

МИТОФАГИЯ У ДРОЖЖЕЙ

©2019 г. Д. В. МАМАЕВ, Р. А. ЗВЯГИЛЬСКАЯ

*Институт биохимии им. А.Н.Баха,
Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук, Москва*

I. Введение. II. Общие представления об аутофагии и митофагии.
III. Характеристика ключевых белков аутофагии и митофагии.
IV. Молекулярные механизмы, лежащие в основе митофагии дрожжей.
V. Индукция и регуляция митофагии у дрожжей.
VI. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

Митохондрии, помимо общеизвестной роли внутриклеточных «энергетических станций», выполняют и другие ключевые функции в клетке. Они прочно интегрированы в общий клеточный обмен (см. [1, 2]), играют основную роль в таких глобальных процессах, как проведение клеточных сигналов (см. [2]), пролиферация [3], воспаление (см. [4]), в системе выбора клетки между жизнью и смертью (см. [5]), являются основными источниками избыточных активных форм кислорода (см. [6]). Дисфункция митохондрий может приводить к многочисленным патологиям, включая нейродегенеративные заболевания, рак и диабет и др. (см. [7]). Поэтому количество митохондрий должно строго соответствовать энергетическим потребностям организма, масса митохондрий не должна быть избыточной, редокс-состояние митохондрий также должно тщательно отслеживаться клеткой. Этой цели и служит, наряду с биогенезом митохондрий и другими процессами,

Принятые сокращения: АФК – активные формы кислорода, КК2-казеинкиназа 2, ЭПР – эндоплазматический ретикулум, *ATG* гены – гены, участвующие в аутофагии, Atg – белковые продукты соответствующих генов, Cvt – комплекс, переносящий компоненты из цитоплазмы в вакуоль (cytoplasm-to-vacuole targeting комплекс), Dnm1 – динамин-подобная GTPаза, MAPK – митоген-активируемая протеинкиназа (mitogen-activated protein kinase), Tor – мишень рипамицин-протеинкиназы (target of rapamycin protein kinase)

Адрес для корреспонденции: Dmamaev_inbi@mail.ru

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (грант № 16-04-01040).

митофагия (от греч. *mítos* – нить и *φαγεῖν* – есть, поедать), процесс избирательного удаления митохондрий с помощью аутофагии (от греч. *αὐτός* – сам и *φαγεῖν* – есть, поедать).

II. ОБЩИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ АУТОФАГИИ И МИТОФАГИИ

Термин «аутофагия» был введен лауреатом Нобелевской премии К. де Дювом [8] для обозначения у животных процесса деградации клеточных компонентов лизосомами, в отличие от деградации эндогенных белков протеосомами.

Аутофагия – это высокоупорядоченный, регулируемый катаболический процесс, консервативный у всех эукариот, от дрожжей до человека, направленный на удаление всех, выполнивших свою роль старых клеточных компонентов (органеллы, белки, клеточные мембраны), или избыточного количества органелл, не необходимого для поддержания клеточного гомеостаза. Она возникает в ответ на такие факторы стресса, как дефицит питательных веществ (голодание), окислительный стресс, инфекции, воспаление и другие стимулы. Процесс аутофагии облегчает выживание клеток в условиях дефицита питательных веществ, важен для правильного развития, дифференциации (у дрожжей – споруляции), старения [9], освобождения от агрегатов белков, патогенов, нефункционирующих или избыточных органелл, перечисленных выше. У животных, кроме того, процесс митофагии участвует в подавлении роста опухолей, иммунных ответах, в предотвращении многих заболеваний, включая инфекции, нейродегенеративные заболевания, кардиомиопатию и диабет [10, 11].

Вначале аутофагия рассматривалась как процесс неизбирательный (сейчас она обозначается терминами макроаутофагия или аутофагия), однако в настоящее время принято считать, что удаление внутриклеточных структур: митохондрий, пероксисом, эндоплазматического ретикулума (ЭПР), рибосом, липидных гранул, внутриклеточных патогенов, агрегатов белков и др. происходит с помощью избирательной аутофагии – митофагии [10], пексофагией [12], ЭПР-фагией [13], рибофагией [14], липофагией [15], ксенофагией [16], процесса освобождения от агрегатов белков (*aggregate clearance*) [17] и др., соответственно, (см. обзоры [10, 18, 20 и ссылки в них).

Помимо органелло-специфичной аутофагии, в дрожжах (и только в дрожжах) имеется и другой тип избирательной аутофагии, так

называемый Cvt (the cytoplasm-to-vacuole targeting) путь, который участвует в деградации двух пептидаз – аминопептидазы I (Ape1) и альфа-маннозидазы 1 (Ams1) (см. обзоры [10, 20] и ссылки в них).

В процессе макроаутофагии (неспецифической аутофагии) и избирательной аутофагии, включая митофагию, выделяют следующие основные этапы. Вокруг порции цитоплазмы или органеллы образуется двойная мембрана, названная изолирующей мембраной (или фагофором), которая увеличивается в размерах путем добавления вновь синтезированных белков и липидов, становится замкнутой, формируя структуру, называемую аутофагосомой, содержащую внутри удаляемые цитоплазматические компоненты (груз, cargo). Впоследствии внешняя мембрана аутофагосомы сливается с вакуолярной (в дрожжах) или лизосомальной (в клетках млекопитающих) мембраной, а оставшаяся одномембранная структура, называемая аутофагийным тельцем, попадает внутрь вакуоли или лизосомы, где собственно и происходит его деградация до мономеров с участием литических ферментов с последующим использованием образовавшихся мономеров для синтеза структур/компонентов *de novo* (см. обзоры [10, 18–19, 21] и ссылки в них).

Клеточные компоненты, подлежащие удалению, могут доставляться в вакуоли (лизосомы) и другими, более простыми способами, например, с помощью микроаутофагии, при которой макромолекулы или органеллы, включая митохондрии, захватываются вакуолярной (лизосомой) путем образования впячивания соответственно вакуолярной или лизосомальной мембраны с последующим образованием пузырька с cargo. Для дрожжей описаны оба морфологически отличающихся (по данным электронной микроскопии) способа удаления митохондрий – с помощью макроаутофагии [22, 23] и микроаутофагии [24, 25]. У млекопитающих, но не у дрожжей, имеется также шаперон-зависимая аутофагия, при которой направленный транспорт частично денатурированных белков из цитоплазмы сквозь мембрану лизосомы в её полость происходит при участии цитоплазматических белков шаперонов семейства HSC-70, вспомогательных белков и белка LAMP-2, мембранного рецептора комплекса шаперона и белка, подлежащего транспорту в лизосому [26].

III. ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЮЧЕВЫХ БЕЛКОВ АУТОФАГИИ И МИТОФАГИИ

Хотя аутофагия была впервые обнаружена в клетках млекопитающих, современный этап в изучении аутофагии начался в 1990-х годах после выявления в дрожжах *ATG* генов (от термина *AuTophaGy*), вовлеченных в аутофагию; белковые продукты этих генов обозначаются как *Atg* (см. обзоры [10, 18–20] и ссылки в них). «За открытие механизмов аутофагии» японский исследователь Ёсинори Осуми (Yoshinori Ohsumi) был удостоен в 2016 г. Нобелевской премии по физиологии и медицине.

Дрожжи, в частности, *Saccharomyces cerevisiae*, являются удобной моделью для изучения молекулярных механизмов митофагии благодаря хорошей изученности генома, транскриптома и протеома, относительной простоте, легкости, скорости и дешевизне генетических манипуляций, содержанию многочисленных белков-ортологов человека [27]. Они были успешно использованы для выявления регуляторов митофагии [22, 23].

В дрожжах *S. cerevisiae* на сегодняшний день выявлено 37 *Atg* белков, 17 из которых являются компонентами основного механизма аутофагии (core autophagic machinery), участвующих как в неспецифической, так избирательной аутофагии, а 18 остальных важны для определенных путей избирательной аутофагии, включая митофагию, либо для доставки cargo из цитоплазмы в вакуоль через Cvt-путь (см. [10, 20, 28]).

В Таблице перечислены перечислены белки, участвующие во всех типах аутофагии у дрожжей *S. cerevisiae*.

У эукариот, включая дрожжи, регуляция роста клетки в ответ на наличие питательных веществ и факторов стресса зависит от протеинкиназы Tor [29]. При росте в среде, богатой питательными веществами, комплекс, содержащий Tor (TORC1), ингибирует аутофагию, однако позволяет осуществляться процессу, идущему через Cvt-путь. Основными эффекторами Tor, по-видимому, являются белки семейства фосфатаз типа 2A, которые регулируют оба пути при помощи фосфорилирования-дефосфорилирования комплекса *Atg1*, необходимого для всех типов аутофагии и состоящего, в основном, из сериново-треониновых протеинкиназ *Atg1* и *Atg13* (см. обзоры [10, 20, 28] и ссылки в них). Множество других *Atg* белков может непосредственно или опосредованно ассоциироваться с комплексом *Atg1*, включая *Atg11*, *Atg17*, *Atg19*, *Atg20*, *Atg24*, *Atg29*, *Atg31* и *Vac8*. Некоторые из них необходимы исключительно для

Таблица. Белки, участвующие во всех типах аутофагии у дрожжей *S. cerevisiae*

Функция	Белки
Сигнальные белки, необходимые для индукции аутофагии	Протеинкиназа Tor1, протеинкиназа А, Sch9, Tap42 и фосфатаза типа 2А
Белки, участвующие в процессе упаковки cargo	Atg19, Atg11 и Atg8
Белки, задействованные в образовании фагофора	Atg1, Atg11, Atg13, Atg17, Atg29 и Atg31
Белки, участвующие в зарождении, развитии и созревании везикул	Atg3-5, Atg6, Atg7-9, Atg10, Atg12, Atg14, Atg16, фосфатидилинозитол-3-киназа
Белки, участвующие в рециркуляции белков	Atg1, Atg2, Atg18, Atg23 и Atg27
Белок, ответственный за гомотипическое слияние изолирующей мембраны	Tlg2
Белки, отвечающие за доставку и гетеротипичное слияние между аутофагосомой и вакуолью	v- и t-SNAREs, Ccz1, Mon1, комплекс HOPS
Белки, участвующие в деградации cargo в вакуолях	Atg15, протеиназы А и В

макроаутофагии, тогда как другие нужны лишь для Cvt-пути. Белок Atg11, по-видимому, функционирует в качестве общего каркаса, связывающего доставляемые белки с Atg1. Atg11 до настоящего времени идентифицирован лишь у грибов, ортолога Atg11 у высших эукариот не найдено.

В условиях достаточного обеспечения питательными веществами TORC1 блокирует макроаутофагию, не препятствуя гиперфосфорилированию Atg13. В условиях ограничения питательных веществ уровень фосфорилирования Atg13 уменьшается, что увеличивает его сродство к Atg1. Образовавшийся низкофосфорилированный комплекс Atg1/Atg13 инициирует макроаутофагию. Комплекс Atg1 также является важным переключателем между макроаутофагией и селективным Cvt-путем. Физиологическим субстратом для Atg1 является белок Atg9, единственный мембранный белок в основном процессе аутофагии (см. [28]). Он состоит из 6 трансмембранных α -спиралей, причем N- и C-концы белка ориентированы в цитоплазму.

В дрожжах *S. cerevisiae* Atg9 фосфорилируется Atg1-киназой по остаткам Ser19, Ser802, Thr804, Ser831, Ser842, Ser948 and Ser969 на ранних стадиях аутофагии. На ранних стадиях аутофагии происходит также образование субкомплекса Atg17-Atg31-Atg29, связывание которого с Atg13 и Atg13 необходимо для инициации образования фагофора. Фосфорилирование 23-х остатков серина и треонина на С-конце Atg29 облегчает его связывание с Atg11 (см. [28]). Atg1 и Atg13 не являются единственными компонентами комплекса Atg1

Комплекс, контролирующий начальные этапы процессов аутофагии состоит из сериново-треониновой протеинкиназы Vps15, фосфоинозитол-3-киназы Vps34 (фосфатидилинозитол-3 киназы класса III, а также белков Atg6 и Atg14. Активность комплекса по отношению к локализованному на мембране фосфоинозитолу вовлекает в процесс связывания белки Atg18, Atg21, ранее упомянутые Atg20 и Atg24 и интегральный мембранный белок Atg27 (см. обзоры [10, 20, 30] и ссылки в них). Второй этап формирования везикул требует два набора белков, участвующих в двух убиквитин-зависимых реакциях конъюгации. В первой реакции конъюгации протеаза Atg4 процессирует убиквитин-подобный белок Atg8 таким образом, что тот ковалентно связывается через глицин на С-конце с фосфоэтаноломином в фагофоре. Эта конъюгация требует активностей ферментов E1(Atg7) и E2 (Atg3). Кроме того, связывание Atg8 с фосфоэтаноломином также зависит от продукта второй реакции Atg12, который ковалентно связывается с Atg5 посредством консервативного остатка лизина. Этот этап конъюгации катализируется тем же ферментом E1 Atg7, однако требует участия другого белка другого Atg10 (фермента E2). Конъюгация посредством Atg5 и Atg12 аналогична действию фермента E3 в конъюгации фосфатидилэтаноламина с Atg8 (см. обзоры [10, 20, 28] и ссылки в них). Наконец, биспиральный (coiled-coil) белок Atg16 нековалентно связывается с конъюгатом Atg5Atg12. Показано, что для увеличения везикулы необходимо связывание фосфатидилэтаноламина с Atg8 на мембране и образование комплекса Atg5Atg12/Atg16. Этот комплекс, по-видимому, образует временную оболочку, придавая, таким образом, форму мембране фагофора. В дальнейшем интегральные мембранные белки Atg9 и Atg27 и ассоциированный с мембраной белок Atg23 (см. обзоры [10, 20, 30] и ссылки в них) переносятся в виде небольших мембранных везикул к фагофору и включаются в его состав. Во время роста мембраны, белки Atg9, Atg23 и Atg27 постоянно перемещаются между фагофором и иными, пока еще не до конца идентифицированными мембранными структурами. Не все

белки, участвующие в росте фагофора, локализуются на двойной мембранной структуре. Многие белки, включая Atg8 и комплекс Atg5Atg12/Atg16, освобождаются после завершения формирования фагофора. Постоянно освобождаются также белки Atg9, Atg23 и Atg27 в процессе, зависящем от Atg1, Atg2 и Atg18. Освобождение ковалентно связанного белка Atg8 включает отщепление фосфатидилэтаноламина протеазой Atg4. В то же время значительная часть Atg8 остается внутри сформированной везикулы и сопровождает перенос направляемых в вакуоль белков, где и подвергается деградации. После завершения образования аутофагосомы происходит слияние ее внешней мембраны с вакуолярной мембраной. Этот этап использует те же компоненты, которые участвуют в гомотипическом слиянии мембран у животных, таких как SNARE (Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor (NSF) Attachment REceptors) и комплекс HOPS (HOMotypic fusion and vacuole Protein Sorting complex) [31]. По-видимому, подобные, если не идентичные, механизмы гомотипического слияния мембран существуют у *S. cerevisiae* и других видов дрожжей. Соответствующие белки не имеют обозначения Atg, поскольку участвуют также во взаимодействии мембран, не связанных с аутофагией. Такое слияние заканчивается введением переносимого материала в вакуоль, где он деградирует.

Вакуоли дрожжей содержат множество протеаз. Интегральные мембранные белки Atg15 и Atg22, по-видимому, участвуют в экспорте регенерированного материала из вакуоли в цитозоль (см. обзоры [10, 18-20, 28] и ссылки в них).

Протеинкиназа Atg1 и ее партнер Atg13, убиквитин-подобные белки (Atg3, Atg4, Atg5, Atg7, Atg8, Atg10, Atg12 и Atg16), компоненты, участвующие в доставке липидов к фагофору (Atg2, Atg9 и Atg8) и компоненты, составляющие часть фосфатидилинозитол-3-киназного комплекса I Atg6 и Atg14, важны для всех типов аутофагии, включая и митофагию. В то же время белки Atg11 (адапторный белок для распознавания cargo), Atg20 и Atg24 необходимы для митофагии, но не макрофагии.

IV. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ, ЛЕЖАЩИЕ В ОСНОВЕ МИТОФАГИИ У ДРОЖЖЕЙ

Селективный путь деградации митохондрий в дрожжах требует взаимодействия нескольких белков: рецептора Atg32, заякоренного на внешней мембране митохондрий, цитоплазматического адаптора Atg11 и Atg8, белка на внутренней поверхности фагофора [32, 33].

Atg32 – это 59-кДа белок, локализованный во внешней митохондриальной мембране, N- и C-концевые домены которого ориентированы соответственно в сторону цитоплазмы и межмембранного пространства; он по всей вероятности выполняет функции митохондриального рецептора и связывает Atg11 в ходе митофагии (см. обзоры [10, 20] и ссылки в них). Это единственный митохондриальный рецептор, участвующий в митофагии дрожжей, в то время как в клетках млекопитающих таких митохондриальных рецепторов обнаружено четыре – FUNDC1, NIX/BNIP3, BNIP3 и Bcl2L13

В своей структуре Atg32 имеет WXXI/L/V- мотив, который присутствует также в дрожжевом Atg19 и в белке млекопитающих p62/SQSTM1, которые связывают соответственно Atg8 (см. обзор [10] и ссылки в нем). По всей вероятности, Atg32 связывает убиквитин-подобный белок Atg8 через этот мотив и это связывание необходимо для эффективного удержания митохондрий фагофором [34]. Мутации в Trp86 и Ile89 W86 QAI мотива уменьшает связывание Atg32 с Atg8, приводя к частичному ингибированию митофагии. Замены в Trp86 и Ile89 W⁸⁶QAI мотива у Atg32 уменьшали связывание Atg32 и Atg8, приводя к нарушению митофагии [23, 35]. Предполагается, что образование Atg32–Atg8 комплекса облегчает взаимодействие окружающей мембраны аутофагосомы (ее вогнутой части) с митохондрией. Atg32 содержит также I12/VLS мотив, который важен для связывания с Atg1.

Atg11, рецептор избирательной аутофагии, участвует в доставке ряда cargoes в аутофагосомы через его взаимодействие с Atg8 (см. обзор [10] и ссылки в нем). Белок Atg11 участвует в деградации не только митохондрий, но и пероксисом и Cvt –комплексов [32]. Согласно опытам с использованием метода иммунопреципитации, комплекс Atg32–Atg11 формируется и его количество существенно увеличивается в условиях, индуцирующих митофагию [22]. Более того, митофагия осуществляется через специфическую точку сборки фагофора (phagophore assembly site, PAS), которая отличается от участка связывания Cvt везикул и неспецифической аутофагосомы млекопитающих [22].

Белок Atg33 имеет молекулярную массу 20 кДа и также локализован во внешней митохондриальной мембране. Предполагается (см. обзор [10] и ссылки в нем), что Atg33 необходим для детектирования старых митохондрий в клетках дрожжей стационарной фазы роста.

V. ИНДУКЦИЯ И РЕГУЛЯЦИЯ МИТОФАГИИ У ДРОЖЖЕЙ ФАКТОРЫ, УЧАСТВУЮЩИЕ В РЕГУЛЯЦИИ МИТОФАГИИ ДРОЖЖЕЙ И СВЯЗАННЫЕ С ATG32

Индукция митофагии у дрожжей зависит от условий культивирования, она активируется при переносе дрожжевых клеток стационарной фазы роста на среду, дефицитную по азоту [36, 37] или при добавлении к клеткам, предварительно выращенным на среде, способствующей пролиферации митохондрий (например, при использовании лактата или глицерина в качестве основного источника углерода), рапамицина – ингибитора Tor [38, 39]. Делеция в промоторе ATG32, выявила, что подавление комплексом Tor и Ume6–Sin3–Rpd3 [40. N-ацетилцистеин (предшественник глутатиона в клетке) ингибировал экспрессию Atg32 и митофагию [23, 41]. Делеция по гену *ume1*, кодирующему каталитическую субъединицу i-AAA протеазы, локализованную во внутренней мембране митохондрий и осуществляющую процессинг С-концевого IMS домена Atg32, также блокировала митофагию и взаимодействие Atg32 с Atg11 [42], хотя эта точка зрения разделяется не всеми [43].

Найдено, что посттрансляционная модификация играет важную роль в регуляции митофагии у дрожжей, опосредованной Atg32. Ser114 и Ser119 в Atg32 фосфорилируются в условиях индукции митофагии и это фосфорилирование, особенно Ser114, стабилизирует взаимодействие Atg11 с Atg32. В качестве возможного медиатора в фосфорилировании сериновых остатков Atg32 называют кazeиновую киназу 2 (KK2) (см. обзор [20] и ссылки в нем). Интересно, что ингибирование KK2-зависимого фосфорилирования блокирует только митофагию, но не макроаутофагию, пексофагию или Cvt путь.

В аэробных условиях, не предвещающих повреждения митохондрий, Atg32 деградирует с помощью механизмов, зависимых и независимых от аутофагии (см. обзор [20] и ссылки в нем). Модификация белков в результате взаимодействия с белковым комплексом NatA (терминальной ацилтрансферазой А), состоящей из каталитической субъединицы Ard1 и адапторной субъединицей Nat1, важна для ранней стадии регуляции митофагии у дрожжей, причем именно митофагии, а не макроаутофагии [44], NatA связывается с белком через Nat1 и ацетирует второй аминокислотный остаток во вновь синтезированной полипептидной цепи. Мутанты, лишенные Ard1 и NatA1, имеют дефекты в индукции Atg32. Сверхэкспрессия ATG32 частично восстанавливала митофагию в клетках, лишенных NatA1, что предполагает участие NatA1 в митофагии, по крайней мере, частично, через индукцию Atg32 [44].

Потеря метилтрансферазы Ori3, участвующей в превращении фосфатидилэтаноламина в фосфатидилхолин, улучшает экспрессию Atg32 и Atg32-зависимую митофагию, в то время как терминальная N-ацетиламинотрансфераза, ассоциированная с рибосомой и ацетилирующая 2-й аминокислотный остаток рождающегося полипептида, ухудшает митофагию, которая частично восстанавливается после сверхпродукции Atg32 [45].

Активируемые митогенами протеинкиназы (mitogen-activated protein kinases, MAPKs) – Hog1 and Slt2 – связаны с митофагией дрожжей [46, 47]. Hog1 – это киназа основного каскада, преобразующего осморегуляторный сигнал [48], включающего Sln1 (сенсор сигнала на плазматической мембране), Ssk1 (цитоплазматический регулятор передачи сигнала на Sln1) и Pbs2 (МАРК-киназу Hog1). Делеция по гену *Hog1* подавляла фосфорилирование Atg32, но опосредованно [46].

ФАКТОРЫ, УЧАСТВУЮЩИЕ В МИТОФАГИИ ДРОЖЖЕЙ, НЕ СВЯЗАННЫЕ НЕПОСРЕДСТВЕННО С ATG32

МАРК-киназа Bck1 [49], как и весь Bck1-сигнальный путь, необходимы для индукции митофагии [47]. Полагают, что такие сенсоры плазматической мембраны и ЭП, как сенсоры стресса на клеточной поверхности Wsc1, Wsc2, Wsc3, Wsc4 (wall signaling proteins 1–4), Mid2 и Mtl1 также участвуют в митофагии [47, 50].

Белок Aup1, ортолог фосфатазы РР1К млекопитающих, взаимодействующей с серин/треониновой киназой Atg1, локализованный в межмембранном пространстве митохондрий *S. cerevisiae*, необходим для митофагии при переходе дрожжевых клеток в стационарную фазу роста при росте клеток на лактат-содержащей среде [39]. Делеция по *AUP1* приводила к изменению фосфорилирования Rtg3 (цитозольного транскрипционного фактора ретроградного сигнального пути) в этих условиях, а делеция по гену *RTG* вызывала дефекты митофагии в клетках дрожжей стационарной фазы роста [51].

Делеция по гену *Atg33* частично подавляла митофагию, индуцированную рапамицином в престаационарной фазе роста [43, 49].

Делеция хотя бы по одному из белков Mmm1, Mdm10, Mdm12 и Mdm34, входящих в состав точки контакта ЭПР и митохондрий [52], полностью подавляла митофагию [36]. Важно, что в точках контакта ЭПР и митохондрии имеет место колокализация Atg5, Atg8, Atg9, Atg14, и Atg32 после индукции митофагии, в частности, Mdm12 and Mdm34 колокализуются с Atg11 и Atg32 [53]. Предполагается, что такой контакт ЭПР и митохондрий необходим для снабжения липидами фагофора при образовании аутофагосомы в ходе митофагии.

Эти данные не согласуются с результатами [54], согласно которым в *S. cerevisiae* убиквитинирование Mdm34 и Mdm12 в точке контакта ЭПР и митохондрий с помощью E3 лигазы Rsp5 необходимо для эффективной митофагии.

ФАКТОРЫ, УЧАСТВУЮЩИЕ В РЕГУЛЯЦИИ МИТОФАГИИ ДРОЖЖЕЙ И СВЯЗАННЫЕ С СОСТОЯНИЕМ МИТОХОНДРИЙ

Как правило, митофагии в клетках дрожжей предшествует фрагментация митохондрий. Митохондрии эукариот, включая дрожжи, постоянно меняют размеры и форму, подвергаясь двум противоположным процессам – слиянию и фрагментации под действием динамин-подобных белков [55]. Полагают, что циклы слияния и фрагментации митохондрий позволяют клетке отделять (сегрегировать) поврежденные митохондрии. В *S. cerevisiae*, фрагментация митохондрий осуществляется с помощью белка Dnm1p, образующего на внешней митохондриальной мембране комплекс с тремя другими белками Fis1p, Mdv1p и Caf4p [10]. Делеции по генам, кодирующим эти белки, подавляют митофагию [53, 56, 57]. Есть основания полагать, что после индукции митофагии Atg11 мобилизует процесс митохондриальной фрагментации с помощью Atg11-Dnm1p взаимодействия. Мутация в домене Dnm1p, препятствующая этому взаимодействию, мешает эффективной индукции митофагии, хотя не препятствует самой фрагментации органелл [53]. В то же время, фрагментация митохондрий, по-видимому, не является необходимой для рапамицин-индуцированной митофагии [58].

Потеря дрожжевыми клетками Isc1p – ортолога нейтральной сфингомилиназы 2 млекопитающих, сопровождается повышением уровня Dnm1p, фрагментацией митохондрий и активацией митофагии [59], что позволяет предположить координацию процессов митофагии, фрагментации митохондрий и липидного обмена.

Показано, что чувствительные к температуре мутанты по АТФ-синтазе «включают» митофагию при снижении трансмембранного потенциала при 37 °С [60]. Мутации по гену *Mdm38*, кодирующему белок, отвечающий за локализацию во внутренней мембране K^+/H^+ и Ca_2^+/H^+ антипортеров [61, 62], приводила к снижению мембранного потенциала, набуханию митохондрий и митофагии [25].

Исследование хронологического старения клеток дрожжей *S. cerevisiae* в условиях недостатка питания показало, что дефицитные по митофагии клетки имели митохондрии измененной морфологии, сниженную скорость дыхания, пониженный уровень внутриклеточного АТФ и увеличенную продукцию АФК [63]. В мутантах *atg32Δ* и

atg11Δ также отмечена увеличенная продукция АФК [63]. Сходные результаты получены и для дрожжей *Schizosaccharomyces pombe* [64].

Такие активаторы митофагии в клетках млекопитающих как классический анионный разобщитель карбонилцианидхлорфенилгидразон или прооксидант паракват в дрожжах *S. cerevisiae* слабо индуцировали митофагию [22, 38].

В дрожжах *S. cerevisiae* индукция митофагии приводила к перемещению в митохондрии деубиквитирующего комплекса Ubp3-Bre5, что вызывало ингибирование митофагии при активации макроаутофагии [65, 66], рибофагии и Cvt-пути [14]. Эти результаты важны с нескольких точек зрения. Во-первых был впервые обнаружен негативный регулятор митофагии в дрожжах, связанный с убиквитинированием-деубиквитинированием. До сих пор этот тип регуляции в дрожжах не был известен, в то время как в животных клетках убиквитин-/PINK1-/Parkin-зависимая митофагия хорошо изучена [66]. Во-вторых, была показана реципрокная регуляция митофагии и других типов аутофагии, которая может иметь большой физиологический смысл. В третьих, это открывает возможность использования дрожжей, по крайней мере, *S. cerevisiae*, в качестве модельного организма для изучения регуляции митофагии путем убиквитинирования-деубиквитинирования. Это было подтверждено недавними исследованиями по гетерологической экспрессии PARKIN человека в дрожжах *S. cerevisiae* [67].

VI. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, митофагия представляет собой сложный процесс, вовлекающий многочисленные факторы, некоторые из которых не влияют непосредственно на сам процесс митофагии, но важны для взаимной координации митофагии с другими процессами поддержания жизнедеятельности клетки.

Процесс митофагии, направленный на удаление поврежденных органелл является важным, но не единственным механизмом, поддерживающий количество и качество этих органелл [68]. Мы уже упоминали выше о процессах фрагментации и слияния митохондрий. Другие механизмы, контролирующие количество митохондрий, включают биогенез митохондрий, системы деградации белков [69], ферменты репарации мДНК [70] и др.

Недавно было показано [71], что разрушение *ATG5* and *ATG32* генов в клетках *S. cerevisiae* при голодании и в условиях стресса, вызывающих дисфункцию митохондрий, активирует протеосомы. Как было указано выше, при индукции митофагии, деубиквитирующий комп-

лекс Ubr3-Bre5 в дрожжах *S. cerevisiae* перемещался в митохондрии и ингибировал митофагию, активируя в то же время макроаутофагию [33, 66], рибофагию и Cvt-путь [14].

Возможно, именно скоординированная работа вышеперечисленных механизмов является причиной того, что, у дрожжей *S. cerevisiae*, в отличие от млекопитающих [72], митофагия не является критически необходимой для сохранения жизнеспособности клеток. Так, дефицитный по митофагии *atg32Δ* штамм *S. cerevisiae*, хотя и имел измененные, ухудшенные морфологические и физиологические параметры [63], тем не менее сохранял жизнеспособность [22, 23]. Однако мы не исключаем, что такого рода заключение может быть справедливым лишь для дрожжей *S. cerevisiae*, являющихся факультативными анаэробами, для которых утрата части митохондрий не является критичной. Вполне вероятно, что при использовании в качестве моделей дрожжей аэробного типа обмена, энергозапасание которых целиком или преимущественно определяется функционированием митохондрий, результат был бы другим. То же может относиться и к заключению о том, что деполяризация мембраны если и необходима, то недостаточна для индукции митофагии в дрожжевых клетках (см. [10], т.е. необходимы дополнительные факторы или сигнальные пути.

В целом, следует признать, что хотя за последнее время был достигнут впечатляющий успех в исследованиях митофагии у дрожжей, цельная картина процесса и его регуляции пока отсутствует. Как уже указывалось выше, в дрожжах фагофор обычно образуется вблизи поверхности вакуоли и большая часть белков Atg накапливается на фагофоре в результате селективной и неселективной аутофагии. В процессе митофагии митохондрии (cargo) доставляются к фагофору с помощью белка Atg11 до образования митофагосом. Относительно последующих процессов митофагии нет единого мнения. Некоторые исследователи (см. обзор [20] и ссылки в нем), полагаясь на данные электронной микроскопии, утверждают, что поглощение митохондрий имеет место непосредственно на вакуолярной мембране. Другие наблюдали образование митофагосом (по аналогии с макрофагосомами) в цитозоле. Последняя стадия – доставка митохондрий в вакуолярный люмен остается пока наименее изученной.

Пока непонятно, каким образом индивидуальные митохондрии выявляются клеткой для определения их дальнейшей судьбы, какова регуляция этого процесса. Ответы на эти и другие вопросы требуют дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zhang, Y., and Avalos, J.L. (2017) Traditional and novel tools to probe the mitochondrial metabolism in health and disease, *Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med.*, **9**, 2.
2. Dudek, J. (2017) Role of Cardiolipin in Mitochondrial Signaling Pathways, *Front. Cell. Dev. Biol.*, **5**, 90.
3. Dhingra, R., and Kirshenbaum, L.A. (2014) Regulation of mitochondrial dynamics and cell fate, *Circ. J.*, **78**, 803–810.
4. Sander, L.E., and Garaude, J. (2018) The mitochondrial respiratory chain: A metabolic rheostat of innate immune cell-mediated antibacterial responses. *Mitochondrion*, **41**, 28–36.
5. Geng, L., Wang, Z., Cui, C., Zhu, Y., Shi, J., Wang, J., and Chen, M. (2018) Rapid Electrical Stimulation Increased Cardiac Apoptosis Through Disturbance of Calcium Homeostasis and Mitochondrial Dysfunction in Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes. *Cell. Physiol. Biochem.*, **47**, 1167–1180.
6. Georgieva, E., Ivanova, D., Zhelev, Z., Bakalova, R., Gulubova, M., and Aoki, I. (2017) Mitochondrial Dysfunction and Redox Imbalance as a Diagnostic Marker of «Free Radical Diseases». *Anticancer Res.*, **37**, 5373–5381.
7. Wallace, D.C. (2005) A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: a dawn for evolutionary medicine. *Annu. Rev. Genet.*, **39**, 359–407.
8. De Duve, C., and Wattiaux, R. (1966) Functions of lysosomes. *Annu. Rev. Physiol.*, **28**, 435–492.
9. Mizushima, N. (2010) Autophagy. *FEBS Lett.*, **584**, 1279–1279.
10. Kanki, T., Furukawa, K., and Yamashita, S. (2015) Mitophagy in yeast: Molecular mechanisms and physiological role. *Molecular Cell Research*, **1853**, Part B, 2756–2765.
11. Goleva, E, Harris, J.K., Robertson, C.E., Jackson, L.P., Martin, R.J., and Leung, D.Y.M. (2017) Airway microbiome and responses to corticosteroids in corticosteroid-resistant asthma patients treated with acid suppression medications. *J. Allergy Clin. Immunol.* **140**, 860–862.e1.
12. Zhang, J., Tripathi, D.N., Jing, J., Alexander, A., Kim, J., Powell, R.T., Dere, R., Tait-Mulder, J., Lee, J.H., Paull, T.T., Pandita, R.K., Charaka, V.K., Pandita, T.K., Kastan, M.B., and Walker, C.L. (2015) ATM functions at the peroxisome to induce pexophagy in response to ROS. *Nat. Cell Biol.*, **17**, 1259–1269.
13. Bernales, S., Schuck, S., and Walter, P. (2007) ER-phagy: selective autophagy of the endoplasmic reticulum. *Autophagy*, **3**, 285–287.
14. Kraft, C., Deplazes, A., Sohrmann, M., and Peter, M. (2008) Mature ribosomes are selectively degraded upon starvation by an autophagy pathway requiring the Ubp3p/Bre5p ubiquitin protease. *Nat. Cell Biol.*, **10**, 602–610.
15. Singh, R., Kaushik, S., Wang, Y., Xiang, Y., Novak, I., Komatsu, M., Tanaka, K., Cuervo, A.M., and Czaja, M.J. (2009) Autophagy regulates lipid metabolism. *Nature*, **458**, 1131–1135.
16. Levine B. (2005) Eating oneself and uninvited guests: autophagy-related pathways in cellular defense. *Cell*, **120**, 159–162.
17. Popova, B., Kleinknecht, A., Arendarski, P., Mischke, J., Wang, D., Braus, G.H. (2018) Sumoylation Protects Against β -Synuclein Toxicity in Yeast. *Front. Mol. Neurosci.* **2**, 11–94.
18. Parzych, K.R., and Klionsky, D.J. (2014) An overview of autophagy: morphology, mechanism, and regulation. *Antioxid. Redox Signal.*, **20**, 460–473.
19. Feng, Y., He, D., Yao, Z., and Klionsky, D.J. (2014) The machinery of macroautophagy. *Cell Res.*, **24**, 24–41.

20. Wei, H., Liu, L., and Chen, Q. (2015) Selective removal of mitochondria via mitophagy: distinct pathways for different mitochondrial stresses. *Biochim. Biophys. Acta.*, **1853** Pt B, 2784–2790.
21. Nakatogawa, H., Suzuki, K., Kamada, Y., and Ohsumi, Y. (2009) Dynamics and diversity in autophagy mechanisms: lessons from yeast. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **10**, 458–467.
22. Kanki, T., Wang, K., Cao, Y., Baba, M. and Klionsky, D.J. (2009) Atg32 is a mitochondrial protein that confers selectivity during mitophagy. *Dev. Cell*, **17**, 98–109.
23. Okamoto, K., Kondo-Okamoto, N., and Ohsumi, Y. (2009) Mitochondria-anchored receptor Atg32 mediates degradation of mitochondria via selective autophagy. *Dev. Cell*, **17**, 87–97.
24. Kissova, I., Salin, B., Schaeffer, J., Bhatia, S., Manon, S., and Camougrand, N. (2007) Selective and non-selective autophagic degradation of mitochondria in yeast. *Autophagy*, **3**, 329–336.
25. Nowikovsky, K., Reipert, S., Devenish, R.J., and Schweyen, R.J. (2007) Mdm38 protein depletion causes loss of mitochondrial K⁺/H⁺ exchange activity, osmotic swelling and mitophagy. *Cell Death Differ.*, **14**, 1647–1656.
26. Fukuda, T., and Kanki, T. (2018) Mechanisms and Physiological Roles of Mitophagy in Yeast. *Mol. Cells*. **41**, 35–44.
27. Menezes, R., Tenreiro, S., Macedo, D., Santos, C.N., Outeiro, T.F. (2015) From the baker to the bedside: yeast models of Parkinson's disease. *Microb. Cell*. **27**, 262–279.
28. Popelka, H., Uversky, V.N., Klionsky, D.J. (2014) Identification of Atg3 as an intrinsically disordered polypeptide yields insights into the molecular dynamics of autophagy-related proteins in yeast. *Autophagy*. **10**, 1093–1104.
29. Schmelzle, T., and Hall, M.N. (2000) TOR, a central controller of cell growth. *Cell*, **103**, 253–262.
30. Ney, P.A. (2015) Mitochondrial autophagy: Origins, significance, and role of BNIP3 and NIX. *Biochim. Biophys. Acta.* **1853**, 2775–2783.
31. Wickner W. (2010) Membrane fusion: five lipids, four SNAREs, three chaperones, two nucleotides, and a Rab, all dancing in a ring on yeast vacuoles. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, **26**, 115–136.
32. Kanki, T., and Klionsky, D.J. (2010) The molecular mechanism of mitochondria autophagy in yeast. *Mol. Microbiol.*, **75**, 795–800.
33. Müller, M., Lu, K., and Reichert, A.S. (2015) Mitophagy and mitochondrial dynamics in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochim. Biophys. Acta.* **1853** Pt B, 2766–2774.
34. Ichimura, Y., Kirisako, T., Takao, T., Satomi, Y., Shimonishi, Y., Ishihara, N., Mizushima, I. Tanida N., Kominami, E., Ohsumi, M., Noda, T., and Ohsumi, Y. (2000) A ubiquitin-like system mediates protein lipidation. *Nature*, **408**, 488–492.
35. Kondo-Okamoto N., Noda N.N., Suzuki S.W., Nakatogawa H., Takahashi I., Matsunami M., Hashimoto A., Inagaki F., Ohsumi Y., and Okamoto, K. (2012) Autophagy-related protein 32 acts as autophagic degron and directly initiates mitophagy. *J. Biol. Chem.*, **287**, 10631–10638.
36. Bockler, S., and Westermann, B. (2014) Mitochondrial ER contacts are crucial for mitophagy in yeast. *Dev. Cell*, **28**, 450–458.
37. Eiyama, A., Kondo-Okamoto, N., and Okamoto, K. (2013) Mitochondrial degradation during starvation is selective and temporally distinct from bulk autophagy in yeast. *FEBS Lett.*, **587**, 1787–1792.
38. Kissova, I., Deffieu, M., Manon, S., and Camougrand, N. (2004) Uth1p is involved in the autophagic degradation of mitochondria. *J. Biol. Chem.*, **279**, 39068–39074.
39. Tal, R., Winter, G., Ecker, N., Klionsky, D.J., and Abeliovich, H. (2007) Aup1p, a yeast mitochondrial protein phos-

- phatase homolog, is required for efficient stationary phase mitophagy and cell survival. *J. Biol. Chem.*, **282**, 5617–5624.
40. Aihara, M., Jin, X., Kurihara, Y., Yoshida, Y., Matsushima, Y., Oku, M., Hirota, Y., Saigusa, T., Aoki, Y., Uchiumi, T., Yamamoto, T., Sakai, Y., Kang, D., and Kanki, T. (2014) Tor and the Sin3–Rpd3 complex regulate expression of the mitophagy receptor protein Atg32 in yeast. *J. Cell Sci.*, **127**, 3184–3196.
 41. Deffieu, M., Bhatia-Kissova, I., Salin, B., Galinier, A., Manon, S., and Camougrand, N. (2009) Glutathione participates in the regulation of mitophagy in yeast. *J. Biol. Chem.*, **284**, 14828–14837.
 42. Wang, K., Jin, M., Liu, X., and Klionsky, D.J. (2013) Proteolytic processing of Atg32 by the mitochondrial i-AAA protease Yme1 regulates mitophagy. *Autophagy*, **9**, 1828–1836.
 43. Welter, E., Montino, M., Reinhold, R., Schlotterhose, P., Krick, R., Dudek, J., Rehling, P., and Thumm, M. (2013) Uth1 is a mitochondrial inner membrane protein dispensable for post-log-phase and rapamycin-induced mitophagy. *FEBS J.*, **280**, 4970–4982.
 44. Eiyama A., and Okamoto, K. (2015) Protein N-terminal Acetylation by the NatA Complex Is Critical for Selective Mitochondrial Degradation. *J. Biol. Chem.*, **290**, 25034–25044.
 45. Sakakibara, K., Eiyama, A., Suzuki, S.W., Sakoh-Nakatogawa, M., Okumura, N., Tani, M., Hashimoto, A., Nagumo, S., Kondo-Okamoto, N., Kondo-Kakuta, C., Asai, E., Kirisako, H., Nakatogawa, H., Kuge, O., Takao, T., Ohsumi, Y., and Okamoto, K. (2015) Phospholipid methylation controls Atg32-mediated mitophagy and Atg8 recycling. *EMBO J.*, **34**, 2703–2719.
 46. Aoki, Y., Kanki, T., Hirota, Y., Kurihara, Y., Saigusa, T., Uchiumi, T., and Kang, D. (2011) Phosphorylation of Serine 114 on Atg32 mediates mitophagy. *Mol. Biol. Cell*, **22**, 3206–3217.
 47. Mao, K., Wang, K., Zhao, M., Xu, T., and Klionsky, D.J. (2011) Two MAPK-signaling pathways are required for mitophagy in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Cell Biol.*, **193**, 755–767.
 48. Seet, B.T. and Pawson, T. (2004) MAPK signaling: Sho business. *Curr. Biol.*, **14**, R708–R710.
 49. Kanki, T., Wang, K., Baba, M., Bartholomew, C.R., Lynch-Day, M.A., Du, Z., Geng, J., J. Mao, J., Yang, Z., Yen, W.L., and Klionsky, D.J. (2009) A genomic screen for yeast mutants defective in selective mitochondria autophagy. *Mol. Biol. Cell*, **20**, 4730–4738.
 50. Levin, D.E. (2005) Cell wall integrity signaling in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **69**, 262–291.
 51. Journo, D., Mor, A., and Abeliovich, H. (2009) Aup1-mediated regulation of Rtg3 during mitophagy. *J. Biol. Chem.*, **284**, 35885–35895.
 52. Kornmann, B., Currie, E., Collins, S.R., Schuldiner, M., Nunnari, J., Weissman, J.S., and Walter, P. (2009) An ER-mitochondria tethering complex revealed by a synthetic biology screen. *Science*, **325**, 477–481.
 53. Mao, K., Wang, K., Liu, X., and Klionsky, D.J. (2013) The scaffold protein Atg11 recruits fission machinery to drive selective mitochondria degradation by autophagy. *Dev. Cell*, **26**, 9–18.
 54. Belgareh-Touzé, N., Cavellini, L., and Cohen, M.M. (2017) Ubiquitination of ERMES components by the E3 ligase Rsp5 is involved in mitophagy. *Autophagy*, **13**, 114–132.
 55. Rogov, A.G., Goleva, T.N., Trendeleva, T.A., Ovchenskova, A.P., Aliverdieva, D.A., and Zvyagil'skaya, R.A. (2018) New Data on Effects of SkQ1 and SkQT1 on Rat Liver Mitochondria and Yeast Cells. *Biochemistry (Mosc)*. **83**, 552–561.
 56. Abeliovich, H., Zarei, M., Rigbolt, K.T., Youle, R.J., and Dengjel, J. (2013) Involvement of mitochondrial dynamics in the segregation of mitochondrial matrix proteins during stationary

- phase mitophagy. *Nat. Commun.*, **4**, p. 2789–2811.
57. Bernhardt, D., Müller, M., Reichert, A.S., and Osiewacz, H.D. (2015) Simultaneous impairment of mitochondrial fission and fusion reduces mitophagy and shortens replicative lifespan. *Sci Rep.*, **5**, 7885–7894.
58. Mendl, N., Occhipinti, A., Müller, M., Wild, P., Dikic, I., and Reichert, A.S. (2011) Mitophagy in yeast is independent of mitochondrial fission and requires the stress response gene WHI2. *J. Cell Sci.*, **124**, 1339–1350.
59. Teixeira, V., Medeiros, T.C., Vilaça, R., Pereira, A.T., Chaves, S.R., Côrte-Real, M., Moradas-Ferreira, P., and Costa, V. (2015) Ceramide signalling impinges on Sit4p and Hog1p to promote mitochondrial fission and mitophagy in Isc1p-deficient cells. *Cell Signal.*, **27**, 1840–19184.
60. Priault, M., Salin, B., Schaeffer, J., Vallette, F.M., di Rago, J.P., and Martinou, J.C. (2005) Impairing the bioenergetic status and the biogenesis of mitochondria triggers mitophagy in yeast. *Cell Death Differ.*, **12**, 1613–1621.
61. Froschauer, E., Nowikovsky, K., and Schweyen, R.J.E. (2005) Ictronneutral K⁺/H⁺ exchange in mitochondrial membrane vesicles involves Yol027/Letm1 proteins. *Biochim. Biophys. Acta*, **1711**, 41–48.
62. Jiang, D.W., Zhao, L.L., and Clapham, D.E. (2009) Genome-wide RNAi screen identifies Letm1 as a mitochondrial Ca²⁺/H⁺ antiporter. *Science*, **326**, 144–147.
63. Richard, V.R., Leonov, A., Beach, A., Burstein, M.T., Koupaki, O., Gomez-Perez, A., Levy, S., Pluska, L., Mattie, S., Rafesh, R., Iouk, T., Sheibani, S., Greenwood, M., Vali, H., and Titorenko, V.I. (2013) Macromitophagy is a longevity assurance process that in chronologically aging yeast limited in calorie supply sustains functional mitochondria and maintains cellular lipid homeostasis. *Aging*, **5**, 234–269.
64. Takeda, T., Yoshida, K., Kikuchi, S., Nagao, K., Kokubu, A., Pluskal, T., Villar-Briones, A., Nakamura, T. and Yanagida, M. (2010) Synergistic roles of the proteasome and autophagy for mitochondrial maintenance and chronological lifespan in fission yeast. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 3540–3545.
65. Müller, M., Köttler, P., Behrendt, C., Walter, E., Scheckhuber, C.Q., and Entian, K.-D. (2015) Synthetic Quantitative Array technology identifies the Ubp3–Bre5 deubiquitinase complex as a negative regulator of mitophagy. *Cell Rep.*, **10**, 1215–1225.
66. Tan, T., Zimmermann, M., and Reichert, A.S. (2016) Controlling quality and amount of mitochondria by mitophagy: insights into the role of ubiquitination and deubiquitination. *Biol Chem.*, **397**, 637–647.
67. Pereira, C., Costa, V., Martins, L.M., and Saraiva, L. (2015) A yeast model of the Parkinsons disease-associated protein Parkin. *Exp. Cell Res.*, **333**, 73–79.
68. Kurihara, Y., Kanki, T., Aoki, Y., Hirota, Y., Saigusa, T., Uchiumi, T., and Kang, D. (2012) Mitophagy plays an essential role in reducing mitochondrial production of reactive oxygen species and mutation of mitochondrial DNA by maintaining mitochondrial quantity and quality in yeast. *J. Biol. Chem.*, **287**, 3265–3272.
69. Luce, K., and Osiewacz, H.D. (2009) Increasing organismal healthspan by enhancing mitochondrial protein quality control. *Nat. Cell Biol.*, **11**, 852–858.
70. Chalissery, J., Jalal, D., Al-Natour, Z., and Hassan, A.H. (2017) Repair of Oxidative DNA Damage in *Saccharomyces cerevisiae*. *DNA Repair (Amst)*, **51**, 2–13.
71. Athané, A., Buisson, A., Challier, M., Beaumatin, F., Manon, S., Bhatia-Kiššová, I., and Camougrand, N. (2015) Insights into the relationship between the proteasome and autophagy in human and yeast cells. *J. Int. Biochem. Cell. Biol.*, **64**, 167–173.

72. Martinez-Vicente, M. (2017) Neuronal Mitophagy in Neurodegenerative Diseases. *Front. Mol. Neurosci.*, **10**, 64–77.