforlanmış vəziyyətini bilavasitə və ya dolaylı yolla tənzimləyir. Qidadan zəngin şəraitdə Atg13 yüksək səviyyədə fosforlanmış olub Atg1 və Atg17-yə aşağı affinlik göstərir. RZHK1(*TORC1*) -in qida çatışmazlığı səbəbindən və ya rapamisin tərəfindən inaktivasiyasından sonra Atg13 sürətli şəkildə qismən defosforlanır və bu, Atg13-ün Atg1 və Atg17-yə affinliyində artışa səbəb olur. Atg13-ün fosforlanmasını tənzimləyən fosfatazaların kimliyi hal-hazırda məlum deyil. Atg1 ilə qismən fosforlanmış Atg13 və Atg17-nin qarşılıqlı əlaqəsi Atg1-in kinaza funksiyasının aktivləşməsinə icazə verir. Atg1 və Atg13 arasındakı və ya Atg13 və Atg17 arasındakı qarşılıqlı əlaqənin itməsi Atg1-in kinaza funksiyasının və autofagiyanın azalmasına gətirib çıxarır. Atg1-in kinaza funksiyası həm autofagiya, həm də Svy(Cvt) yolu üçün vacib olsa da, Svy(Cvt) yolu üçün daha yüksək miqdarda kinaza funksionallığı lazım olur^{23,24,25,26}. Ola bilsin ki, Atg1-in kinaza funksiyası autofagiyanın başlamasında yox, autofagik cavabın hansı böyüklükdə olmasında kritik rol oynayır²⁷. Atg1 kinazının növbəti substratı məlum deyil və Atg1-in autofagiyada əsasən kinaza funksiyası ilə mi, yoxsa autofagiya

kompleksinin formalaşmağında bir struktur olaraq mı rol oynadığı hələ də müzakirə altındadır. Belə ki, Atg1-Atg13-Atg17 üçlü kompleksinin funksiyalarından birinin ətraf mühitdəki dəyişikliklərə cavab olaraq autofagiya və Svy(Cvt) yolu arasında keçidi tənzimləmək olduğu düşünülür.



Şək. 3a–c.

Autofagiya induksiyasının maya göbələklərində və məməlilərdə tənzimlənməsi.

a) Maya göbələklərində autofagiya induksiyası üçün tənzimləyici kompleks. Maya göbələklərində autofagiya əsasən

aclığa olan cavab rekasiyasıdır və Rzh(*Tor*) kinaza kompleks 1(RZHK1) (*TORC1*) qida şəraitini hiss etdikdən sonra autofagiya induksiyasını tənzimləməyə başlayır. Atg1 kinaza həm autofagiya, həm də Svy(*Cvt*) yolu üçün vacib olub, autofagiya (yaşıl rəng ilə təsvir edilib) və ya Svy(*Cvt*) yolu (bənövşəyi rənglə təsvir olunub) üçün birinci növbədə tələb olunan bir neçə Atg zülalı ilə birgə Atg1-Atg13-Atg17 üçlü kompleksini yaradır. Qida maddələrindən zəngin şəraitdə RZHK1(*TORC1*) aktiv vəziyyətdədir və Atg13 yüksək səviyyədə forforlanmış olduğundan Atg1 və Atg17-yə aşağı affinlik göstərir. Qida çatışmazlığı şəraitinin səbəb olduğu RZHK1(*TORC1*) inaktivasiyasından sonra Atg13 sürətlə və qismən defosforlanır və bu da Atg1 və Atg17-ə yüksək affinliyə səbəb olur. Atg1-Atg13-Atg17 üçlü kompleksinin formalaşmağı Atg1 kinaza fəaliyyətinin aktivləşməsinə icazə verir. Atg1 kinaza da öz növbəsində ətraf mühit dəyişikliklərinə cavab olaraq autofagiya və Svy(*Cvt*) yolu arasında keçidi tənzimləyir. Bu üçlü kompleksin Atg20, Atg24, Atg29, Atg31 və Vak8 (*Vac8*) kimi əlavə komponentlərinin funksiyası məlum deyil. Atg11 qismən skelet zülalı kimi də funksiya göstərə bilər. Bu şəkil Yorimitsu and Klionsky-nin məqaləsindəki (2005b) şəkil 2-nin qismən dəyişdirilmiş halıdır.

b) Çoxlu qida-hissedicilərin kinaza signal yolları maya göbüləklərindəki autofagiya prosesində birləşirlər.

RZHK1(*TORC1*) autofagiya tənzimlənməsində böyük rol oynayır. Ras qida maddələrinin bol olduğu şəraitdə aktiv olub, autofagiyanı inhibə edən PKA-nın aktivləşməsinə icazə verir. Baxmayaraq ki, Sch9 həm də RZHK1(*TORC1*)-in bilavasitə substratıdır, PKA və Sch9 signal yolları bir-birilə əməkdaşlıq edərək Rzh(*Tor*) ilə paralel şəkildə autofagiyanın induksiyasını tənzimləyirlər. Sch9 *Saccharomyces cerevisiae*-nin kinazası olub RZH(*TOR*) yolunun böyük effektorlarından biridir və hüceyrədə müxtəlif prosesləri tənzimləyir. eBF2 α (eukariotik Translyasiya Başladıcı Faktor 2 α) (*eIF2 α - eukaryotic Translation Initiation Factor 2 α*) (kinaza signal yolu autofagiyanı müsbət şəkildə tənzimləyir və Gcn2, RZHK1(*TORC1*)-in bir digər hədəfi ola bilər. Ümumi kontrol derepressiya edilə bilməyən 2 *Gcn2(general control nonderepressible 2)*- yüklənməmiş tRNT-yə bağlanaraq amin turşu

çatışmazlığını hiss edən serin/treonin zülal kinazadır. *Gnc2* *Saccharomyces cerevisiae*-də bilinən tək eBF2 α -dır (eIF2 α). Maya göbələklərində autofagiyanın əlavə müsbət tənzimləyicisinə misal olaraq Saxaroza fermentləyə bilməyən 1 (Sfb1) Snf1-i və əlavə mənfi tənzimləyicisinə misal olaraq Fo85-i (Pho85) göstərmək olar.

c) Məməli hüceyrələrində autofagiyanın tənzimlənməsi.

mRzh(mTor)-un aktivləşməsi qida maddələri (amin turşular), enerji (ATF) və böyümə faktorları (insulin/IGF) kimi bir neçə faktordan asılıdır. İnsulin reseptorunun stimulasiyasına cavab olaraq I sinif fosfoinozitid 3-kinaza (Ptdİnz3K) (PtdIns3K) aktivləşir və plazma membranında Ptdİnz(3,4)P₂ (PtdIns(3,4)P₂) və Ptdİnz(3,4,5)P₃-ü (PtdIns(3,4,5)P₃) əmələ gətirir və əmələ gələn Ptdİnz(3,4)P₂ (PtdIns(3,4)P₂) və Ptdİnz(3,4,5)P₃ (PtdIns(3,4,5)P₃) 3-fosfoinozitid-asılı zülal kinaza 1(PAK1) (*PDK1*) və zülal kinaza B(ZKB) (*PKB*)/Akt-ni aktivləşdirir. PKB GTPaza-aktivləşdirici zülal kompleksi olan TSC1–TSC2-ni fosforlayır və inhibə edir. Bu da öz növbəsində mRzh-ni(mTor) aktivləşdirən Rheb-GTP-nin stabilləşməsinə səbəb olaraq autofagiyanın inhibisiyası ilə nəticələnir. PTEN, yəni 3' -fosfoinozitid fosfotaza PKB üzərində antaqonist təsir göstərir və autofagiya üzərində aktivləşdirici təsire malikdir. Həm mRzh(mTor), həm də PDK1 p70S6 kinazanı (p70S6K) aktivləşdirirlər. Bir modeldə qida maddələrindən zəngin şəraitdə S6K-nın aktivləşməsi birbaşa autofagiyanı aktivləşdirir ya da autofagiya dolaylı yolla PtdIns3K-nın inhibisiyası vasitəsilə aktivləşir. Hər iki halda da homeostatik məqsədlər üçün bazal səviyyədə autofagiya icazə verilir. Aclıq şəraitində mRzh(mTor)-un supressiyası S6K-nın aktivləşməsinin qarşısını alır və beləcə, həddindən artıq autofagiyanın baş verməsini məhdudlaşdırır və önləyir. Həm ATF (ATP), həm də amin turşuların çatışmazlığı mRzh(mTor)-un insulin siqnal yolundan asılı olmayan inaktivasiyası ilə nəticələnir. mRzh(mTor)-un aktivləşməsi ya amin turşular TSC1–TSC2 kompleksinin supresiyası yolu ilə, ya da mRzh(mTor) tərəfindən bilavasitə hissedilərək baş verir. Enerji çatışmazlığının yaratdığı stres, TSC1–TSC2-ni aktivləşdirərək mRzh(mTor)-u supresə edən LKB1–AMPK yolunun aktivləşməsinə səbəb olur. AMPK cyclin-kinaza

inhibitoru olan p27-ni fosforlayır və stabilləşdirir və beləliklə, autofagiyanın aktivləşməyinə səbəb olur. Anti-apoptotik zülal olan Bcl-2, Atg6-nın məməlilərdəki homoloqu olan Beclin 1 ilə əlaqəli olub, sinif III PtdIns3K kompleksini inhibə etdiyi halda, sinif III PtdIns3K kompleksi autofagiya aktivləşdirici rol oynayır. Drozofildə Atg1-in həddindən artıq ekspresiyasının Rzh(*Tor*) -un fəaliyyəti üzərində mənfi əks əlaqə yaratdığı da göstərilib.

Atg1-in homoloqları, *Dictyostelium discoideum*²⁷, *Drosophila melanogaster*²⁸, *C. Elegans*²⁹, *Arabidopsis thaliana*³⁰ və məməlilər kimi müxtəlif çoxhüceyrəli orqanizmlərin autofagiya prosesində iştirak edirlər^{31,32}. Drozofildə Atg1-in fəaliyyəti Maya göbələklərində olduğu kimi RZHK1(*TORC1*) tərəfindən requlyasiya edilir, çünki Atg1-in həddindən artıq ekspresiyası nəticəsində baş verən autofagiyanın induksiya prosesi RZHK1(*TORC1*) siqnal yolu pozulduğunda supresiya edilir³³. Normalda Atg1-in Rzh(*Tor*) fəaliyyətini azaltdığı əks əlaqə mexanizmi Atg1-in fəaliyyətində və autofagiya əlavə artışa səbəb olur (**Şəkl. 3c**). Bu çalışmalar həddindən artıq ekspresiya olunmuş Atg1-ə əsaslandığından onların fizioloji baxımdan önəmi hal-hazırda məlum deyil. Məməlilərdə koordinasiya edilməmiş (*uncoordinated*) 51-bənzəri kinaza 1 və 2 (ULK1 və Ulk2) funksiya baxımından Maya göbələklərindəki Atg1-in məməli homoloqlarına bərabərdirlər. Supresə edilmiş ULK1 autofagiyanın rapamisin tərəfindən induksiyasını inhibə edir və bu göstərir ki, Ulk1 autofagiya requlyasiyasında mTOR-dan daha sonrakı mərhələdə fəaliyyət göstərir³⁴.

Drozofildəki nəticənin əksinə ULK1 və ya ULK2-nin həddindən artıq ekspresiya olması autofagiyanı supresiya edir. Bundan əlavə kinaza funksiyasını itirmiş ULK mutantların orta dərəcədə ekspresiyası da autofagiyanı effektiv olaraq supresiya edir və bu, Ulk zülallarının kinaza fəaliyyətinin bu prosesdə çox vacib olduğunu göstərir³⁵. FIP200, autofagiya üçün tələb olunan son vaxtlarda təyin olunmuş Ulk-qarşılıqlı əlaqəli zülaldır³⁵. Ulk və FIP200 birlikdə fəaliyyət

göstəririlər və autofaqosomun əmələ gəlməsinin erkən mərhələsi üçün çox vacib olan bir kompleks yaradırlar; buna görə də Drozofildəki FIP200-ün Maya göbələklərindəki Atg17-nin qarşılığı olduğu düşünülür. Məməlilərdəki Atg13-ün funksional homoloqunun daha irəli səviyyədə təyini və analizi Maya göbələkləri və məməlilərdəki Atg1 kompleksi arasında funksional əlaqənin aydınlaşdırılmasına kömək edə bilər.

İkinci olaraq, RZHK1(*TORC1*) autofagiyanı özündən sonrakı (*downstream*) effektorlar vasitəsilə tənzimləyir. RZHK1(*TORC1*)-in miqdar göstəricilərinin (*readouts*) hamısı olmasa da, autofagiya daxil olmaqla bir neçəsi zülal fosfotaza tip 2A (PP2A) və/və ya 2A-əlaqəli zülal fosfotaza (Sit4) vasitəsilə tənzimlənir³⁶. PP2A və Sit4, Tap42 tərkibli müxtəlif komplekslərin içindədir. Qidanın bol olduğu şəraitdə Tap42 fosforlanmış olur və PP2A və Sit42 ilə möhkəm şəkildə birləşir. Aclıq və rapamisin Tap42-nin defosforlanmasına və dissosiasiyasına və ya konformasiyasında dəyişikliyə səbəb olur və bunlar Sit4-ün aktivasiyası ilə nəticələnir. RZHK1(*TORC1*) ya bilavasitə Tap42-ni fosforlaya bilər, ya da dolayı yolla Tip41 vasitəsilə Tap42-ni tənzimləyə bilər. RZHK1(*TORC1*)-in inaktivasiyasından sonra Tip41 defosforlanır və Tap42-yə yüksək affinitet qazanaraq Tap42-nin inhibisiyasına gətirib çıxarır. Bir hesabatda Tap42nin TORC1-dən autofagiyanı tənzimləmək üçün signal daşımadağı deyilir²³. Belə ki, daha yeni məlumata görə Tap42 bu prosesin neqativ tənzimlənməsində rol oynayır³⁷. Məməli hüceyrələrində qorunmuş Tor zülalı (mTor) qida səviyyəsini hiss edir və autofagiyanı tənzimləyir, ancaq requlyasiyanın mexanizmi göbələklərdəkindən daha mürəkkəb olub və hormonlara qarşı cavabsızdır. **Şəkil 3c**-də görüldüyü kimi mTor-dan yuxarıdakı tənzimləyici kaskada insulin reseptoru, insulin-reseptor substratları 1 və 2, I sinif fosfoinozid 3-kinaza (PtdIns3K), 3-fosfoinozid-asılı zülal kinaza 1 (PDK1) və zülal kinaza B (PKB)/Akt daxildir³⁸. mTOR-un fəaliyyəti GTP-əza Rheb üçün GTP-əza-aktivləşdirici zülal kimi funksiya göstərən heterodimer TSC1-TSC2 tərəfindən tənzimlənir. Rheb-in GDP-bağlı olan forması mTor-

u inhibə etdiyi halda, GTP-bağlı forması fermenti aktivləşdirir. PKB TSC1-TSC2 kompleksini fosforlayıb inhibə edərək, mTor siqnalizasiyasının aktivləşməsinə səbəb olur. 3'-fosfoinozid fosfotaza olan PTEN PKB-yə antagonist təsir edir və autofagiya üzərində aktivləşdirici təsirə malikdir³⁹. Ən yaxşı bilinən siqnalizasiya yolu mTor-dan aşağıda yerləşib və tərkibinə ribosomal vahid (**subunit**) S6 kinaza (p70S6K) kimi komponentlər daxildir. Bir modeldə S6K insulin siqnalizasiyasını azaltmaq üçün fosforlanmış IRS1 tərəfindən mTor siqnalizasiyası üzərində neqativ əks əlaqə ilə təsir göstərir və bu, autofagiyanın inhibitoru olan PtdIns(3,4,5)P₃-də azalma olmasına gətirib çıxarır; bu əks əlaqə mexanizmi hətta qida çatışmazlığı hallarında belə bazal səviyyədə autofagiya olmasını təmin edir².

Ras/cAMP-asılı zülal kinaza A (PKA) — TORC1-ə əlavə olaraq Ras/PKA siqnalizasiya yolu da Maya göbələklərindən tutmuş məməlilərə qədər bütün canlılarda autofagiyanı tənzimləyir^{40,41,42,43,44}. Maya göbələklərində qidanın bol olduğu şəraitdə iki ədəd önəmsiz kiçik GTPaza (Ras1 və Ras2) aktivləşir və adenilil tsiklazanı cAMP sintez etməsi üçün stimulyasiya edir. cAMP PKA tənzimləyici hissəyə (**subunit**) (Bcy1) bağlanaraq onun üç ədəd PKA katalitik hissəsindən (**subunitdən**) (Tpk1, Tpk2, and Tpk3) dissosiasiyasına icazə verir və bu, PKA-nın aktivləşməsi ilə nəticələnir⁴⁵. PKA-nın RAS2-nin dominant hiperaktiv alleli, RAS2G19V və ya BCY1-in silinməsi üzərindən olan təməl aktivasiyası autofagiyanın qida çatışmazlığı və ya rapamisin tərəfindən induksiyasının qarşısını aldığı halda, PKA-nın RAS2-nin dominant neqativ alleli, RAS2G22A tərəfindən inaktivasiyası rapamisinin olmadığı və qidanın bol olduğu şəraitdə autofagiyanı aktivləşdirir^{40,43}. Belə ki, TORC1-dən əlavə, Ras/PKA autofagiyanın bir digər neqativ nizamlayıcısıdır (**Şəkl. 3b**). Atg zülallarından Atg1, Atg13, Atg18 və Atg21 PKA fosforilyasiya yerlərinə malikdir. Ancaq hələ də Atg proteinlərinin PKA tərəfindən fosforilizasiyasının,

autofagiya ilə hər hansı bir funksional əlaqəsinin olub-olmadığı məlum deyildir⁴⁶.

Sch9, məməlilərdəki PKB-in və ya p70S6 kinazanın homoloqudur. Yeni məlumatlara əsasən, PKA və Sch9 signal yolları birlikdə funksiya göstərərək autofagiyanın induksiya olunmasını tənzimləyir⁴⁴. PKA və Sch9 signal yollarının eynivaxtlı inaktivasiyası TORC1 üzərindəki təsirlərindən asılı olmayaraq qida ilə zəngin şəraitdə autofagiyanı induksiya edir. Lakin TORC1-in inaktivasiyası da bu induksiya prosesi üzərində əlavə təsirə malikdir. Bu müşahidələr PKA, Sch9, TORC1 kimi molekulyar signal yollarının autofagiyanı qismən də olsa paralel olaraq tənzim etdikləri bir model təqdim edir (**Şəkil 3b**). TORC1 və Ras/PKA-nın hüceyrə böyüməsinin tənzimlənməsində iki paralel signal yolu olaraq müstəqil şəkildə fəaliyyət göstərmələri bu modeli dəstəkləyir⁴⁷. Bununla birlikdə Sch9, TORC1-in bilavasitə substratıdır; həmçinin, TORC1-in öz signallarını, PKA/RAS yolu boyunca bu yolda daha aşağıda yerləşən hədəflərə doğru ötürdüyü düşünülür⁴³. Buna görə də, autofagiya tənzimlənməsindəki təsirləri baxımından PKA, Sch9 və TORC1 arasındakı əlaqə hələ də aydın deyil.

eIF2α kinaza signal yolu və GCN4-ün ümumi kontrolu—Amin turşu aclığına cavab olaraq, tumurcuqlanan maya göbələkləri, çox sayda genin transkripsiyasını induksiya etmək üçün ümumi amin turşu nəzarətini başladır. Bu cavabda mərkəzi rol oynayan - gen ekspresiyasının əsas transkripsional aktivatoru olan GCN4-dür⁴⁸. GCN4 sintezi, əsas olaraq translyasiya səviyyəsində tənzimlənir. GCN4 mRNA-sının translyasiyası üzərindəki represiyanın aradan qalxması yəni, derepresiyası prosesi, bilinən yeganə substratı translyasiya başladıcı faktor 2 (eIF2) olan Gcn2 adlı protein kinazanı tələb edir. Həmçinin eIF2α kinaza signal yolu, maya göbələklərindən tutmuş məməlilərə kimi, autofagiya tənzimlənməsində də iştirak edir⁴⁹ (**Şəkil 3b**). GCN2 və ya GCN4-ün itməsi və ya eIF2-nin fosforana bilməyən mutant SUI2-S51A formasının varlığında, autofagik fəaliyyət pozulur. Qəribəlik ondadır

ki, TORC1, eIF2 α signal yolunda da iştirak edir, çünki rapamisin, ən azından qismən də olsa Ser577-nin defosforlaşması yolu ilə GCN2 - ni aktivləşdirir⁵⁰. Buna görə də, GcN2 TORC1-in bir digər hədəfi ola bilər.

Autofagiya prosesini tənzim edən digər signal yolları— Məməlilərdəki AMP-aktivləşmiş zülal kinazasının (AMPK) maya göbələklərində ən yaxın homoloqu olan Snf1 və tsiklin-asılı kinaza (CDK) olan Pho85 maya göbələklərində autofagiyanı antaqonistik olaraq tənzimləyirlər⁵¹ (**Şəkil 3b**). Qlükoza tərəfindən represiya olunan genlərin transkripsiyasının baş verməsi üçün, qlükoza tükəndiyi zaman aktivləşən Snf1, aclıqla aktivləşən autofagiya prosesi üçün tələb olunur. Baxmayaraq ki, müxtəlif Pcl zülallarının funksiyaları və onların tənzimlədiyi yollar hal-hazırda bilinməməkdədir, 10 fərqli tsiklinlə (Pcls) əlaqələri vasitəsilə çoxsaylı funksiyalara malik olan Pho85 autofagiya prosesinin neqativ requlyatoru olaraq qalır⁵².

Məməli hüceyrələrində autofagiya prosesini tənzimləmək üçün AMPK da lazımdır⁵³. Enerji çatışmazlığı zamanı, AMF toplanması TSC1/TSC2-nin aktivasiyası vasitəsilə mTOR-u inhibə edən LKB1-AMPK signal yolunun aktivləşməsinə səbəb olur⁵⁴. Bundan əlavə, AMPK bir tsiklin-kinaza inhibitoru olan P27-ni fosforlaşdıraraq onun stabilləşdirdiyi halda, ektopik ekspresiya olunan vəhşi-tip (wild-type) p27 və ya stabilizə olunmuş mutant P27 autofagiya prosesini induksiya edir⁵⁵.

2.2 The Cvt Yolu və Autofagiyanın Digər Selektiv Yolları

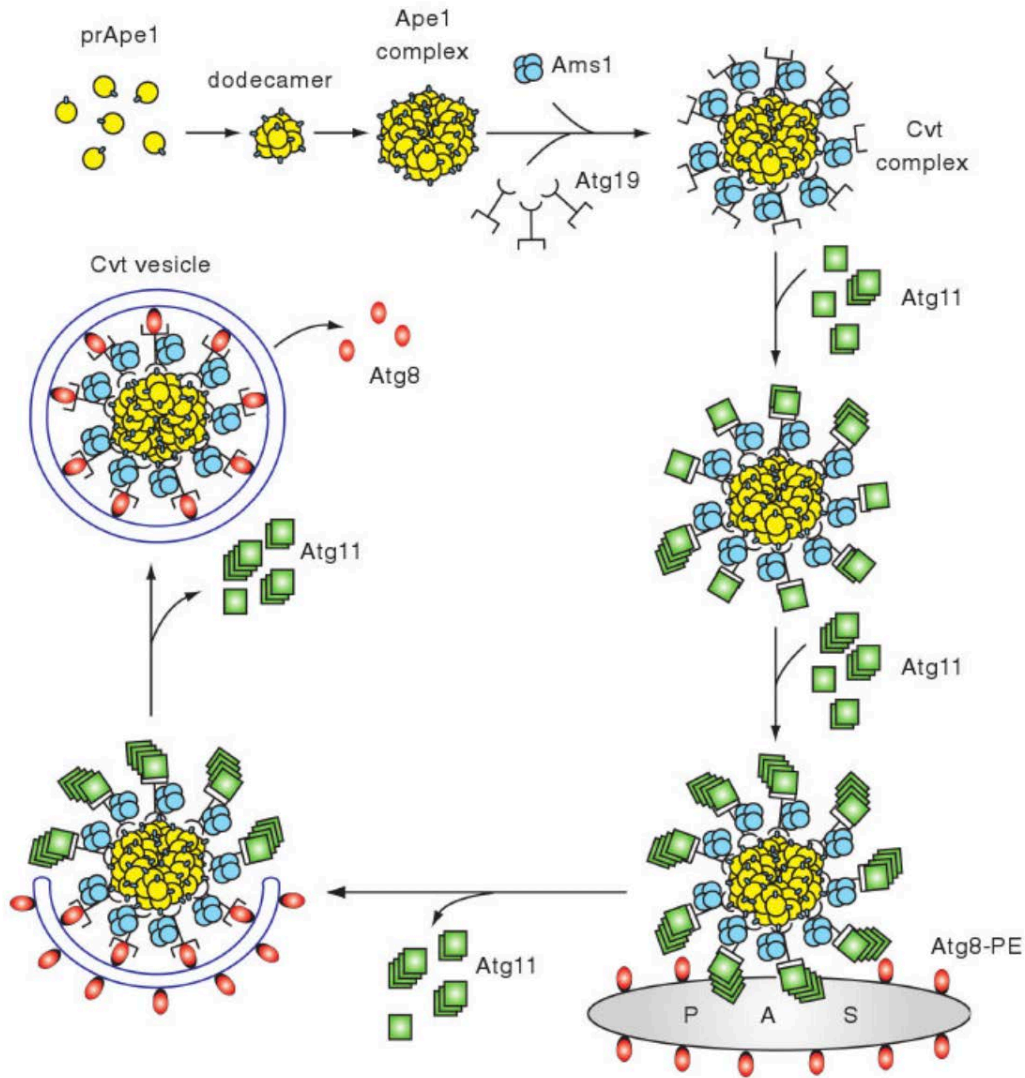
Autofagiya sitoplazmatik özək komponentlərin parçalanması üçün ümumilikdə seçici olmayan bir yol olaraq hesab edilsə də, son məlumatlar həm maya göbələklərində, həm də daha ali eukariotlarda çox sayda seçici autofagiya tipi olduğunu göstərir. Maya göbələklərində kütləvi autofagiya belə seçici ola bilər; sitozolik aldehid dehidrogenaza, Ald6 digər sitoplazmatik

zülallardan seçilərək autofaqosomun içərisinə daxil edilir⁵⁶. Bir neçə orqanel də seçici olaraq autofagiya vasitəsilə parçalanır. Məsələn, mitoxondirin seçici olaraq parçalanması, mitofagiya adlanır⁵⁷. Bu cür seçici prosesin mitoxondrial homoestazda vacib rol oynadığı düşünülür; buna baxmayaraq, mitoxondrial autofagiya prosesinin hansı mexanizm ilə baş verdiyi hələ də məlum deyil. Mitoxondrial parçalanma prosesinin elektron mikroskop vasitəsilə müşahidəsi göstərir ki, mitofagiya prosesi həm selektiv, həm də qeyri-selektiv yolla baş verir. Yeni məlumat göstərir ki, maya göbələklərində yetkin ribosomlar sürətli bir şəkildə ribofagiya adlanan proseslə autofagiya vasitəsilə parçalanırlar. Bu parçalanma prosesi xüsusi olaraq Ubp3/Bre5 ubikvitin proteazanın katalitik funksiyasını tələb edən seçici tipdə autofagiyanın iştirakı ilə baş verir⁵⁸.

Saccharomyces cerevisiae, *Pichia pastoris*, *Hansenula polymorpha*, and *Yarrowia lipolytica* kimi göbələklərdə preoksisomlar mikro- və makropeksofagiya adlı morfoloji baxımdan fərqli olan iki autofagik parçalanma prosesi vasitəsilə seçici olaraq udulub parçalanırlar^{59,12,60,61,62}. Göbələklər metanol və olein turşusu kimi xüsusi karbon qaynaqları üzərində böyüyəndə peroksisom çoxalması prosesi peroksisom metabolizmasının tələb olunduğu bu yeni fizioloji şərtlərə uyğunlaşmaq üçün aktivləşir. Peroksisom çoxalmasına ehtiyac olmadıqda və peroksisomlar sayca artıq olduqda (qlükoza kimi üstün tutulan karbon mənbəyinə keçid olduqda bu hallar müşahidə edilir), peroksisomlar sürətlə və spesifik olaraq parçalanırlar. Peksofagiyanın iki əsas forması olan mikro- və makropeksofagiya qeyri-spesifik olan autofagiya ilə özlərinin molekulyar komponentlərinin çoxunu bölüşürlər. Lakin Pex14-ün peroksisom membranında olması orqanelin makropeksofagiya sistemi tərəfindən spesifik olaraq tanınması üçün vacibdir⁶³. Svy(Cvt) signal yolu üçün tələb olunan bir spesifiklik faktoru olan Atg11 peroksisomların vakuola seçici olaraq daşınması üçün əsasdır⁶⁴. Yaxın zamanlarda müəyyən edilən peksofagiya-spesifik zülal PpAtg30, PpPex3, PpPex14, PpAtg11, və PpAtg17 kimi molekullarla qarşılıqlı təsirdə olaraq peroksisom reseptoru

funksiyası daşıyır və bu şəkildə peroksisomları peksofaqosomun formalaşdığı yerə çatdırır⁶⁵. Bundan əlavə, qeyri-selektiv autofagiyadan fərqli olaraq , Svy(Cvt) yolu və peksofagiya da daxil olmaqla selektiv autofagiya üçün tam funksional aktin sitoskeleti tələb olunur⁶⁶.

Cvt siqnal yolu spesifik autofagiyanın unikal tipidir. prApe1-in selektiv olaraq tanınması və qablaşdırılması mexanizmi nisbətən daha yaxşı öyrənilmişdir (**Şəkl.4**). Ape1 zülalı prekursor formada PreApe1 kimi sitoplazmada sintez olunur⁶⁷. Sintezdən sonra PreApe1 dodekamer⁶⁸ halında toplanır və dodekamer də daha sonra Ape 1 kompleksi adlanan daha böyük bir oliqomerik struktur kimi qablanır⁶⁹. preApe1 propeptidi vakoular hədəfləmə məlumatı daşıyır^{70,71}. Əlavə olaraq bu propeptid sitozolda Svy(Cvt) kompleksi yaratmaq üçün preApe1 və onun Atg19 adlanan reseptor zülalı arasındakı əlaqəyə vasitəçilik edir⁷². Digər Svy(Cvt) yükü olan Ams1 də Atg19-a bağlanır ancaq bağlandığı yer prApe1-in bağlandığı bölgədən fərqli olur və Ams1 Svy(Cvt) kompleksində toplanır⁶⁹. Daha sonra, bu Svy(Cvt) kompleksi ikiqat membranla əhatələnir və Svy(Cvt) qovuquğu formalaşır. Svy(Cvt) kompleksi həmçinin qida şəraitindən asılı olaraq autofagosomlar tərəfindən də udulub təcrid edilə bilər¹⁴, lakin bu da Atg19-un iştirak etdiyi seçici bir proseslə baş verir.



Şəkil 4.

Cvt yolunda yükün tanınması, qablaşdırılması və əhatə olunması hərəkətlərinin hazırkı sırası. Autofagiyanın seçici tipi olan Cvt yolu spesifik olaraq vakuolar hidrolazaları, prekursor Ape1 və Ams1-i vakuola daşıyır. Prekursor Ape1 sitozolda sintez olunur və dodekamerə toplanır, daha sonra isə daha böyük ölçüyə malik olan oligomerik strukturlara qablaşdırılır. Bu strukturlar Apeq kompleksi olaraq adlanırlar. Atg19, prApe1 propeptidinə bağlanaraq sitozolda Svy(Cvt) kompleksini əmələ gətirir; Ams1 də Atg19-a bağlanaraq bu kompleksə daxil edilir. Daha sonra Atg11 Atg19 ilə əlaqələnərək Svy(Cvt) kompleksini faqofor toplaşma yerinə, yəni FTY-ə (PAS) gətirmədə uzlaşdırıcı funksiyası görür. FTY(PAS) isə Svy(Cvt) qovucğunun potensial əmələgəlmə yeridir. **Şəkil 4**-də təsvir edildiyi kimi FTY(PAS)əhatəedici qovucğun yaranmasını təşkil edə bilər(organize) və ya FTY-nin (PAS) özü elə əhatəedici qovucquq ola bilər. Atg11 FTY-ə (PAS) istiqamətlənməzdən qabaq Svy(Cvt) kompleksi ilə bir yerə toplanır

və FTY-da (PAS) homodimer və ya homo-oligomer yaradır, baxmayaraq ki, bu öz-özünə əlaqənin FTY-ə (PAS) çatmazdan qabaq mı, yoxsa çatdıqdan sonra mı olduğu hələ dəqiq bilinmir. Atg8 də daxil olmaqla bir neçə Atg komponenti Atg11-dən asılı olmadan FTY-ə (PAS) çağırılır. Atg8 qovuqcuq əmələgəlməsi üçün Atg8—PE-ə konyuqə edilir. Atg8—PE Atg19 ilə qarşılıqlı əlaqədə olaraq Svy(Cvt) kompleksinin formalaşmaqda olan qovuqcuğa düzgün birləşməsinə icazə verir. Atg19 vakuola yük olaraq daşınan zülallarla birgə çatdırılır və hamısı vakuolda parçalanır. Skelet zülalı olan Atg11 isə qovuqcuq tamamlanmazdan qabaq Svy(Cvt) kompleksindən ayrılır, ancaq bu ayrılma prosesinin dəqiq zamanlaması və mexanizmi hələ də qaranlıqdır. Bu şəkil Yorimitsu and Klionsky-nin (2005b) məqaləsindəki Şək. 3-ün qismən dəyişdirilmiş halıdır.

Atg11 daha sonra Atg19 ilə birləşərək, Svy(Cvt) kompleksini, Svy(Cvt) qovuqcuğu və autofaqosomun formalaşmağı üçün potensial yer olan faqofor toplanma yerinə (FTY) (PAS) gətirmək üçün uzlaşdırıcı və ya əlaqələndirici zülal kimi fəaliyyət göstərir. Bəzi dəlillər Svy(Cvt) kompleksinin FTY-ə (PAS) yönləndirilməzdən əvvəl Atg11 ilə birləşdiyini dəstəkləyir⁷³. Lakin Atg11-in Svy(Cvt) kompleksini FTY-ə (PAS) doğru necə istiqamətləndirdiyi hələ də məlum deyil. Atg11-in C-terminal qıvrılmış-sarğac domeni (*coiled-coil domain*) Atg 9-un C terminalı ilə əlaqə qurmaq üçün kritik rola sahib olduğu halda, N terminal və ya mərkəzi qıvrılmış-sarğac domenləri isə Svy(Cvt) kompleksinin FTY-ə (PAS) doğru istiqamətlənməsi üçün vacib məlumat daşıyır⁷³. Atg 11, Atg 19-dan əlavə Atg1, Atg9, Atg17, Atg20 kimi zülallarla və özünün hissələri ilə də qarşılıqlı əlaqədə olur^{74,75,73}. Atg9 xarakterizə olunan tək transmembran zülalı olub, təcridedici qovuqcuğun formalaşmasında tələb olunur və At9, Atg1 və ya Atg19-dan asılı olmadan Atg11 ilə qarşılıqlı əlaqədə olur. Burdan belə nəticəyə gəlmək olar ki, hüceyrə daxilində çoxsaylı və bir-birindən fərqli Atg11 populyasiyaları mövcuddur. Atg11-in homo-oligomerizasiyası müxtəlif Atg11 populyasiyalarını onların qarşılıqlı

əlaqədə olduğu müxtəlif əməkdaşları ilə birgə FTY-ə (PAS) çatdırılmasını mümkün edə bilər⁷³. Atg9-dakı nöqtə mutasiyası (H192L) Atg9-un Atg11 ilə qarşılıqlı əlaqənsini pozaraq Atg9-un FTY-ə (PAS) doğru hərəkətinin qarşısını alır və kütləvi autofagiyanı yox, ancaq Svy(Cvt) yolunu blokada edir⁷⁵, bu da Atg11-in qeyri-spesifik autofagiya üçün tələb olunmadığı faktı ilə üst-üstə düşür⁶⁴.

Atg11–Atg19- yük kompleksi FTY-ə (PAS) çatdıqdan sonra Atg19, Atg8—PE ilə qarşılıqlı əlaqə quraraq Atg19 daşıyıcı kompleksinin formalaşmaqda olan Svy(Cvt) qovuqcuğuna (və ya autofaqosoma) transferini təmin edir; bu iki zülal arasındakı qarşılıqlı əlaqə Svy(Cvt) kompleksinin Svy(Cvt) qovuqcuğuna birləşdirilməsini təmin edə bilər⁶⁹. Donor və qəbuledici membranlar arasında dövr edən bir çox reseptor molekulunun əksinə, Atg19 yük daşıyan zülallar ilə birlikdə vakoula çatdırılır və orada parçalanır. Ancaq dayaq proteini olan Atg11 Svy(Cvt) kompleksinə bağlı halda qalmır. Belə ki, onun FTY-ə (PAS) çatdıqdan sonra Atg-19-dan sərbəstləşdirildiyi və qovuqcuğun yaranmazdan qabaq kompleksdən ayrıldığı düşünülür⁶⁴. Atg11-in Svy(Cvt) qovuqcuğunun tamamlanması prosesində rolu olub-olmadığı hələ bilinmir və Atg11-in sərbəstləşməsinin dəqiq zamanlaması və mexanizmi hələ də öyrənilir. Ancaq homo-oligomerizasiya olunmuş Atg11-in parçalara ayrılması Atg1–Atg13–Atg17 kinaza kompleksini tələb edir⁷³.

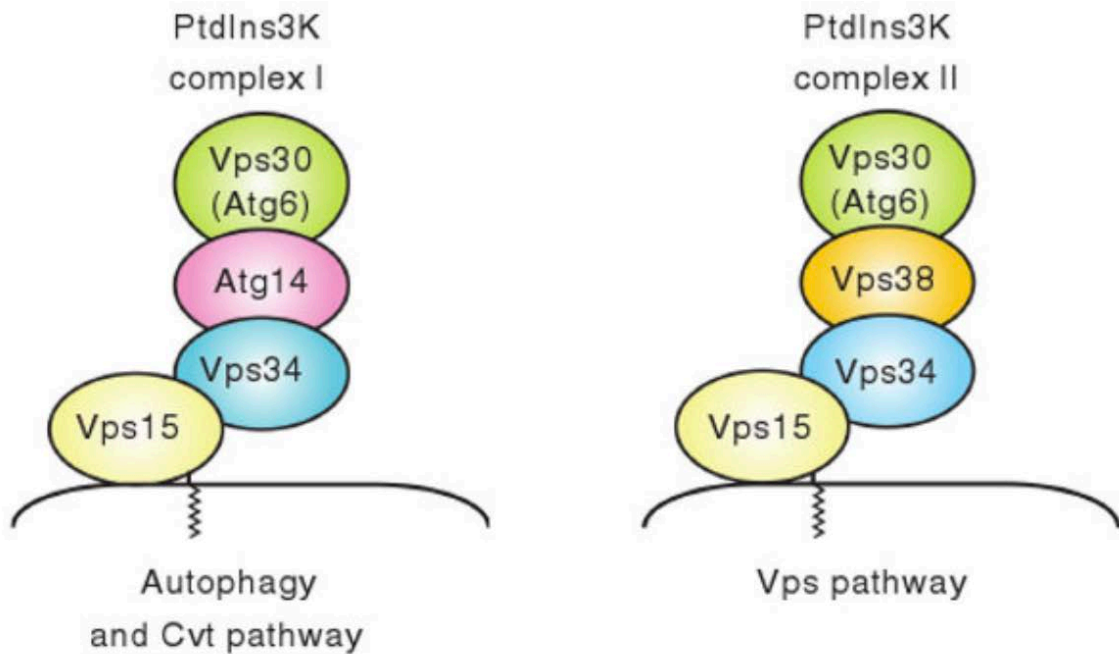
Əldə olunan məlumatlar göstərir ki, seçici autofagiya məməlilərdə də baş verir. Məsələn, p62/SQSTM1/ sekestrosom zülalı poliubikvitinləşmiş zülal aqreqatlarını daha çox tanıyır və Atg 8-in məməlilərdəki homoloqu olan LC3 ilə qarşılıqlı əlaqə vasitəsilə bu aqreqatları autofagik sistem ilə əlaqələndirir^{76,77}. Belə ki, p62, ubikvitinləşmiş zülalların autofaqosomlarla əlaqələndirilməsi üçün Atg19-a oxşar olan reseptor zülalı funksiyası göstərə bilər. Seçici autofagiyaya bir digər yeni nümunə kimi retikulosit yetişməsi zamanı mitoxondri və ribosomların aradan qaldırılmasını göstərmək olar⁷⁸. Bu nümunədə, Ulk1 selektiv autofagiyada mühüm rola malikdir, lakin o, aclıqla-aktivləşən kütləvi

autofagiyanın induksiyasında önəmli rola malik deyildir. Seçicilik həm də məməli hüceyrələrindəki peroksisom parçalanması zamanı da müşahidə edilir⁷⁹. Son olaraq , Mycobacterium tuberculosis və Streptococcus pyogenes kimi bəzi patogenlər autofagiya tərəfindən seçici olaraq hədəf alınır^{80,81}. Onu da qeyd etmək lazımdır ki, bakteriyalar və viruslar da daxil olmaqla bəzi patogenlər autofagiyanı sırf özlərinin sağ qalması üçün tənzimləyirlər^{81,82,83}. İnvaziv bir bakteriya olan Şigella bakteriyal səthdə IcsB sekresiya etməklə autofagiyadan qaçıb xilas ola bilir. IcsB zülalı VirG ilə qarşılıqlı əlaqədə olaraq VirG-nin Atg5 ilə birləşməsinin və spesifik autofagik təcridəlmə prosesini aktivləşdirməsinin qarşısını alır⁸².

Fosfatidilinozitol-3 Kinaza (PI3K) kompleksi :

III sinif fosfatidilinozitol 3-kinazanın (PtdIns3K) membrandakı müxtəlif nəqliyyat hadisələrində iştirak etdiyi məlumdur. Vps34 maya göbələklərində bilinən yeganə PtdIns3K-dir və o, ən az iki fərqli kompleks yaradır: kompleks I və II (**Şəkil 5**). Hər bir kompleksin 3 ümumi komponenti var: Vps34, Vps15 və Vps30/Atg6⁸⁴. Vps 34-ün funksiyası bir serin/treonin kinaza olan və Vps 34 -ün membrana bağlanması və fəaliyyəti üçün tələb olunan Vps15-dən asılıdır⁸⁵. Bu PtdIns3K komplekslərində Vps30/Atg6-nin rolu yaxşı öyrənilməmişdir. Bu üç ümumi komponent autofagiyada, Svy(Cvt) signal yolunda və CPY yolu ilə normalda gec (**late**) Holci aparatından vakuola daşınan karboksiopeptidaza Y-nin (CPY) çeşidləndirilməsində (**sorting**) rol oynayır. Əlavə olaraq, hər bir kompleks Atg 14 (kompleks I) və ya Vps 38 (kompleks II) adlı bir başqa spesifik komponentə malikdir və bu komponentin Vps 30 və Vps15–Vps34 arasında əlaqələndirici kimi fəaliyyət göstərdiyi düşünülür. Atg 14-ün N-terminal yarısındakı, qıvrılmış sarğac domenləri (**coiled-coils domains**) I və II-dən ibarət olan bölgə Vps34 və Vps30/Atg6 arasındakı əlaqədən cavabdehdir. Atg4-ün itməsi kompleks I-i pozaraq sadəcə autofagiya və Svy(Cvt) yolunda defektə səbəb olduğu halda, Vps38-in silinməsi kompleks II-ni pozur və təkəcə CPY yolunu blokada edir. Atg14 və ya Vps38-ün bu 2 PtdIns3K

komplekslərinə bağlanması Vps34-ü fərqli bölmələrə (compartments) istiqamətləndirməklə funksional spesiflik göstərir və beləcə müxtəlif zülal nəqliyyatı proseslərini tənzimləyir. Vps30 və Atg14 ilə kompleks yaratmış Vps15–Vps34 FTY-də (PAS) məskunlaşır və autofagiya və Svy(Cvt) yolunda fəaliyyət göstərir; Vps30 və Vps38 ilə kompleks yaradan Vps15–Vps34 endosomda məskunlaşır və CPY yolunda fəaliyyət göstərir⁸⁶.



Şək. 5.

Maya göbələklərindəki 2 fosfotidilinozitol 3-kinaza (PtdIns3K) kompleksi. Hər kompleks Vps15, Vps34, and Vps30/Atg6 adlı üç komponentdən ibarətdir. Vps34 PtdIns3K-nin fermentidir və Vps15-in tənzimləyici komponent olduğu düşünülür; Vps30/Atg6-nin funksiyası isə bilinmir. Bundan əlavə, hər kompleks Atg14 (kompleks I) və ya Vps38 (kompleks II) olmaqla başqa spesifik komponentə malikdir. Bu əlavə komponentlərin Vps30 və Vps15–Vps34 arasında əlaqələndirici kimi fəaliyyət göstərdiyi düşünülür. Kompleks I autofagiya və Cvt yolunda rol oynadığı halda, kompleks II, CPY və MVB yolları da daxil olmaqla Vps yolunda fəaliyyət göstərir. Bu şəkil Yorimitsu and Klionsky-nin məqaləsindəki (2005b) Şək. 5a-nın qismən dəyişdirilmiş halıdır.

PtdIns3K bir lipid kinazadır və Vps34-ün kinaza fəaliyyəti autofagiya və Svy(Cvt) yolu üçün vacibdir. PtdIns3K-nin mümkün rollarından

biri FTY-də (PAS) PtdIns(3)P sintez edərək PtdIns(3)P-bağlayıcı zülalları səfərbər etməkdir və onlar da öz növbəsində əlavə özlərindən sonrakı (downstream) efektorları FTY-yə (PAS) çağırır. PtdIns(3)P, PX (foks homologiyası) domen və FYVE (Fab1, YOTB, Vac1, and EEA1-nin baş hərflərindən əmələ gəlib) sink barmaq domeni (zinc finger domain) kimi xüsusi bağlanma yerləri olan zülallar tərəfindən bağlanır^{87,88}. Tərkibində PX domen olan Atg20 və Atg24 adlı iki zülal PtdIns(3)P-ə bağlanır⁸⁹. Bu zülallar sadəcə Svy(Cvt) yolu üçün vacib olub, kütləvi autofagiya üçün əsas deyil. Onların funksional PX domenləri membranın FTY-yə (PAS) və endosoma lokalizasiyası üçün vacibdir və membranın müvafiq olaraq PAS-a lokalizasiyası PtdIns3K kompleks I-dən, endosoma lokalizasiyası PtdIns3K kompleks II-dən asılıdır. CPY yolu Atg20 və ya Atg24 olmadığında normal şəkildə fəaliyyət göstərdiyindən endosomal lokalizasiyasının rolunun nə olduğu bilinmir; belə ki, endosomal lokalizasiya Svy(Cvt) daşınması üçün lazım deyil. Atg20 və Atg24 bir-birilə qarşılıqlı əlaqədədir və Atg24 və ola bilsin ki, Atg20 də Atg17 ilə qarşılıqlı əlaqədədir⁸⁹. Bundan əlavə Atg20 Atg11 ilə qarşılıqlı əlaqədədir⁷³. Beləliklə, Atg20–Atg24 kompleksi Atg1 kinaza kompleksinin bir parçası ola bilər. Baxmayaraq ki, Atg18 və Atg21 zülallarından heç birinin tərkibində fosfoinozidid-bağlayıcı domenlər yoxdur, onlar həm də PtdIns(3)P-bağlayıcı zülallardır. Hər iki zülal PtdIns3K kompleks I-dən asılı olaraq FTY-yə (PAS) çağırılırlar^{90,91}. Atg18-ə Atg9-un düzgün hərəkəti üçün ehtiyac var, ancaq Atg21-in funksiyası bilinmir.

Maya göbələklərinin əksinə, məməli hüceyrələrində iki tipdə PtdIns3K var: I sinif və III sinif PtdIns3K. Məməlilərdəki III sinif PtdIns3K olan hVps34 maya göbələklərindəki Vps34-ə oxşar olub, PtdIns(3)P-ni əmələ gətirir və autofagiyada aktivləşdirici rol oynayır (**Şək. 3c**). hVps34 öz tənzimləyicisi və eyni zamanda Vps15-in homoloqu olan p150 ilə və özünün köməkçi zülalı olan və Vps30/Atg6-nın homoloqu olan Beclin1 ilə kompleks əmələ gətirir^{92,93}. I sinif PtdIns3K PtdIns(3,4,5)P₃ əmələ gətirmək üçün PtdIns(4,5)P₂-dən substrat olaraq istifadə edir. I sinif PtdIns3K

plazma membranında fəaliyyət göstərir və insulin xəbərdaredici kaskadı vasitəsilə mRZH(mTOR) və PKB-ni aktivləşdirir⁹⁴. Amin turşuların mRZH-ni (mTOR) tənzimlədikləri böyük yola I sinif PtdIns3K tərəfindən yox, III sinif PtdIns3K olan hVps34-ün aktivasiyası ilə vasitəçilik edilir⁹⁵. Beləliklə, hVps34-ün məməlilərin hüceyrələrindəki autofagiyada həm də inhibitor təsiri ola bilər. PtdIns(3)P-ün məməlilərin hüceyrələrindəki xüsusi funksiyası hələ də aydınlaşdırılmayıb, ancaq maya göbələklərindəkinə bənzər funksiya göstərə bilər. Bundan əlavə, PtdIns(3)P-ün effektorları da aydın deyil. Atg20 və Atg24-ün məməlilərdə homoloqları yoxdur. Atg18-in insanda homoloqu var və PtdIns(3)P-yə bağlanır, ancaq onun autofagiyadakı rolu hələ aydınlaşdırılmayıb⁹⁶.

2.4 İki Ubikvitin-bənzəri Zülal Konyuqasiya Sistemi

Selektiv və selektiv olmayan avtofagiyada funksiya göstərən iki zülal konyuqasiya sistemi var və onların tərkibinə ubikvitin-bənzəri zülallar olan Atg12 və Atg8 (**Şəkl. 6**) daxildir⁹⁷. Hər iki konyuqasiya sistemi Maya göbələklərindən insanlara qədər təkamül boyu qorunmuşdur. Baxmayaraq ki, Atg12 və Atg8 ubikvitin ilə görünən bir ardıcılıq homologiyasına (*sequence homology*) malik deyil, onların hər biri C terminallarında bitkilərdəki Atg12 və məməlilərdəki Atg8 homoloqlarının kristal quruluşuna əsaslanan ubikvitin qatlantısına malikdir^{98,99}.

Atg12 Atg12-nin C-terminal glisini və Atg5-in daxili lizin qalığı arasındakı izopeptid rabitə ilə kovalent olaraq Atg5-ə bağlanıb. Konyuqasiya reaksiyası Atg7 və Atg10 adlı iki əlavə zülal tərəfindən kataliz edilir¹⁰⁰. Atg7, ATF-bağlayıcı bölgədəki E1 ubikvitin-aktivləşdirici ferment olan Uba1-ə və aktiv sistein qalığına özünün bütöv quruluşu baxımından olmasa da homoloqdur¹⁰¹. Atg10-un ubikvitin sistemində iştirak edən E2 fermentlərinə heç bir homologiya göstərməməsinə baxmayaraq, Atg10 E2 ubikvitin konyuqasiyaedici ferment kimi fəaliyyət göstərir¹⁰². Ubikvinasiya zamanı olduğu kimi Atg7 ATF-i hidroliz edir və bu Atg12-nin C-

terminal glisini və Atg7-nin aktiv sistein 507-si arasındakı yüksək enerjili tioester rəbitənin yaranması vasitəsilə Atg 12-nin aktivləşməsi ilə nəticələnir; daha sonra aktivləşmiş Atg12, Atg12—Atg10 tioesterini əmələ gətirmək üçün birbaşa Atg10-un aktiv sistein 507 bölgəsinə köçürülür; son olaraq Atg12 sonuncu konyuqasiyanın yaranması üçün hədəf zülal olan Atg5-ə köçürülür. Atg5 daha sonra qeyri-kovalent olaraq bir digər qıvrılmış-sarğac (*coiled-coil*) zülalı olan Atg16-ya bağlanaraq Atg16-nın homo-oligoizomerizasiyası üzərindən Atg12—Atg5—Atg16 multimerik quruluşunu əmələ gətirir. Bu multimerin Maya göbələklərindəki kütləsi təxminən 350 kDa-dur və Atg12—Atg5—Atg16 tetramerini təmsil etdiyi düşünülür. Bu autofagiya üçün funksiya baxımından vacibdir¹⁰³. Təzəlikdə Atg16 kompleksinin məməlilərdəki autofagiya prosesində membran biogenezi üçün lazım olan LC3 lipidasıya yerini müəyyənləşdirdiyi göstərilib¹⁰⁴.

İkinci ubikvitin-bənzəri zülal olan Atg8 membran lipidi olan fosfotidiletanolaminə (PE) konyuqasiya edilib¹⁰⁵. Təzəcə sintez olunmuş Atg8-in C-terminal arginin 117 qalığı əvvəlcə sistein proteazası olan Atg4 tərəfindən proteolitik olaraq bölünərək qlisinin açıqda qalmağına səbəb olur¹⁰⁶. Qlisin daha sonra Atg12—Atg5 konyuqasiya sistemində istifadə olunan eyni E1-bənzəri ferment olan Atg7-nin aktiv sistein 507 bölgəsinə bağlanır. Aktivləşmiş Atg8 daha sonra tioester rəbitəsi ilə aktiv sistein 234 qalığı bölgəsindəki başqa E2-bənzəri fermentə (Atg3) köçürülür. Atg3-ün sistein 234 lokusu ətrafındakı bölgə Atg10-nun sistein 133 lokusu ətrafındakı müvafiq bölgəyə qismən homologiya göstərir. Nəhayət Atg8, PE-nin amin qrupu və C-terminal qlisini arasındakı amid rəbitəsi vasitəsilə PE-yə konyuqasiya edilir. Atg8—PE inteqral membran zülalı olub membranlara sıx bağlıdır. Atg8—PE konyuqasiya prosesininin Atg7, Atg3 və axırını arginin qalığını itirmiş Atg8 olan Atg8 Δ R-dən istifadə edərək in vitro bərpası Atg7 və Atg3-ün minimal katalizatorlar olduğunu göstərir¹⁰⁷. Atg12—Atg5 konyuqasiyasından fərqli olaraq Atg8—PE konyuqasiyası Atg4 tərəfindən Atg8-in onun hədəf lipidindən sərbəstləşdirildiyi

geridöndürüləbilən prosesdir. Sərbəstləşmiş Atg8 təkrar tsiklə qaytarılaraq autofagiya və Svt (Cvt) yolunun effektiv şəkildə irəliləməsi üçün başqa konyuqasiya reaksiyasında istifadə olunur¹⁰⁶. Atg12 və Ag8 konyuqasiya sistemlərindən hər ikisi təkamül boyu qorunmuşdur. Maya göbələklərindəki Atg12—Atg5 konyuqasiya sistemlərinin (Atg5, Atg7, Atg10, and Atg12) hər bir komponentinin məməli homoloqları xarakterizə edilib və onlar Maya göbələklərindəki müvafiq komponentlərlə bənzər şəkildə funksiya göstərir^{108,109,101}. Məməli Atg16-bənzəri zülal olan Atg16L Atg12—Atg5 konyuqasiyası ilə təxminən 800 kDa zülal kompleksi əmələ gətirir və bu proses Atg16L homo-oligomerizasiyası vasitəçiliyi ilə baş verir¹¹⁰. Ən azı dörd ədəd məməli Atg8 homoloqu mövcuddur: MAP1LC3, GATE16, GABARAP and Atg8L. Bütün zülallar C-terminallarına yaxın yerləşmiş qorunmuş qlisin qalığına sahibdirlər və bütün zülallar Maya göbələklərində olduğu şəkildə Atg4, Atg7 və Atg3 katalizatorları vasitəsilə PE-yə konyuqasiya ediləblər^{111,112,113,114,115,116}. Onlar arasında autofaqosomal membranda ən çox miqdarda olan LC3-dür və o, autofaqosoma və autofagik fəaliyyətə nəzərət etmək üçün marker vəzifəsi daşıyır.

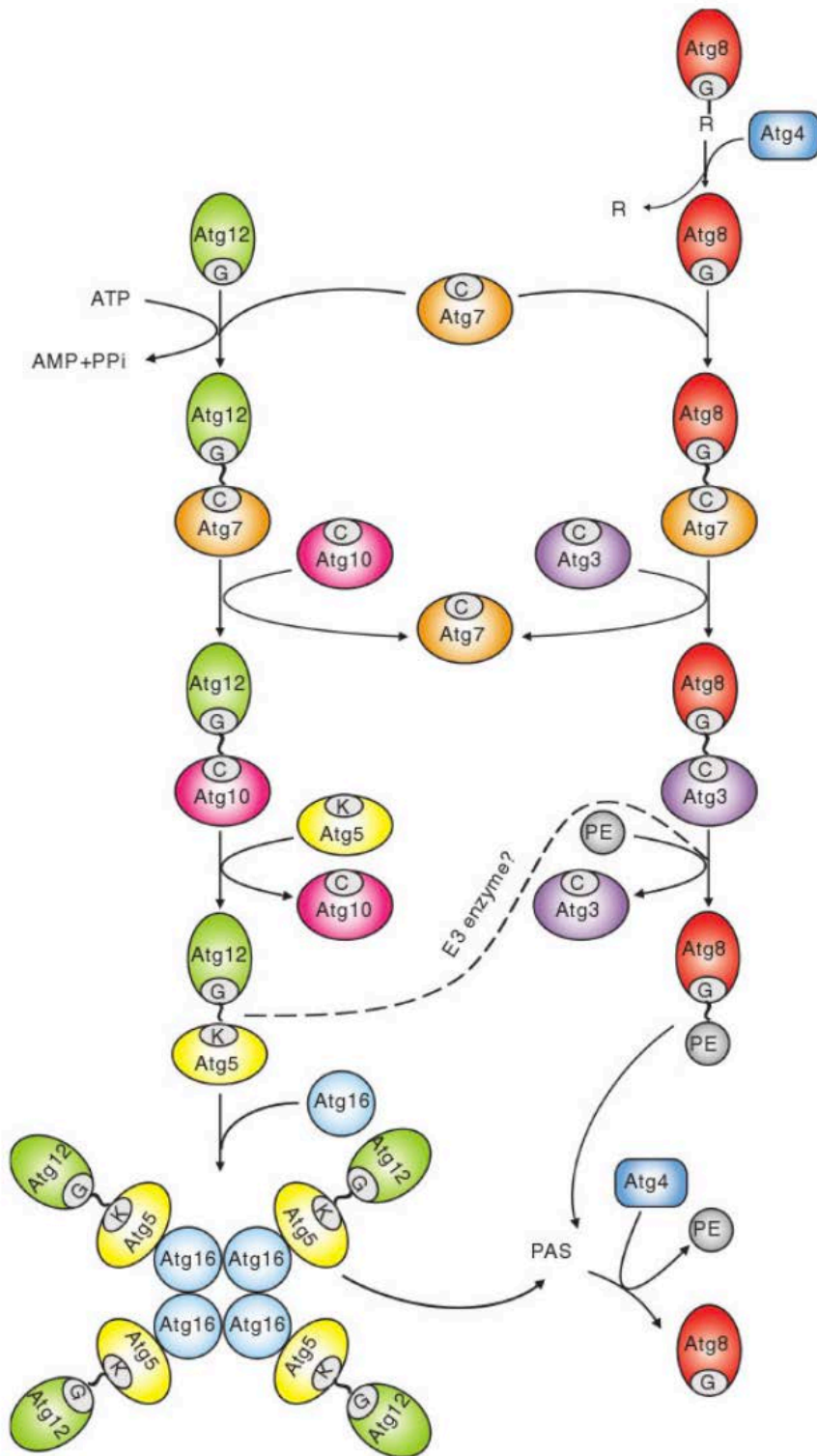
Autofaqosomun formalaşması zamanı həm Atg12—Atg5—Atg16 kompleksi, həm də Atg8—PE konyuqasiyası FTY-də (PAS) yerləşmiş olur^{117,118}. Elektron mikroskopik analiz açıq şəkildə göstərir ki, bu iki konyuqasiya genişlənən faqoforu bəzəyir^{112,119,120,110}. Atg12—Atg5—Atg16 kompleksi əsasən faqoforun xarici səthində yerləşmiş olub autofaqosomun tamamlanmasından əvvəl və ya sonra sitozola buraxılır. Bu müşahidələr göstərir ki, Atg12—Atg5—Atg16 kompleksi autofaqosomun əmələgəlməsi zamanı membran qatının genişlənməsini və/və ya qıvrılmasını həyata keçirən örtük komponent ola bilər. Ancaq yeni araşdırmalar göstərir ki, Atg8—PE konyuqasiyası üçün E3-ün mütləq olmamasına baxmayaraq¹²⁰, Atg12—Atg5 konyuqatı Atg8—PE konyuqasiyası üçün ubikvitin liqaza olan E3 kimi funksiya göstərə bilər (**Şəkl. 6**). Bunun əksinə Atg8—PE faqoforun hər iki tərəfində açıq-aşkar simmetrik yayılım

göstərir. Sekvesterasiyaedici qovuqcuğun xarici üzünün səthində yerləşən Atg8—PE-nin ikinci Atg-asılı (*Atg-dependent*) ayrılma ilə membrandan sərbəstləşdirildiyi halda, daxili populyasiya qovuqcuğun içərisində qalır və parçalanma yeri olan vakuol/lizosoma çatdırılır^{121,112,119}. Buna uyğun olaraq Atg8—PE membranın genişlənməsi və qovuqcuğun tamamlanmasında dayaq (*scaffold*) rolu oynayan bir digər nümayəndədir. Autofagiya başladıqdan sonra Atg8 zülalının miqdarı artır və bu, Svy(Cvt) ilə müqayisədə daha böyük ölçüyə malik autofaqosoma uyğunlaşmaq üçün lazımdır. Atg8-in miqdarı ilə sekvesterasiyaedici qovuqcuq arasında miqdar baxımından mütənasiblik olduğu bu yaxınlarda müəyyənləşdirildi¹²². Atg8-in həm də membranın tutunması və membrana yarımçıq birləşməsi vasitəsilə autofaqosomal membranın genişləndirilməsində rolu olduğu düşünülür¹²³.

Şək. 6.

İki ubikvitin-bənzəri zülal konyuqasiya sistemi. Atg12-nin Atg5-ə konyuqasiyası Atg7-nin aktivləşməsi ilə başlayır. Atg7 ubikvitin-aktivləşdirici ferment olan E1-ə homoloqdur. Atg7, ATF-i hidrolizə edərək Atg7-nin aktiv bölgədəki sisteini ilə Atg12-nin C-terminal bölgəsindəki glisini arasında tioester rabitəsinin yaranması vasitəsilə Atg12-nin aktivasiyasına səbəb olur; daha sonra aktivləşmiş Atg12, E2-bənzəri ferment olan Atg10-un aktiv bölgədəki sisteininə köçürülür. Bu ferment Atg12-nin aktivləşmiş qlisini ilə Atg5-in daxili lizin qalığı arasında izopeptid rabitəsi yaratmaqla Atg12-nin Atg5-ə konyuqasiyasını katalizləyir. Atg12—Atg5 son olaraq Atg16 ilə birləşir. Atg16, Atg12—Atg5—Atg16 multimerik strukturunun yaranmasına şərait yaratmaq üçün tetramer əmələ gətirir. Atg8—PE konyuqasiya prosesi Atg4 proteaza tərəfindən Atg8-in C-terminalındakı argininin qoparılması ilə başlayır. Atg8-in açıqda qalan (*exposed*) qlisini isə daha sonra eyni E1-bənzəri ferment olan Atg7-nin aktiv bölgəsindəki sisteininə birləşdirilir. Aktivləşmiş Atg8 daha sonra bir digər E2-bənzəri ferment olan Atg3-ə köçürülür. Sonda Atg3 Atg8-in

konyuqasiyasını katalizləyərək Atg8—PE-ni yaradır. Atg12—Atg5 konyuqatı Atg8—PE konyuqasiyasını təşviq etmək üçün ubikvitin liqaza-bənzəri ferment olan E3 kimi funksiya göstərə bilər. Həm Atg12—Atg5—Atg16 kompleksi, həm də Atg8—PE qovuqcuğun formalaşmasını asanlaşdırmaq üçün FTY-də (PAS) lokalizə olurlar. Əhatəedici qovuqcuğun xarici üzündə yerləşən Atg8—PE ikinci Atg4-asılı qoparıma prosesi ilə membrandan sərbəstləşdirilir. Bu şəkil Yorimitsu and Klionsky-nin (2005b) Şək. 4-ünün qismən dəyişdirilmiş halıdır.

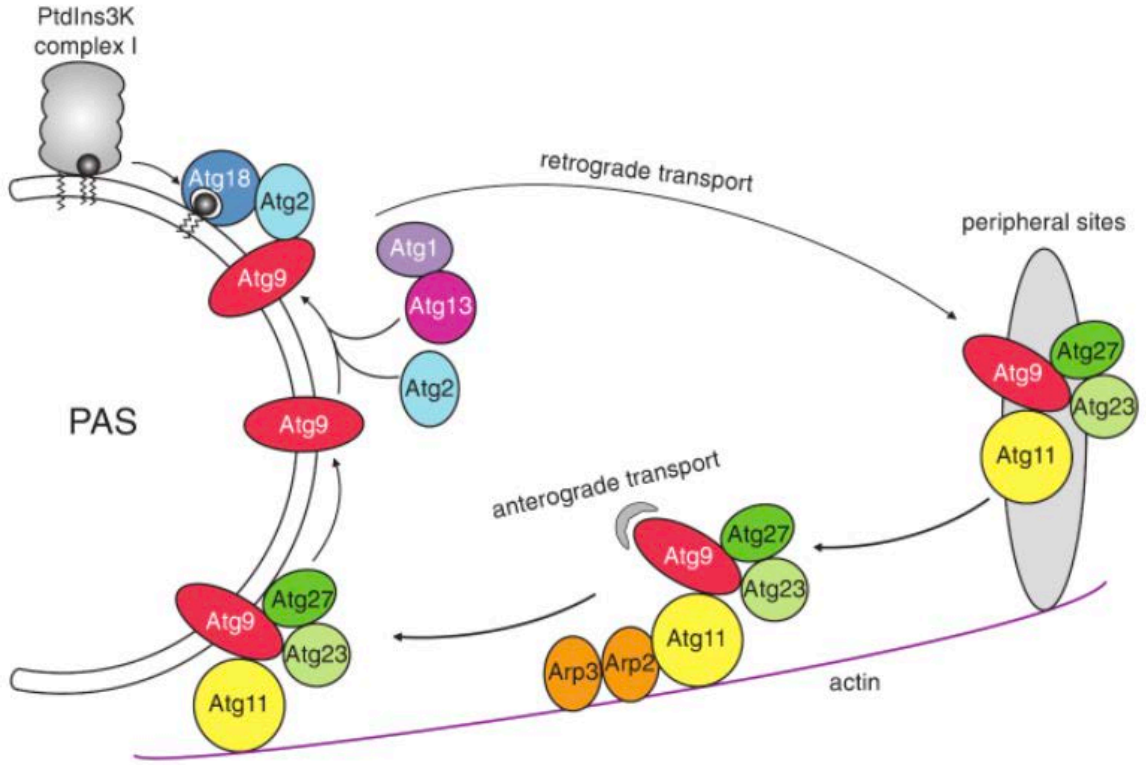


2.5 Atg9 və Dövredici Sistemləri

Autofaqosomun əmələ gəlməsində istifadə olunan lipidin mənbəyi və autofaqosom toplaşma yerinə lipidlərin hərəkət mexanizmi autofagiya ilə bağlı maraqlı suallardandır. Atg9-un integral membran zülalı olub toplaşma prosesi zamanı "membran

daşıyıcısı” olduğu düşünülür^{75,124}. Əsasən FTY-də (PAS) yalnızca bir nöqtəvi lokalizasiya göstərən əksər Atg zülallarından fərqli olaraq Atg9 FTY (PAS) da daxil olmaqla çoxlu nöqtəvi strukturlarda yerləşir^{125,126}. Atg9-un FTY (PAS) və qeyri-FTY (PAS) nöqtəvi strukturlar arasında dövr etməsi autofaqosomun formalaşmasında vacibdir. Potensial olaraq, bu dövretmə prosesi sayəsində membran belə FTY-yə (PAS) çatdırıla bilərdi. Maya göbələklərində mitoxondri səthində və ya mitoxondri səthinə yaxın yerləşmiş bir neçə Atg9 qeyri-FTY (PAS) nöqtəsi tapılıb¹²⁵. Atg9-un mitoxondri xarici membranının integral komponenti mi, yoxsa orqanelin membran komponenti və ya mitoxondri ilə əlaqəli başqa bir struktur mu olduğu hələ də aydın deyil. Bundan əlavə, Atg9-un periferik ehtiyat populyasiyası nə FTY (PAS), nə də mitoxondri ilə birlikdə yerləşməyib və bütün sitozol boyu yayılıb. Atg9-un bu hissəsinin FTY (PAS) və membran donor yerləri arasındakı nəqliyyat prosesində iştirak edən membranlarla əlaqəli olduğu düşünülür.

Atg9-un FTY-yə (PAS) doğru irəliyə doğru hərəkətində bir neçə Atg zülalı iştirak edir (**Şək. 7**). Atg11-in yoxluğunda Atg9-un FTY-yə (PAS) daşınması blokada olunur^{75,127}. Atg9-un FTY-yə (PAS) doğru effektiv anteroqrad (irəliyə doğru) hərəkətində Atg9 ilə dövredici vahid əmələ gətirən Atg23 və Atg27 də iştirak edir^{128,129}. Atg23 periferik membran zülalı olduğu halda, Atg27 tip I transmembran zülalıdır. Bu zülalların hər ikisi Svy(Cvt) yolu və effektiv autofagiya üçün tələb olunur. Atg9-a oxşar şəkildə onlar da FTY-də (PAS) və bir neçə digər nöqtəvi strukturlarda yerləşiblər. Hazırkı məlumatlara görə Atg9, Atg23 və Atg 27 ilə birlikdə bir heterotrimerik kompleksdə olub FTY-yə (PAS) birlikdə hərəkət edirlər. Floresan mikroskopa əsasən bu üç zülalın anteroqrad daşınması prosesi böyük ölçüdə bir-birindən qarşılıqlı asılıdır. Atg23 və ya Atg27-nin yoxluğunda Atg9 FTY-dən (PAS) başqa digər çoxlu nöqtəvi yerlərdə olduğu halda, Atg23, Atg9 və ya Atg27-nin olmadığı sitozolda geniş şəkildə yayılıb.



Şək. 7.

Atg9-un döngüsü. Maya göbələklərində Atg9 FTY (PAS) və qeyri-FTY(PAS) nöqtəvi strukturlar (periferik yerlər) arasında dövr edir və bu periferik yerlərin bəzilərinin mitoxondri səthində və ya yaxınlığında yerləşdiyi tapılıb. Atg9-un FTY-yə (PAS) effektiv anteroqrad hərəkəti üçün Atg11, Atg23, Atg27 və aktin sitoskeleti lazımdır. Atg9, Atg23 və Atg27 heterotrimerik kompleksdədirlər və onların FTY-yə (PAS) doğru hərəkəti bir-birlərindən asılı deyil. Atg11, Atg9 və aktin arasında, həmçinin Atg9 və Arp2/3 kompleksi arasında potensial uzlaşdırıcı kimi fəaliyyət göstərir. Arp2/3 kompleksi həm də yükü, yəni Atg9 və onun bağlı olduğu membran periferik yerlərdən FTY-yə (PAS) doğru itələmək üçün lazım olan gücü təmin edə bilər. Atg9-un FTY-dən (PAS) geriye, yəni periferik yerlərə daşınması Atg1–Atg13 kinaza kompleksindən, Atg2, Atg18 və PtdIns3K kompleks I-dən asılıdır. Atg1–Atg13 kompleksi Atg2-nin və PtdIns(3)P bağlayıcı zülal olan Atg18-in Atg9 ilə birləşməsini təşviq edir və bu üçlü kompleksin yaranmağı bir başqa membran çatdırılma döngüsü üçün Atg9-un çağırılma prosesini başlandır.

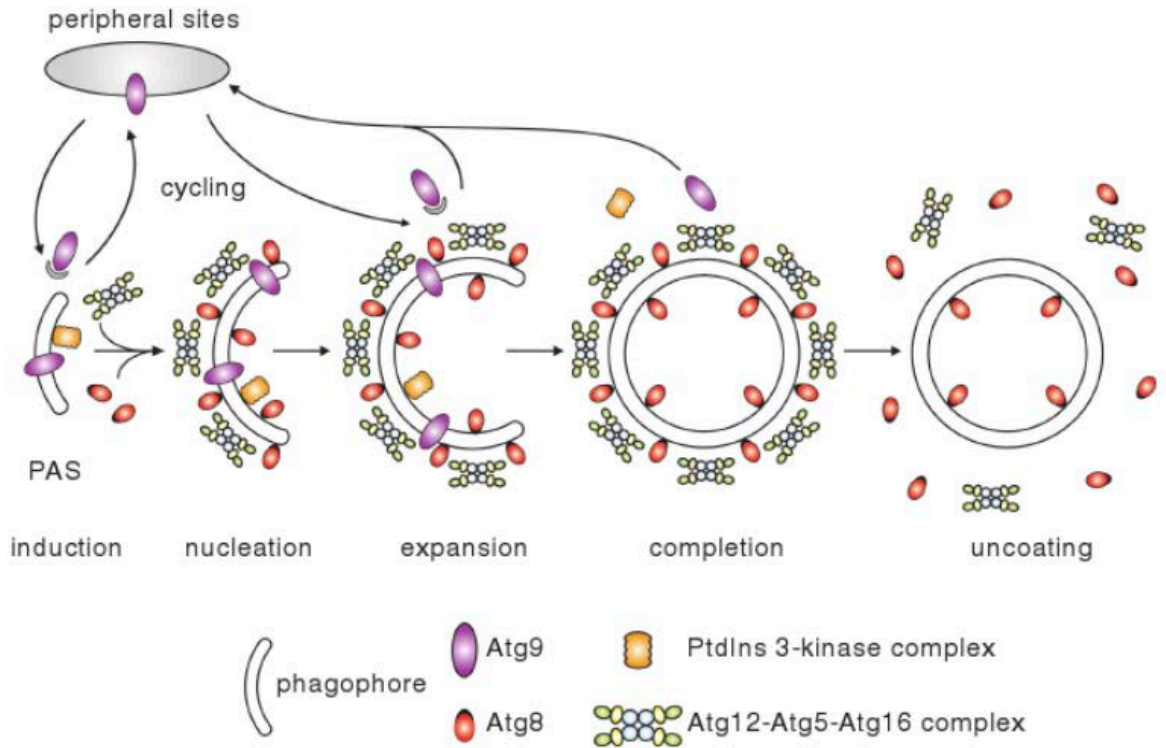
Aktin sitoskeleti həm də Atg9-un anteroqrad hərəkətində iştirak edir⁷⁵. Aktin sitoskeletinin pozulması Atg9-un FTY-yə (PAS) düzgün istiqamətləndirilməsinin qarşısını alır. Bundan əlavə, aktin-əlaqəli zülal yəni Arp2 Atg9 ilə qarşılıqlı əlaqədə olur və birbaşa Atg9 FTY(PAS) istiqamətləndirilməsinin dinamikasını tənzimləyir¹³⁰. Arp2, şaxələnmiş aktin filamentlərinin nüvələşmə faktoru olan Arp2/3 kompleksinin bir alt hissəciyidir. Belə ki, bir modelə görə Atg11 yük (Atg9 və aktin) arasında uzlaşdırıcı (*adaptor*) kimi funksiya göstərir və Arp2/3 kompleksi isə yükü (Atg9 və onun əlaqəli membranı) donor membrandan formalaşan autofaqosoma doğru itələmək üçün tələb olunan gücü təmin edir^{75,130,131}. Atg9-un FTY-dən (PAS) periferik qeyri-FTY(PAS) yerlərə geri çağırılması Atg1–Atg13 kinaza kompleksindən, Atg2, Atg18 və PtdIns3K kompleks I-dən asılıdır (**Şəkl. 7**) və bu zülallardan hər hansı birinin yoxluğu Atg9-un FTY-də (PAS) akkumulyasiyası ilə nəticələnər¹²⁶. Oxşar şəkildə, Atg23 və Atg27-nin çağırılması Atg1–Atg13 kompleksini tələb edir; ancaq təkcə Atg23-ün çağırılması belə yüksək səviyyədə Atg1 kinaza fəaliyyəti tələb edir^{128,129}. Atg2 və Atg18 qarşılıqlı əlaqədə olan iki periferik membran zülalıdır¹³². Onların hər ikisi də Atg9 ilə qarşılıqlı əlaqədə ola bilər və Atg18-in Atg9 ilə qarşılıqlı əlaqəsi Atg2 və Atg1-in olmasını tələb edir^{126,133}. Atg2 və Atg18-in FTY-də (PAS) lokalizasiyası həm bir-birindən, həm də Atg1, Atg13, Atg9 və PtdIns3K kompleks I-dən asılıdır. Atg18 PtdIns(3)P və PtdIns(3,5)P₂ adlı iki fosfoinozitidə bağlana bilər, ancaq onlardan sadəcə PtdIns(3)P autofagiya üçün vacibdir⁹¹. Bir modelə görə, Atg1–Atg13 kompleksi və Atg9 FTY-yə (PAS) ayrı-ayrılıqda çağırıldıqdan sonra Atg1–Atg13, Atg9-un Atg2 və Atg18 ilə qarşılıqlı əlaqəsini təşviq edir və bu üçlü kompleksin formalaşması Atg9-un başqa bir membran çatdırılma döngüsü üçün sərbəstləşməsinə icazə verir¹²⁶.

Məməlilərdəki Atg9 (mAtg9) üzərində aparılan yeni araşdırmalar onu göstərdi ki, mAtg9 nüvə qonşuluğundakı *trans*-Golgi şəbəkəsinə (TGN) və gec endosoma (*late endosome*) uyğun gələn

bölgədə yerləşib¹²⁶. Aclıq mAtg9-un TGN-dən dağılmış periferik endosomal hovuzaya yayılmasına təkan verir və Atg1-in məməlilərdəki ortoloqu olan Ulk1-in basdırılması mAtg9-u TGN-ə məhdudlaşdırır. Bu müşahidələr mAtg9-un TGN və gec endosom arasındakı və potensial olaraq TGN-dən formalaşmaqda olan autofagosoma çatdırılan membranların nəqliyyat vasitəsi olduğunu düşündürür.

2.6 De Novo Qovuqcuq Formalaşması

Bir çox hüceyrədaxili nəqliyyat proseslərindən fərqli olaraq autofagiya iki membranlı qovuqcuğun yenidən formalaşmasına məruz qalır. Bu ona görə *de novo* proses adlanır ki, sekvesterasiyaedici qovuqcuq mövcud orqaneldən tumurcuqlanma yolu ilə yaranmır. Onun əvəzinə bu qovuqcuqların faqofor adlanan bilinməyən qaynağın membran özəyinin genişlənməsi yolu ilə yarandığı düşünülür^{120,135,136}. **Şəkil 8** *de novo* qovuqcuq əmələgəlməsinin hipotetik modelini göstərir. Qovuqcuq formalaşmağı üçün təklif olunan yer faqofor toplaşma yeridir^{117,118}. Maya göbələklərində FTY (PAS) perivakuolar sahədir və demək olar ki, xüsusilə də bütün Atg zülallarının ən azından müvəqqəti də olsa məskunlaşdığı yer olaraq müəyyənləşdirilib¹¹⁸. FTY (PAS) həm də faqofor və onun əlaqəli Atg zülallarının hibridi olaraq da müəyyənləşdirilə bilər¹⁶. Məməli hüceyrələrində Atg zülallarının kolokalizasiyası da müşahidə edilib, ancaq daha ətrfali araşdırmalar hələ də əskikdir^{137,134}. Bu müşahidələrdə hüceyrələrdə maya göbələklərindəki FTY-yə (PAS) oxşar şəkildə autofagosom formalaşması üçün tək ixtisaslaşmış yer yoxdur və bunun əvəzinə hüceyrələr bəlkə də bir çox FTY-yə (PAS) uyğun gələn Atg zülal kolokalizasiyasının çoxlu yerlərini göstərirlər.



Şək. 8.

İki-qat membranın yaranması prosesinin sxematik təsviri.

FTY(PAS) Atg zülallarını çağıraraq autofaqosomun öncülü olan faqoforun nüvələşməsi və/və ya genişlənməsi prosesini asanlaşdırmağa xidmət edir. Atg9 və PtdIns3K kompleks I FTY-yə (PAS) nisbətən erkən çağırılırlar və membran nüvələşməsində fəaliyyət göstərilir. Atg9 periferik yerlərlə FTY (PAS) arasında dövr edir; potensial olaraq Atg9 dövriyyəsi genişlənməkdə olan membran yağlarını çatdırır. Qovuqcuq-formalaşdıran sistemin komponentləri olan Atg12—Atg5—Atg16 kompleksi və Atg8—PE konyuqatı daha sonra FTY-yə (PAS) çağırılır və əhatəedici membranın genişlənməsi prosesinə vasitəçilik edir. Atg12—Atg5—Atg16 kompleksi qismən örtük kimi hərəkət edə bilir və ya ubikvitin liqaza-bənzəri ferment olan E3 kimi funksiya göstərə bilir. Digər tərəfdən Atg8—PE isə bir struktur komponenti kimi qovuqcuğun uzanması prosesində fəaliyyət göstərir. Autofaqosom tamamlanmazdan qabaq və ya tamamlandıqdan dərhal sonra Atg komponentlərinin böyük əksəriyyəti bilinən örtük zülalları da daxil olmaqla qovuqcuqdan ayrılır; Atg8—PE-nin qovuqcuğun xarici səthində olan hissəsi normalda olduğu kimi Atg4 proteaza tərəfindən qoparılır. Nəhayət, əhatəedici qovuqcuq vakuol ilə

birdəşə bilər. FTY-nin (PAS) təbiətini başa düşmək bu yeni tipdə membran formalaşma prosesini öyrənmək üçün əsasdır. Belə ki, FTY (PAS) yaxşı xarakterizə edilməyib. Baxmayaraq ki, FTY-nin (PAS) vəzifəsi tam başa düşülməyib, bir modelə görə FTY(PAS), nüvələşmə prosesinin və/və ya Atg zülallarının çağırılması vasitəsilə autofaqosomun prekursoru olan faqoforun genişləndirilməsi prosesinin asanlaşdırılmasına xidmət edir^{120,132}. Bundan əlavə membran faqofora çatdırılmalıdır; baxmayaraq ki, bu membranın mənbəyi də aydın deyil, görünür onun tərkibinə erkən ifrazedici yol və maya göbələklərində mitoxondri daxildir^{138,125}.

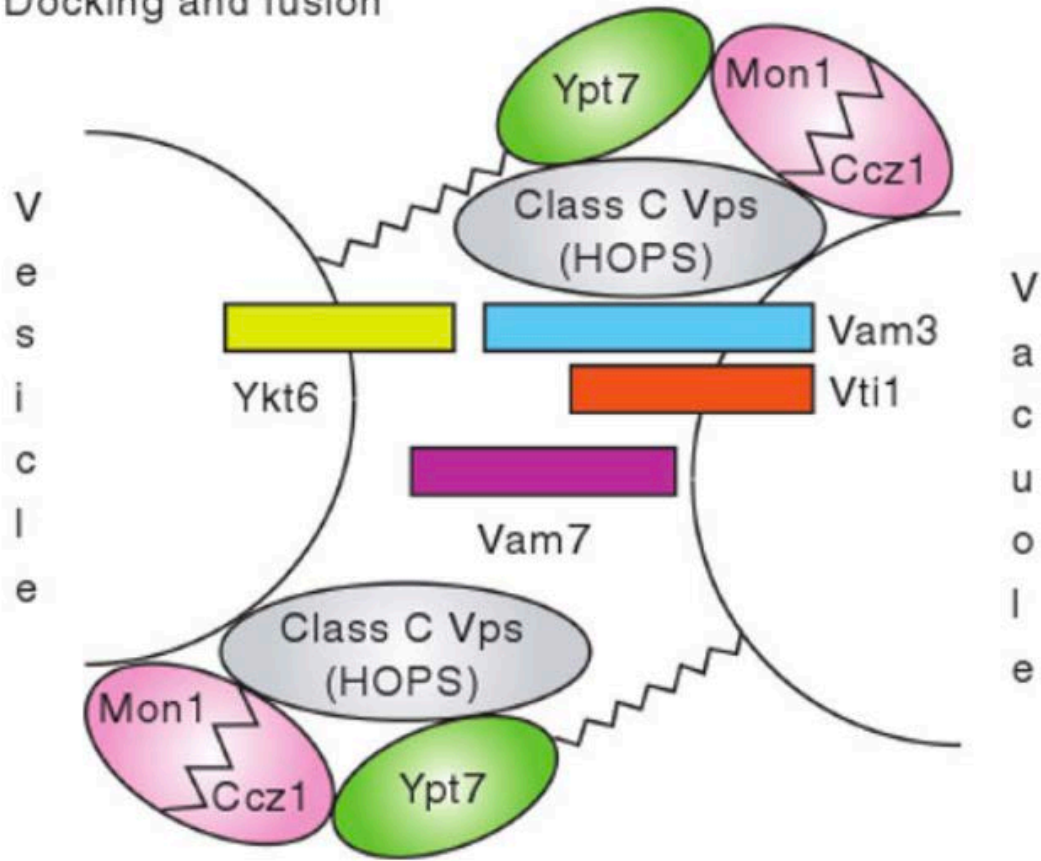
Son sistemativ analiz göstərdi ki, Atg zülalları FTY-yə (PAS) çağırılma prosesi üçün bir-birlərindən asılıdırlar^{25,139,132}. Xüsusilə Atg11 və Atg17 FTY (PAS) toplaşması prosesində skelet (*scaffold*) zülalları kimi fəaliyyət göstərir və bu o deməkdir ki, onlar geridə qalan Atg zülallarının növbəti çağırılmasından cavabdeh olan ilkin faktorlar ola bilərlər. Atg11 vegetativ (*qeyr-cinsi çoxalmanın olduğu şərait*) şəraitdə FTY(PAS) orqanizasiyası üçün vacib olduğu halda, Atg17 (və əlaqəli zülallar) acılıqda kritik rol oynayır. Atg11 və Atg17-nin olmadığı hüceyrələrdə digər Atg zülallarının FTY(PAS) lokalizasiyası tamamilə yoxdur. Acılığın induksiya etdiyi FTY(PAS) toplaşması isə Atg17-dən daha artığını tələb edir. Atg1–Atg13–Atg17 üçlü kompleksinə əlavə olaraq Atg17 də iki autofagiya-spesifik zülal olan Atg29 və Atg31 ilə qarşılıqlı əlaqədə olur¹³⁹. Atg11-in və Atg17 kompleksindəki komponentlərin hər hansı birinin əskik olduğu hüceyrələr, *atg11Δ atg17Δ* ikiqat mutant ilə əsasən eyni fenotipə malikdirlər və bu da onu göstərir ki, bu iki kompleks Atg zülallarının ardıcıl çağırılması prosesinin başladılmasında PAS-orqanizasiya mərkəzi kimi fəaliyyət göstərirlər^{25,139}. Baxmayaraq ki, Atg1 kinaza fəaliyyəti digər Atg zülallarının FTY-yə (PAS) çağırılması üçün əsas deyil, o, FTY-nin (PAS) dağılması və ya Atg zülallarının FTY-dən (PAS) ayrılma proseslərində rol oynaya bilər. Atg zülal döngüsü dinamik

prosesinin düzgün autofaqosom genişlənməsində kritik olduğu düşünülür²⁵. Bu konsept Atg1 kinaza fəaliyyətinin sekvesterasiyaedici qovuqcuğun ölçüsü ilə əlaqəli olduğu fikri ilə üst-üstə düşür¹³⁵. Geridə qalan Atg zülalları arasında Atg9 FTY-yə (PAS) digərləri ilə müqayisədə daha tez çağırılır və bu, həmçinin PtdIns3K kompleks I-in fəaliyyətini tələb edir. Atg9 və PtdIns3K kompleks I membran nüvələşməsində və Atg12—Atg5—Atg16 kompleksi və Atg8—PE konyuqatı da daxil olmaqla müəyyən Atg komponentlərinin membran nüvələşməsindən sonra çağırılması prosesinin asanlaşdırılmasında rol oynaya bilər. Onların yoxluğunda bu iki konyuqat formalaşa bilər, ancaq onlar heç bir nöqtəvi lokalizasiya olmadan sitozolda tamamilə yaygın şəkildə olacaqlar. Atg8—PE-nin FTY(PAS) lokalizasiyası Atg12—Atg5—Atg16 kompleksindən asılıdır¹¹⁸. Yuxarıda qeyd olunduğu kimi autofaqosom tamamlanmazdan qabaq ya da tamamlandıqdan dərhal sonra Atg komponentlərinin əksəriyyəti qovuqcuqdan ayrılır. Sekvesterasiyaedici qovuqcuq vakuolla birləşməzdən qabaq tamamlanmalıdır. Atg12—Atg5—Atg16 kompleksi vaxtından əvvəl birləşmənin qarşısını almaq üçün qismən örtük kimi fəaliyyət göstərə bilər; Atg8—PE-in qovuqcuğun xarici səthində olan hissəsi də bənzər funksiya göstərə bilər. Atg8—PE normalda qovuqcuq birləşməsindən qabaq Atg proteaza tərəfindən parçalanır. Bundan əlavə iki-qat membranlı qovuqcuğun tamamlanmasını hiss edə bilən və qovuqcuq-formalaşdırıcı sistemin dağılması prosesini başladan müəyyən naməlum faktorlar ola bilər. Atg1 bunun üçün mümkün namizədlərdən biri ola bilər, çünki o, Atg9 çağırılması və Atg11-in FTY-də (PAS) sərbəstləşdirilməsi kimi qovuqcuq yaranma prosesinin daha sonrakı mərhələlərində fəaliyyət göstərir və onun kinaza fəaliyyətinin də FTY-nin (PAS) dağılması prosesində və ya Atg zülallarının FTY-dən (PAS) ayrılmasında rol oynadığı düşünülür^{25,126,73}.

2.7 Qovuqcuğun Vakuol üzərində Yerləşməsi (*Docking*) və Vakuol ilə Bütünləşməsi

İki-qat membranlı qovuqcuq formalaşdıqdan sonra bu qovuqcuq birləşmə prosesi üçün vakuola istiqamətləndirilir. Molekulyar genetik araşdırmaları göstərir ki, homotipik vakuol birləşməsində iştirak edən sistem həm də autofaqosomun və Svy(Cvt) qovuqcuqlarının vakuol ilə birləşməsi üçün vacibdir (**Şək. 9**). Bu sistemə Vam3, Vam7, Vit1 kimi SNARE zülalları və Ykt6, NSF Sec18, α -SNAP Sec17, Rab GTP-aza Ypt7 və klas C Vps/HOPS kompleksi daxildir; bu yaxınlarda müəyyən edilən Mon1 və Ccz1 adlı iki zülal da bu birləşmə sisteminin bir parçasıdır^{2,140}. Mon1 və Ccz1 bir kompleks yaradırlar və onlar Ypt7-asılı bağlanma/yerləşmə (*tethering/docking*) mərhələsi üçün kritikdir və bu mərhələnin nəticəsində SNARE kompleksi formalaşır¹⁴¹. Klas C Vps/HOPS kompleksi bağlanma/yerləşmə mərhələsində Ypt7 ilə birgə fəaliyyət göstərir¹⁴⁰. Bu bütünləşmə prosesindən sonra daxili tək-membranlı qovuqcuq olan autofaqosom vakuol boşluğuna buraxılır və autofagik cisimcik adlandırılır.

Docking and fusion



Şək. 9.

Qovucuğun vakuol üzərinə yerləşməsi və vakuol ilə birləşməsi. SNARE zülalları olan Vam3, Vam7, Vti1 və Ykt6, autofaqosomun vakuol ilə birləşməsi prosesi də daxil olmaqla müxtəlif membran birləşmə proseslərində rol oynayır. Həmçinin Ypt7-asılı tutunma/möhkəmlənmə mərhələsində birlikdə fəaliyyət göstərən Mon1–Ccz1 kompleksi və sinif C Vps/HOPS kompleksi də göstərilib. Bu şəkil Klionsky-nin (2005b) Şək. 7-sinin qismən dəyişdirilmiş halıdır.

Məməli hüceyrələrində autofaqosomun yetkinləşməsinə erkən və gec endosomdan, eləcə də lizosomdan başlanğıc götürən qovucuqlarla bir neçə bütünləşmə prosesi daxildir. Endosomlarla bütünləşərək amfiosom yaranmağı endositik və autofagik yolların yaxınlaşmağına icazə verir; və daha sonra autofaqosomların və ya amfiosomların lizosomlarla bütünləşməsi autolizosomları əmələ gətirir^{142,143}. Kompartimentin dəqiq təbiətini ayırd etməyin mümkün

olmadığı bəzi hallarda hər üç autofagik strukturu (autofaqosomlar, amfisomlar və autolizosomlar) əhatə edən “autofagik vakuollar” terminindən istifadə olunur. Məməlilərdəki Vtilb autofaqosomların multivezikulyar endosomlarla bütünləşmə prosesində iştirak edir¹⁴⁴ və Rab GTP-aza Rab7 lizosomlarla bütünləşmə prosesində rol oynayır¹⁴⁵.

2.8 Qovuqcuğun Parçalanması və Bunun Nəticəsində Yaranan Makromolekulların Döngüsü (*Recycling*)

Vakuola buraxıldıqdan sonra tək-membranlı subvakuolar qovuqcuq olan autofagik və ya Svy(Cvt) cisimciyi vakuol boşluğunda parçalanır. Bu proses vakuolar asidifikasiya da daxil olmaqla düzgün vakuol funksiyası və Pep4 və Prb1 də daxil olmaqla vakuolda yerləşən hidrolazaların fəaliyyətindən asılıdır. Bu faktorlara əlavə olaraq tanınmış lipaza olan Atg15 də bu mərhələdə rol oynayır və görünür ki, autofagik/Svy(Cvt) cisimciyinin intravakuolar parçalanmasında birbaşa fəaliyyət göstərir^{146,147}. Atg15-in tərkibində lipaza aktiv-bölgə motivi var və müvafiq aktiv bölgələrdəki mutasiyalar onun funksiyasını ləğv edir. Atg15 multivezikulyar cisimcik (MVB) yolu vasitəsilə vakuolar boşluğa istiqamətləndirilir¹⁴⁸. Görünür Atg15 ümumi lipaza kimi fəaliyyət göstərir, çünki o həm də intravakuolar MVB qovuqcuqlarının parçalanmasında iştirak edir.

Autofagiyanın əsas məqsədi sitoplazmanı parçalamaq və bunun nəticəsində ortaya çıxan makromolekulları müxtəlif stress hallarını aradan qaldırmada vacib olan komponentlərin sintezi üçün yenidən döngüyə qaytarmaqdır. Müvafiq olaraq, əmələ gələn makromolekullar yenidən istifadə olunmaq üçün sitozola geri buraxılmalıdırlar; ancaq bu proses haqda çox az bilinir. Vakuol membranında tanınmış amin turşu qovucusu (*effluxer*) olan Atg22-

nin autofagik parçalanma nəticəsində yaranan leysin və digər amin turşuların hüceyrədən atılma (*efflux*) prosesinə vasitəçilik etmədə bənzər rol oynadığı tapılıb¹⁴⁹. Bundan əlavə, görünür, Avt3 və Avt4 eyni permeaza ailəsinin bir parçasıdır¹⁵⁰. Hər üç lazımsız vakuolar qovucuğun (*efflukser*) aradan qaldırılmasından sonra hüceyrələr sürətlə aclıq şəraitində həyat qabiliyyətlərini itirdikləri halda, leysin əlavə edilməsi həyat qabiliyyətini qismən bərpa edir. Baxmayaraq ki, Atg22-nin məməlilərdəki homoloqu hələ müəyyənləşdirilməyib, Avt3 və Avt4-nin homoloqları müvafiq olaraq SLC36A1/LYAAT-1 (lizosomal amin turşu transporteri 1)¹⁵¹ və SLC36A4/LYAAT-2 kimi müəyyənləşdirilib. Autofagiyanın karbohidrat və ya lipidlər kimi digər makromolekulların döngüsünə necə kömək etdiyi hələ də bilinmir.

3 Nəticə

Eukariotlarda qorunmuş hüceyrəvi parçalanma yolu olaraq autofagiya hüceyrələri müxtəlif stress halları zamanı qoruyur. Autofagiyadakı pozğunluqlar insandakı xəstəliklərlə əlaqələndirilib və bu da onun kritik fizioloji əhəmiyyətinin göstəricisidir. Autofagiyaya sitoplazmanın udulması və sitoplazmanın vakuola/lizosoma çatdırılması üçün dinamik membran yenidən qurulması prosesi daxildir. Maya göbələklərində və digər model olaraq istifadə olunan sistemlərdəki araşdırmalar sayəsində autofagiyanın molekulyar mexanizminin anlaşılmasında önəmli irəliləyişlər əldə edilib. Hazırda göbələklərdə autofagiya, peksofagiya və Svy(Cvt) yolunun analizləri nəticəsində bu yolları idarə edən özünəməxsus molekulyar sistemi təşkil edən 31 ATG geni müəyyənləşdirilib, ancaq Atg zülallarının funksiyaları ilə bağlı başlıca biokimyəvi suallar, xüsusilə ardıcıl qovuqcuq toplaşması prosesi və lipid membranın mənbəyi kimi sekvesterasiyaedici qovuqcuğun yaranması ilə bağlı suallar hələ də cavablandırılmayıb. Bundan əlavə seçici tipdəki autofagiyanın daha çox nümunəsi ortaya çıxdıqca autofagiyanın spesifik təbiəti üzərində hazırda

davam etməkdə olan araşdırmalar daha çox əhəmiyyət kəsb etməyə başlayır. Maya göbələkləri bu suallara cavab tapmada güclü sistem olaraq qalır. Autofagiya-əlaqəli yolların daha irəli səviyyədə araşdırılması bu yolların tənzimlənməsi və molekulyar mexanizmini başa düşməyimizi asanlaşdıracaq və bu tipli araşdırmalar autofagiyanın müalicəvi məqsədlər üçün praktiki istifadəsinə icazə verə bilər.

Ədəbiyyat

- 1 Yorimitsu T, Klionsky DJ. Autophagy: molecular machinery for self-eating. *Cell Death Differ* 2005b; 12:1542–1552. [PubMed: 16247502]
- 2 Klionsky DJ, Meijer AJ, Codogno P. Autophagy and p70S6 kinase. *Autophagy* 2005;1:59–61. [PubMed: 16874035]
- 3 Massey A, Kiffin R, Cuervo AM. Pathophysiology of chaperone-mediated autophagy. *Int J Biochem Cell Biol* 2004;36:2420–2434. [PubMed: 15325582]
- 4 Reggiori F, Klionsky DJ. Autophagy in the eukaryotic cell. *Eukaryot Cell* 2002;1:11–21. [PubMed: 12455967]
- 5 Levine B, Klionsky DJ. Development by self-digestion: molecular mechanisms and biological functions of autophagy. *Dev Cell* 2004;6:463–477. [PubMed: 15068787]
- 6 Huang J, Klionsky DJ. Autophagy and human disease. *Cell Cycle* 2007;6:1837–1849. [PubMed:17671424]
- 7 Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, Klionsky DJ. Autophagy fights disease through cellular selfdigestion. *Nature* 2008;451:1069–1075. [PubMed: 18305538]
- 8 Shintani T, Klionsky DJ. Autophagy in health and disease: a double-edged sword. *Science* 2004a; 306:990–995. [PubMed: 15528435]
- 9 Levine B, Deretic V. Unveiling the roles of autophagy in innate and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol* 2007;7:767–777. [PubMed: 17767194]
- 10 Levine B, Yuan J. Autophagy in cell death: an innocent convict. *J Clin Invest* 2005;115:2679–2688.[PubMed: 16200202]
- 11 Klionsky DJ, Cregg JM, Dunn WA Jr, Emr SD, Sakai Y, Sandoval IV, Sibirny A, Subramani S, Thumm M, Veenhuis M, Ohsumi Y. A unified nomenclature for yeast autophagy-related genes. *Dev Cell* 2003;5:539–545. [PubMed: 14536056]
- 12 Hutchins MU, Klionsky DJ. Vacuolar localization of oligomeric α -mannosidase requires the cytoplasm to vacuole targeting and autophagy pathway components in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem* 2001;276:20491–20498. [PubMed: 11264288]
- 13 Scott SV, Baba M, Ohsumi Y, Klionsky DJ. Aminopeptidase I is targeted to the vacuole by a nonclassical vesicular mechanism. *J Cell Biol* 1997;138:37–44. [PubMed: 9214379]
- 14 Baba M, Osumi M, Scott SV, Klionsky DJ, Ohsumi Y. Two distinct pathways for targeting proteins from the cytoplasm to the vacuole/lysosome. *J Cell Biol* 1997;139:1687–1695. [PubMed: 9412464]
- 15 Hutchins MU, Veenhuis M, Klionsky DJ. Peroxisome degradation in *Saccharomyces cerevisiae* is

dependent on machinery of macroautophagy and the Cvt pathway. *J Cell Sci* 1999;112(Pt 22):4079–4087. [PubMed: 10547367]

16 Xie Z, Klionsky DJ. Autophagosome formation: core machinery and adaptations. *Nat Cell Biol* 2007;9:1102–1109. [PubMed: 17909521]

17 Komatsu M, Ueno T, Waguri S, Uchiyama Y, Kominami E, Tanaka K. Constitutive autophagy: vital role

in clearance of unfavorable proteins in neurons. *Cell Death Differ* 2007a;14:887–894.

[PubMed:17332773]

18 Kuma A, Hatano M, Matsui M, Yamamoto A, Nakaya H, Yoshimori T, Ohsumi Y, Tokuhiya T, Mizushima N. The role of autophagy during the early neonatal starvation period. *Nature* 2004;432:1032–1036. [PubMed: 15525940]

19 Carrera AC. TOR signaling in mammals. *J Cell Sci* 2004;117:4615–4616. [PubMed: 15371520]

20 Loewith R, Jacinto E, Wullschlegel S, Lorberg A, Crespo JL, Bonenfant D, Oppliger W, Jenoe P, Hall

MN. Two TOR complexes, only one of which is rapamycin sensitive, have distinct roles in cell growth control. *Mol Cell* 2002;10:457–468. [PubMed: 12408816]

21 Noda T, Ohsumi Y. Tor, a phosphatidylinositol kinase homologue, controls autophagy in yeast. *J Biol*

Chem 1998;273:3963–3966. [PubMed: 9461583]

22 Matsuura A, Tsukada M, Wada Y, Ohsumi Y. Apg1p, a novel protein kinase required for the autophagic

process in *Saccharomyces cerevisiae*. *Gene* 1997;192:245–250. [PubMed: 9224897]

23 Kamada Y, Funakoshi T, Shintani T, Nagano K, Ohsumi M, Ohsumi Y. Tor-mediated induction of autophagy via an Apg1 protein kinase complex. *J Cell Biol* 2000;150:1507–1513. [PubMed: 10995454]

24 Kabeya Y, Kamada Y, Baba M, Takikawa H, Sasaki M, Ohsumi Y. Atg17 functions in cooperation with

Atg1 and Atg13 in yeast autophagy. *Mol Biol Cell* 2005;16:2544–2553. [PubMed: 15743910]

25 Cheong H, Nair U, Geng J, Klionsky DJ. The Atg1 kinase complex is involved in the regulation of protein

recruitment to initiate sequestering vesicle formation for nonspecific autophagy in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Biol Cell* 2008;19:668–681. [PubMed: 18077553]

26 Abeliovich H, Zhang C, Dunn WA Jr, Shokat KM, Klionsky DJ. Chemical genetic analysis of Apg1 reveals

a non-kinase role in the induction of autophagy. *Mol Biol Cell* 2003;14:477–490. [PubMed: 12589048]

27 Nair U, Klionsky DJ. Molecular mechanisms and regulation of specific and nonspecific autophagy pathways in yeast. *J Biol Chem* 2005;280:41785–41788. [PubMed: 16230342]

28 Scott RC, Schuldiner O, Neufeld TP. Role and regulation of starvation-induced autophagy in the *Drosophila* fat body. *Dev Cell* 2004;7:167–178. [PubMed: 15296714]

29 Meléndez A, Tallóczy Z, Seaman M, Eskelinen EL, Hall DH, Levine B. Autophagy genes are essential

for dauer development and life-span extension in *C. elegans*. *Science* 2003;301:1387–1391.

[PubMed: 12958363]

30 Hanaoka H, Noda T, Shirano Y, Kato T, Hayashi H, Shibata D, Tabata S, Ohsumi Y. Leaf senescence and starvation-induced chlorosis are accelerated by the disruption of an *Arabidopsis* autophagy gene. *Plant Physiol* 2002;129:1181–1193. [PubMed: 12114572]

31 Yan J, Kuroyanagi H, Kuroiwa A, Matsuda Y, Tokumitsu H, Tomoda T, Shirasawa T, Muramatsu M. Identification of mouse ULK1, a novel protein kinase structurally related to *C. elegans* UNC-51. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;246:222–227. [PubMed: 9600096]

32 Yan J, Kuroyanagi H, Tomemori T, Okazaki N, Asato K, Matsuda Y, Suzuki Y, Ohshima Y, Mitani S,

- Masuhō Y, Shirasawa T, Muramatsu M. Mouse ULK2, a novel member of the UNC-51-like protein kinases: unique features of functional domains. *Oncogene* 1999;18:5850–5859. [PubMed: 10557072]
- 33** Scott RC, Juhasz G, Neufeld TP. Direct induction of autophagy by Atg1 inhibits cell growth and induces apoptotic cell death. *Curr Biol* 2007;17:1–11. [PubMed: 17208179]
- 34** Chan EYW, Kir S, Tooze SA. siRNA screening of the kinome identifies ULK1 as a multidomain modulator of autophagy. *J Biol Chem* 2007;282:25464–25474. [PubMed: 17595159]
- 35** Hara T, Takamura A, Kishi C, Iemura S, Natsume T, Guan JL, Mizushima N. FIP200, a ULK-interacting protein, is required for autophagosome formation in mammalian cells. *J Cell Biol* 2008;181:497–510. [PubMed: 18443221]
- 36** De Virgilio C, Loewith R. Cell growth control: little eukaryotes make big contributions. *Oncogene* 2006;25:6392–6415. [PubMed: 17041625]
- 37** Yorimitsu T, He C, Wang K, Klionsky DJ. Tap42-associated protein phosphatase type 2A negatively regulates induction of autophagy. *Autophagy* 2009;5 in press.
- 38** Meijer AJ, Codogno P. Signalling and autophagy regulation in health, aging and disease. *Mol Aspects Med* 2006;27:411–425. [PubMed: 16973212]
- 39** Arico S, Petiot A, Bauvy C, Dubbelhuis PF, Meijer AJ, Codogno P, Ogier-Denis E. The tumor suppressor PTEN positively regulates macroautophagy by inhibiting the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B pathway. *J Biol Chem* 2001;276:35243–35246. [PubMed: 11477064]
- 40** Budovskaya YV, Stephan JS, Reggiori F, Klionsky DJ, Herman PK. The Ras/cAMP-dependent protein kinase signaling pathway regulates an early step of the autophagy process in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem* 2004;279:20663–20671. [PubMed: 15016820]
- 41** Furuta S, Hidaka E, Ogata A, Yokota S, Kamata T. Ras is involved in the negative control of autophagy through the class I PI3-kinase. *Oncogene* 2004;23:3898–3904. [PubMed: 15064741]
- 42** Mavrakis M, Lippincott-Schwartz J, Stratakis CA, Bossis I. Depletion of type IA regulatory subunit (RI α) of protein kinase A (PKA) in mammalian cells and tissues activates mTOR and causes autophagic deficiency. *Hum Mol Genet* 2006;15:2962–2971. [PubMed: 16963469]
- 43** Schmelzle T, Beck T, Martin DE, Hall MN. Activation of the RAS/cyclic AMP pathway suppresses a TOR deficiency in yeast. *Mol Cell Biol* 2004;24:338–351. [PubMed: 14673167]
- 44** Yorimitsu T, Zaman S, Broach JR, Klionsky DJ. Protein kinase A and Sch9 cooperatively regulate induction of autophagy in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Biol Cell* 2007;18:4180–4189. [PubMed: 17699586]
- 45** Thevelein JM, de Winder JH. Novel sensing mechanisms and targets for the cAMP-protein kinase A pathway in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Microbiol* 1999;33:904–918. [PubMed: 10476026]
- 46** Budovskaya YV, Stephan JS, Deminoff SJ, Herman PK. An evolutionary proteomics approach identifies substrates of the cAMP-dependent protein kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:13933–13938. [PubMed: 16172400]
- 47** Zurita-Martinez SA, Cardenas ME. Tor and cyclic AMP-protein kinase A: two parallel pathways regulating expression of genes required for cell growth. *Eukaryot Cell* 2005;4:63–71. [PubMed: 15643061]
- 48** Hinnebusch AG. Translational regulation of GCN4 and the general amino acid control of yeast. *Annu*

Rev Microbiol 2005;59:407–450. [PubMed: 16153175]

- 49** Tallóczy Z, Jiang W, Virgin HW IV, Leib DA, Scheuner D, Kaufman RJ, Eskelinen EL, Levine B. Regulation of starvation- and virus-induced autophagy by the eIF2 α kinase signaling pathway. Proc Natl Acad Sci USA 2002;99:190–195. [PubMed: 11756670]
- 50** Kubota H, Obata T, Ota K, Sasaki T, Ito T. Rapamycin-induced translational derepression of GCN4 mRNA involves a novel mechanism for activation of the eIF2 α kinase GCN2. J Biol Chem 2003;278:20457–20460. [PubMed: 12676950]
- 51** Wang Z, Wilson WA, Fujino MA, Roach PJ. Antagonistic controls of autophagy and glycogen accumulation by Snf1p, the yeast homolog of AMP-activated protein kinase, and the cyclindependent kinase Pho85p. Mol Cell Biol 2001b;21:5742–5752. [PubMed: 11486014]
- 52** Carroll AS, O'Shea EK. Pho85 and signaling environmental conditions. Trends Biochem Sci 2002;27:87–93. [PubMed: 11852246]
- 53** Meley D, Bauvy C, Houben-Weerts JH, Dubbelhuis PF, Helmond MT, Codogno P, Meijer AJ. AMPactivated protein kinase and the regulation of autophagic proteolysis. J Biol Chem 2006;281:34870–34879. [PubMed: 16990266]
- 54** Høyer-Hansen M, Jäättelä M. AMP-activated protein kinase: a universal regulator of autophagy. Autophagy 2007;3:381–383. [PubMed: 17457036]
- 55** Liang J, Shao SH, Xu ZX, Hennessy B, Ding Z, Larrea M, Kondo S, Dumont DJ, Gutterman JU, Walker CL, Slingerland JM, Mills GB. The energy sensing LKB1–AMPK pathway regulates p27(kip1) phosphorylation mediating the decision to enter autophagy or apoptosis. Nat Cell Biol 2007;9:218–224. [PubMed: 17237771]
- 56** Onodera J, Ohsumi Y. Ald6p is a preferred target for autophagy in yeast, *Saccharomyces cerevisiae*. J Biol Chem 2004;279:16071–16076. [PubMed: 14761979]
- 57** Kim I, Rodriguez-Enriquez S, Lemasters JJ. Selective degradation of mitochondria by mitophagy. Arch Biochem Biophys 2007;462:245–253. [PubMed: 17475204]
- 58** Kraft C, Deplazes A, Sohrmann M, Peter M. Mature ribosomes are selectively degraded upon starvation by an autophagy pathway requiring the Ubp3p/Bre5p ubiquitin protease. Nat Cell Biol 2008;10:602–610. [PubMed: 18391941]
- 59** Gunkel K, van der Klei IJ, Barth G, Veenhuis M. Selective peroxisome degradation in *Yarrowia lipolytica* after a shift of cells from acetate/oleate/ethylamine into glucose/ammonium sulfatecontaining media. FEBS Lett 1999;451:1–4. [PubMed: 10356972]
- 60** Sakai Y, Oku M, van der Klei IJ, Kiel JAKW. Pexophagy: autophagic degradation of peroxisomes. Biochim Biophys Acta 2006;1763:1767–1775. [PubMed: 17005271]
- 61** Tuttle DL, Lewin AS, Dunn WA Jr. Selective autophagy of peroxisomes in methylotrophic yeasts. Eur J Cell Biol 1993;60:283–290. [PubMed: 8330626]
- 62** Veenhuis M, Douma A, Harder W, Osumi M. Degradation and turnover of peroxisomes in the yeast *Hansenula polymorpha* induced by selective inactivation of peroxisomal enzymes. Arch Microbiol 1983;134:193–203. [PubMed: 6351780]
- 63** Bellu AR, Komori M, van der Klei IJ, Kiel JAKW, Veenhuis M. Peroxisome biogenesis and selective degradation converge at Pex14p. J Biol Chem 2001;276:44570–44574. [PubMed: 11564741]

- 64** Kim J, Kamada Y, Stromhaug PE, Guan J, Hefner-Gravink A, Baba M, Scott SV, Ohsumi Y, Dunn WA Jr, Klionsky DJ. Cvt9/Gsa9 functions in sequestering selective cytosolic cargo destined for the vacuole. *J Cell Biol* 2001;153:381–396. [PubMed: 11309418]
- 65** Farre JC, Manjithaya R, Mathewson RD, Subramani S. PpAtg30 tags peroxisomes for turnover by selective autophagy. *Dev Cell* 2008;14:365–376. [PubMed: 18331717]
- 66** Reggiori F, Monastyrska I, Shintani T, Klionsky DJ. The actin cytoskeleton is required for selective types of autophagy, but not nonspecific autophagy, in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Biol Cell* 2005a;16:5843–5856. [PubMed: 16221887]
- 67** Klionsky DJ, Cueva R, Yaver DS. Aminopeptidase I of *Saccharomyces cerevisiae* is localized to the vacuole independent of the secretory pathway. *J Cell Biol* 1992;119:287–299. [PubMed: 1400574]
- 68** Kim J, Scott SV, Oda MN, Klionsky DJ. Transport of a large oligomeric protein by the cytoplasm to vacuole protein targeting pathway. *J Cell Biol* 1997;137:609–618. [PubMed: 9151668]
- 69** Shintani T, Huang WP, Stromhaug PE, Klionsky DJ. Mechanism of cargo selection in the cytoplasm to vacuole targeting pathway. *Dev Cell* 2002;3:825–837. [PubMed: 12479808]
- 70** Martinez E, Jimenez MA, Segui-Real B, Vandekerckhove J, Sandoval IV. Folding of the presequence of yeast pAPI into an amphipathic helix determines transport of the protein from the cytosol to the vacuole. *J Mol Biol* 1997;267:1124–1138. [PubMed: 9150401]
- 71** Oda MN, Scott SV, Hefner-Gravink A, Caffarelli AD, Klionsky DJ. Identification of a cytoplasm to vacuole targeting determinant in aminopeptidase I. *J Cell Biol* 1996;132:999–1010. [PubMed: 8601598]
- 72** Scott SV, Guan J, Hutchins MU, Kim J, Klionsky DJ. Cvt19 is a receptor for the cytoplasm-to-vacuole targeting pathway. *Mol Cell* 2001;7:1131–1141. [PubMed: 11430817]
- 73** Yorimitsu T, Klionsky DJ. Atg11 links cargo to the vesicle-forming machinery in the cytoplasm to vacuole targeting pathway. *Mol Biol Cell* 2005a;16:1593–1605. [PubMed: 15659643]
- 74** Chang CY, Huang WP. Atg19 mediates a dual interaction cargo sorting mechanism in selective autophagy. *Mol Biol Cell* 2007;18:919–929. [PubMed: 17192412]
- 75** He C, Song H, Yorimitsu T, Monastyrska I, Yen WL, Legakis JE, Klionsky DJ. Recruitment of Atg9 to the preautophagosomal structure by Atg11 is essential for selective autophagy in budding yeast. *J Cell Biol* 2006;175:925–935. [PubMed: 17178909]
- 76** Bjørkøy G, Lamark T, Brech A, Outzen H, Perander M, Øvervatn A, Stenmark H, Johansen T. p62/SQSTM1 forms protein aggregates degraded by autophagy and has a protective effect on huntingtin-induced cell death. *J Cell Biol* 2005;171:603–614. [PubMed: 16286508]
- 77** Komatsu M, Waguri S, Koike M, Sou YS, Ueno T, Hara T, Mizushima N, Iwata J, Ezaki J, Murata S, Hamazaki J, Nishito Y, Iemura S, Natsume T, Yanagawa T, Uwayama J, Warabi E, Yoshida H, Ishii T, Kobayashi A, Yamamoto M, Yue Z, Uchiyama Y, Kominami E, Tanaka K. Homeostatic levels of p62 control cytoplasmic inclusion body formation in autophagy-deficient mice. *Cell* 2007b; 131:1149–1163. [PubMed: 18083104]
- 78** Kundu M, Lindsten T, Yang CY, Wu J, Zhao F, Zhang J, Selak MA, Ney PA, Thompson CB. Ulk1 plays a critical role in the autophagic clearance of mitochondria and ribosomes during reticulocyte maturation. *Blood* 2008;112:1493–1502. [PubMed: 18539900]
- 79** Iwata J, Ezaki J, Komatsu M, Yokota S, Ueno T, Tanida I, Chiba T, Tanaka K, Kominami E. Excess peroxisomes are degraded by autophagic machinery in mammals. *J Biol Chem* 2006;281:4035–4041. [PubMed: 16332691]
- 80** Gutierrez MG, Master SS, Singh SB, Taylor GA, Colombo MI, Deretic V. Autophagy is a defense mechanism inhibiting BCG and *Mycobacterium tuberculosis* survival in infected macrophages. *Cell*

2004;119:753–766. [PubMed: 15607973]

81 Nakagawa I, Amano A, Mizushima N, Yamamoto A, Yamaguchi H, Kamimoto T, Nara A, Funao J, Nakata M, Tsuda K, Hamada S, Yoshimori T. Autophagy defends cells against invading group A *Streptococcus*. *Science* 2004;306:1037–1040. [PubMed: 15528445]

82 Ogawa M, Yoshimori T, Suzuki T, Sagara H, Mizushima N, Sasakawa C. Escape of intracellular *Shigella* from autophagy. *Science* 2005;307:727–731. [PubMed: 15576571]

83 Orvedahl A, Levine B. Viral evasion of autophagy. *Autophagy* 2008;4:280–285. [PubMed: 18059171]

84 Kihara A, Noda T, Ishihara N, Ohsumi Y. Two distinct Vps34 phosphatidylinositol 3-kinase complexes

function in autophagy and carboxypeptidase Y sorting in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Cell Biol* 2001;152:519–530. [PubMed: 11157979]

85 Stack JH, DeWald DB, Takegawa K, Emr SD. Vesicle-mediated protein transport: regulatory interactions

between the Vps15 protein kinase and the Vps34 PtdIns 3-kinase essential for protein sorting to the vacuole in yeast. *J Cell Biol* 1995;129:321–334. [PubMed: 7721937]

86 Obara K, Sekito T, Ohsumi Y. Assortment of phosphatidylinositol 3-kinase complexes: Atg14p directs

association of complex I to the pre-autophagosomal structure in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Biol*

Cell 2006;17:1527–1539. [PubMed: 16421251]

87 Ellson CD, Andrews S, Stephens LR, Hawkins PT. The PX domain: a new phosphoinositide-binding module. *J Cell Sci* 2002;115:1099–1105. [PubMed: 11884510]

88 Stenmark H, Aasland R, Driscoll PC. The phosphatidylinositol 3-phosphate-binding FYVE finger. *FEBS*

Lett 2002;513:77–84. [PubMed: 11911884]

89 Nice DC, Sato TK, Stromhaug PE, Emr SD, Klionsky DJ. Cooperative binding of the cytoplasm to vacuole targeting pathway proteins, Cvt13 and Cvt20, to phosphatidylinositol 3-phosphate at the preautophagosomal

structure is required for selective autophagy. *J Biol Chem* 2002;277:30198–30207.

[PubMed: 12048214]

90 Guan J, Stromhaug PE, George MD, Habibzadegah-Tari P, Bevan A, Dunn WA Jr, Klionsky DJ. Cvt18/

Gsa12 is required for cytoplasm-to-vacuole transport, pexophagy, and autophagy in *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia pastoris*. *Mol Biol Cell* 2001;12:3821–3838. [PubMed: 11739783]

91 Stromhaug PE, Reggiori F, Guan J, Wang CW, Klionsky DJ. Atg21 is a phosphoinositide binding protein

required for efficient lipidation and localization of Atg8 during uptake of aminopeptidase I by selective autophagy. *Mol Biol Cell* 2004;15:3553–3566. [PubMed: 15155809]

92 Liang XH, Jackson S, Seaman M, Brown K, Kempkes B, Hibshoosh H, Levine B. Induction of autophagy

and inhibition of tumorigenesis by beclin 1. *Nature* 1999;402:672–676. [PubMed: 10604474]

93 Panaretou C, Domin J, Cockcroft S, Waterfield MD. Characterization of p150, an adaptor protein for the

human phosphatidylinositol (PtdIns) 3-kinase. Substrate presentation by phosphatidylinositol transfer protein to the p150·PtdIns 3-kinase complex. *J Biol Chem* 1997;272:2477–2485. [PubMed: 8999962]

94 Jacinto E, Hall MN. Tor signalling in bugs, brain and brawn. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003;4:117–126.

[PubMed: 12563289]

95 Nobukuni T, Joaquin M, Rocco M, Dann SG, Kim SY, Gulati P, Byfield MP, Backer JM, Natt F, Bos JL, Zwartkuis FJ, Thomas G. Amino acids mediate mTOR/raptor signaling through activation of

class 3 phosphatidylinositol 3OH-kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:14238–14243.

[PubMed: 16176982]

96 Jeffries TR, Dove SK, Michell RH, Parker PJ. PtdIns-specific MPR pathway association of a novel WD40

repeat protein, WIPI49. *Mol Biol Cell* 2004;15:2652–2663. [PubMed: 15020712]

97 Ohsumi Y. Molecular dissection of autophagy: two ubiquitin-like systems. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001;2:211–216. [PubMed: 11265251]

98 Paz Y, Elazar Z, Fass D. Structure of GATE-16, membrane transport modulator and mammalian ortholog

of autophagocytosis factor Aut7p. *J Biol Chem* 2000;275:25445–25450. [PubMed: 10856287]

99 Suzuki NN, Yoshimoto K, Fujioka Y, Ohsumi Y, Inagaki F. The crystal structure of plant Atg12 and its

biological implication in autophagy. *Autophagy* 2005;1:119–126. [PubMed: 16874047]

100 Mizushima N, Noda T, Yoshimori T, Tanaka Y, Ishii T, George MD, Klionsky DJ, Ohsumi M, Ohsumi

Y. A protein conjugation system essential for autophagy. *Nature* 1998a;395:395–398. [PubMed: 9759731]

101 Tanida I, Mizushima N, Kiyooka M, Ohsumi M, Ueno T, Ohsumi Y, Kominami E. Apg7p/Cvt2p: a novel

protein-activating enzyme essential for autophagy. *Mol Biol Cell* 1999;10:1367–1379. [PubMed: 10233150]

102 Shintani T, Mizushima N, Ogawa Y, Matsuura A, Noda T, Ohsumi Y. Apg10p, a novel proteinconjugating

enzyme essential for autophagy in yeast. *EMBO J* 1999;18:5234–5241. [PubMed: 10508157]

103 Kuma A, Mizushima N, Ishihara N, Ohsumi Y. Formation of the approximately 350-kDa Apg12–Apg5·Apg16 multimeric complex, mediated by Apg16 oligomerization, is essential for autophagy in yeast. *J Biol Chem* 2002;277:18619–18625. [PubMed: 11897782]

104 Fujita N, Itoh T, Omori H, Fukuda M, Noda T, Yoshimori T. The Atg16L complex specifies the site of

LC3 lipidation for membrane biogenesis in autophagy. *Mol Biol Cell* 2008;19:2092–2100.

[PubMed: 18321988]

105 Ichimura Y, Kirisako T, Takao T, Satomi Y, Shimonishi Y, Ishihara N, Mizushima N, Tanida I, Kominami

E, Ohsumi M, Noda T, Ohsumi Y. A ubiquitin-like system mediates protein lipidation. *Nature* 2000;408:488–492. [PubMed: 11100732]

106 Kirisako T, Ichimura Y, Okada H, Kabeya Y, Mizushima N, Yoshimori T, Ohsumi M, Takao T, Noda T, Ohsumi Y. The reversible modification regulates the membrane-binding state of Apg8/Aut7 essential for autophagy and the cytoplasm to vacuole targeting pathway. *J Cell Biol* 2000;151:263–276. [PubMed: 11038174]

107 Ichimura Y, Imamura Y, Emoto K, Umeda M, Noda T, Ohsumi Y. In vivo and in vitro reconstitution of

Atg8 conjugation essential for autophagy. *J Biol Chem* 2004;279:40584–40592. [PubMed: 15277523]

108 Mizushima N, Sugita H, Yoshimori T, Ohsumi Y. A new protein conjugation system in human. The

counterpart of the yeast Apg12p conjugation system essential for autophagy. *J Biol Chem* 1998b; 273:33889–33892. [PubMed: 9852036]

109 Mizushima N, Yoshimori T, Ohsumi Y. Mouse Apg10 as an Apg12-conjugating enzyme: analysis by

the conjugation-mediated yeast two-hybrid method. *FEBS Lett* 2002;532:450–454. [PubMed: 12482611]

- 110** Mizushima N, Kuma A, Kobayashi Y, Yamamoto A, Matsubae M, Takao T, Natsume T, Ohsumi Y, Yoshimori T. Mouse Apg16L, a novel WD-repeat protein, targets to the autophagic isolation membrane with the Apg12-Apg5 conjugate. *J Cell Sci* 2003;116:1679–88. [PubMed: 12665549]
- 111** Hemelaar J, Lelyveld VS, Kessler BM, Ploegh HL. A single protease, Apg4B, is specific for the autophagy-related ubiquitin-like proteins GATE-16, MAP1-LC3, GABARAP, and Apg8L. *J Biol Chem* 2003;278:51841–51850. [PubMed: 14530254]
- 112** Kabeya Y, Mizushima N, Ueno T, Yamamoto A, Kirisako T, Noda T, Kominami E, Ohsumi Y, Yoshimori T. LC3, a mammalian homologue of yeast Apg8p, is localized in autophagosome membranes after processing. *EMBO J* 2000;19:5720–5728. [PubMed: 11060023]
- 113** Kabeya Y, Mizushima N, Yamamoto A, Oshitani-Okamoto S, Ohsumi Y, Yoshimori T. LC3, GABARAP and GATE16 localize to autophagosomal membrane depending on form-II formation. *J Cell Sci* 2004;117:2805–2812. [PubMed: 15169837]
- 114** Tanida I, Tanida-Miyake E, Komatsu M, Ueno T, Kominami E. Human Apg3p/Aut1p homologue is an authentic E2 enzyme for multiple substrates, GATE-16, GABARAP, and MAP-LC3, and facilitates the conjugation of hApg12p to hApg5p. *J Biol Chem* 2002;277:13739–13744. [PubMed: 11825910]
- 115** Tanida I, Komatsu M, Ueno T, Kominami E. GATE-16 and GABARAP are authentic modifiers mediated by Apg7 and Apg3. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;300:637–644. [PubMed: 12507496]
- 116** Tanida I, Sou YS, Minematsu-Ikeguchi N, Ueno T, Kominami E. Atg8L/Apg8L is the fourth mammalian modifier of mammalian Atg8 conjugation mediated by human Atg4B, Atg7 and Atg3. *FEBS J* 2006;273:2553–2562. [PubMed: 16704426]
- 117** Kim J, Huang WP, Stromhaug PE, Klionsky DJ. Convergence of multiple autophagy and cytoplasm to vacuole targeting components to a perivacuolar membrane compartment prior to de novo vesicle formation. *J Biol Chem* 2002;277:763–773. [PubMed: 11675395]
- 118** Suzuki K, Kirisako T, Kamada Y, Mizushima N, Noda T, Ohsumi Y. The pre-autophagosomal structure organized by concerted functions of APG genes is essential for autophagosome formation. *EMBO J* 2001;20:5971–5981. [PubMed: 11689437]
- 119** Kirisako T, Baba M, Ishihara N, Miyazawa K, Ohsumi M, Yoshimori T, Noda T, Ohsumi Y. Formation process of autophagosome is traced with Apg8/Aut7p in yeast. *J Cell Biol* 1999;147:435–446. [PubMed: 10525546]
- 120** Mizushima N, Yamamoto A, Hatano M, Kobayashi Y, Kabeya Y, Suzuki K, Tokuhisa T, Ohsumi Y, Yoshimori T. Dissection of autophagosome formation using Apg5-deficient mouse embryonic stem cells. *J Cell Biol* 2001;152:657–668. [PubMed: 11266458]
- 121** Huang WP, Scott SV, Kim J, Klionsky DJ. The itinerary of a vesicle component, Aut7p/Cvt5p, terminates in the yeast vacuole via the autophagy/Cvt pathways. *J Biol Chem* 2000;275:5845–5851. [PubMed: 10681575]
- 122** Xie Z, Nair U, Klionsky DJ. Atg8 controls phagophore expansion during autophagosome formation. *Mol Biol Cell* 2008;19:3290–3298. [PubMed: 18508918]
- 123** Nakatogawa H, Ichimura Y, Ohsumi Y. Atg8, a ubiquitin-like protein required for autophagosome formation, mediates membrane tethering and hemifusion. *Cell* 2007;130:165–178. [PubMed: 17632063]

- 124** Noda T, Kim J, Huang WP, Baba M, Tokunaga C, Ohsumi Y, Klionsky DJ. Apg9p/Cvt7p is an integral membrane protein required for transport vesicle formation in the Cvt and autophagy pathways. *J Cell Biol* 2000;148:465–480. [PubMed: 10662773]
- 125** Reggiori F, Shintani T, Nair U, Klionsky DJ. Atg9 cycles between mitochondria and the preautophagosomal structure in yeasts. *Autophagy* 2005b;1:101–109. [PubMed: 16874040]
- 126** Reggiori F, Tucker KA, Stromhaug PE, Klionsky DJ. The Atg1-Atg13 complex regulates Atg9 and Atg23 retrieval transport from the pre-autophagosomal structure. *Dev Cell* 2004a;6:79–90. [PubMed: 14723849]
- 127** Shintani T, Klionsky DJ. Cargo proteins facilitate the formation of transport vesicles in the cytoplasm to vacuole targeting pathway. *J Biol Chem* 2004b;279:29889–29894. [PubMed: 15138258]
- 128** Legakis JE, Yen WL, Klionsky DJ. A cycling protein complex required for selective autophagy. *Autophagy* 2007;3:422–432. [PubMed: 17426440]
- 129** Yen WL, Legakis JE, Nair U, Klionsky DJ. Atg27 is required for autophagy-dependent cycling of Atg9. *Mol Biol Cell* 2007;18:581–593. [PubMed: 17135291]
- 130** Monastyrska I, He C, Geng J, Hoppe AD, Li Z, Klionsky DJ. Arp2 links autophagic machinery with the actin cytoskeleton. *Mol Biol Cell* 2008;19:1962–1975. [PubMed: 18287533]
- 131** Monastyrska I, Shintani T, Klionsky DJ, Reggiori F. Atg11 directs autophagosome cargoes to the PAS along actin cables. *Autophagy* 2006;2:119–121. [PubMed: 16874092]
- 132** Suzuki K, Kubota Y, Sekito T, Ohsumi Y. Hierarchy of Atg proteins in pre-autophagosomal structure organization. *Genes Cells* 2007;12:209–218. [PubMed: 17295840]
- 133** Wang CW, Kim J, Huang WP, Abeliovich H, Stromhaug PE, Dunn WA Jr, Klionsky DJ. Apg2 is a novel protein required for the cytoplasm to vacuole targeting, autophagy, and pexophagy pathways. *J Biol Chem* 2001a;276:30442–30451. [PubMed: 11382760]
- 134** Young ARJ, Chan EYW, Hu XW, Köchl R, Crawshaw SG, High S, Hailey DW, Lippincott-Schwartz J, Tooze SA. Starvation and ULK1-dependent cycling of mammalian Atg9 between the TGN and endosomes. *J Cell Sci* 2006;119:3888–3900. [PubMed: 16940348]
- 135** Noda T, Suzuki K, Ohsumi Y. Yeast autophagosomes: de novo formation of a membrane structure. *Trends Cell Biol* 2002;12:231–235. [PubMed: 12062171]
- 136** Seglen PO, Gordon PB, Holen I. Non-selective autophagy. *Semin Cell Biol* 1990;1:441–448. [PubMed: 2103895]
- 137** Yamada T, Carson AR, Caniggia I, Umebayashi K, Yoshimori T, Nakabayashi K, Scherer SW. Endothelial nitric-oxide synthase antisense (NOS3AS) gene encodes an autophagy-related protein (APG9-like2) highly expressed in trophoblast. *J Biol Chem* 2005;280:18283–18290. [PubMed: 15755735]
- 138** Reggiori F, Wang CW, Nair U, Shintani T, Abeliovich H, Klionsky DJ. Early stages of the secretory pathway, but not endosomes, are required for Cvt vesicle and autophagosome assembly in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Biol Cell* 2004b;15:2189–2204. [PubMed: 15004240]
- 139** Kawamata T, Kamada Y, Kabeya Y, Sekito T, Ohsumi Y. Organization of the pre-autophagosomal structure responsible for autophagosome formation. *Mol Biol Cell* 2008;19:2039–2050. [PubMed:

18287526]

140 Wang CW, Klionsky DJ. The molecular mechanism of autophagy. *Mol Med* 2003;9:65–76.

[PubMed:

12865942]

141 Wang CW, Stromhaug PE, Kauffman EJ, Weisman LS, Klionsky DJ. Yeast homotypic vacuole fusion

requires the Ccz1-Mon1 complex during the tethering/docking stage. *J Cell Biol* 2003;163:973–985. [PubMed: 14662743]

142 Berg TO, Fengsrud M, Stromhaug PE, Berg T, Seglen PO. Isolation and characterization of rat liver

amphisomes. Evidence for fusion of autophagosomes with both early and late endosomes. *J Biol Chem*

1998;273:21883–21892. [PubMed: 9705327]

143 Tooze J, Hollinshead M, Ludwig T, Howell K, Hoflack B, Kern H. In exocrine pancreas, the basolateral

endocytic pathway converges with the autophagic pathway immediately after the early endosome. *J Cell Biol* 1990;111:329–345. [PubMed: 2166050]

144 Atlashkin V, Kreykenbohm V, Eskelinen EL, Wenzel D, Fayyazi A, Fischer von Mollard G. Deletion of

the SNARE vti1b in mice results in the loss of a single SNARE partner, syntaxin 8. *Mol Cell Biol* 2003;23:5198–5207. [PubMed: 12861006]

145 Jager S, Bucci C, Tanida I, Ueno T, Kominami E, Saftig P, Eskelinen EL. Role for Rab7 in maturation

of late autophagic vacuoles. *J Cell Sci* 2004;117:4837–4848. [PubMed: 15340014]

146 Epple UD, Suriapranata I, Eskelinen EL, Thumm M. Aut5/Cvt17p, a putative lipase essential for disintegration of autophagic bodies inside the vacuole. *J Bacteriol* 2001;183:5942–5955. [PubMed: 11566994]

147 Teter SA, Eggerton KP, Scott SV, Kim J, Fischer AM, Klionsky DJ. Degradation of lipid vesicles in the

yeast vacuole requires function of Cvt17, a putative lipase. *J Biol Chem* 2001;276:2083–2087. [PubMed: 11085977]

148 Epple UD, Eskelinen EL, Thumm M. Intravacuolar membrane lysis in *Saccharomyces cerevisiae*. Does

vacuolar targeting of Cvt17/Aut5p affect its function? *J Biol Chem* 2003;278:7810–7821. [PubMed: 12499386]

149 Yang Z, Huang J, Geng J, Nair U, Klionsky DJ. Atg22 recycles amino acids to link the degradative and

recycling functions of autophagy. *Mol Biol Cell* 2006;17:5094–5104. [PubMed: 17021250]

150 Russnak R, Konczal D, McIntire SL. A family of yeast proteins mediating bidirectional vacuolar amino

acid transport. *J Biol Chem* 2001;276:23849–23857. [PubMed: 11274162]

151 Sagne C, Agulhon C, Ravassard P, Darmon M, Hamon M, El Mestikawy S, Gasnier B, Giros B. Identification and characterization of a lysosomal transporter for small neutral amino acids. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:7206–7211. [PubMed: 11390972]