

III型磷脂酰肌醇 3-激酶复合物与自噬的研究进展*

吴 葩 许彩民**

(中国医学科学院基础医学研究所, 生物化学与分子生物学国家重点实验室, 北京 100005)

摘要 III型磷脂酰肌醇 3-激酶(class III PI3K)是以磷脂酰肌醇(PtdIns)为底物催化产生 PtdIns3 P 的激酶, 与多种不同的调节蛋白结合形成III型 PI3K(PI3KC3)复合物, 在自噬及膜泡运输中起重要作用. PI3KC3 复合物组成成员 PI(3)KC3、p150、Beclin 1、ATG14L、UVRAG、Bif-1 和 Rubicon 在进化上大多具有高度的同源性和保守性, 并且与神经系统发育、胸腹腔内脏反位及肿瘤等多种疾病的发生和发展密切相关.

关键词 磷脂酰肌醇 3-激酶, PI3KC3 复合物, Vps34, 自噬

学科分类号 Q291

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00387

磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphoinositide 3-kinases, PI3Ks)是一类在细胞信号转导途径中起重要作用的激酶, 能特异地催化磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol, PtdIns)3位羟基磷酸化, 根据其结构特征及作用底物的不同可以分为三型. 其中, III型 PI3K 在膜泡运输及自噬体的形成中起重要作用. 随着近年来对自噬研究的深入及自噬与疾病密切关系的揭示, 国内外发表了大量关于III型 PI3K 的结构功能及其结合蛋白鉴定的文献, 本文综述了这方面的最新研究成果.

1 PI3K 家族成员概述

PI3K 家族蛋白可以催化 PtdIns、PtdIns4P 及 PtdIns(4, 5) P₂ 三类磷脂酰肌醇底物上肌醇环的 3 位羟基磷酸化, 催化产物通过结合受体蛋白上特定的结构域发挥信号转导功能, 在细胞生长、分裂、迁移、膜泡运输和自噬等过程中发挥重要作用. PI3K 家族蛋白质的催化亚基在结构上都有一个共同的核心结构, 由 C2 结构域、螺旋结构域及催化结构域组成. 除 PI3K 核心结构外, I 型 PI3K 还含有 p85 结合结构域、Ras 结合结构域; II 型 PI3K 含有 Ras 结合结构域; 而 III 型 PI3K(PI3KC3)仅含 PI3K 核心结构(图 1)^[1].

I 型 PI3K 是由催化亚基 p110 与调节亚基 p85 组成的异二聚体, 以 PtdIns(4, 5)P₂ 为底物催化产

生 PtdIns(3, 4, 5)P₃. 根据其催化亚基与调节亚基成员的不同又可以分为: 由催化亚基 p110 α 、 β 和 δ 之一与调节亚基 p85 组成的 IA 型异二聚体; 由催化亚基 p110 γ 和调节亚基 p101 组成的 IB 型异二聚体^[2-3]. 而 II 型 PI3K 的生理功能仍然不清楚, 其发现是基于与 I 型及 III 型 PI3K 的序列同源性, 主要有 PI3K γ -C2 α 、PI3K γ -C2 β 及 PI3K γ -C2 γ 三个成员, 以 PtdIns4P 为催化底物产生 PtdIns(3, 4)P₂. III 型 PI3K 即酵母 Vps34 的同源蛋白, 在进化上非常保守, 仅能以 PtdIns 为底物催化产生 PtdIns3 P^[1].

2 III型 PI3K(酵母 VPS34)复合物组成成员

III 型 PI3K 及其部分复合物中蛋白质成员在进化上非常保守, 哺乳动物中 PI3KC3、p150、Beclin 1、ATG14L 和 UVRAG 在酵母中的同源蛋白分别为 Vps34、Vps15、Vps30、Atg14 和 Vps38. PI3KC3 复合物中的各个成员能直接或间接地调节 Vps34 活性, 从而调节自噬. 目前公认

* 国家自然科学基金(30770491, 30970655), 国家重点实验室课题(2060204)和国家教委博士点基金(20091106110025)资助项目.

** 通讯联系人.

Tel: 010-65296445, E-mail: caiminxu@yahoo.com.cn

收稿日期: 2011-08-22, 接受日期: 2011-12-06

的在自噬中起重要作用的 PI3KC3 复合物核心组成成员有 Beclin 1、Vps15、Vps34, 而近几年来新鉴定的 PI3KC3 复合物成员 UVRAG、Bif-1、Rubicon、Atg14L 与 Ambra 1 参与自噬中具体步骤还不是很明确. 本文综述了对这些蛋白质进行研究的文献, 并将它们的结构特征归纳于图 1.

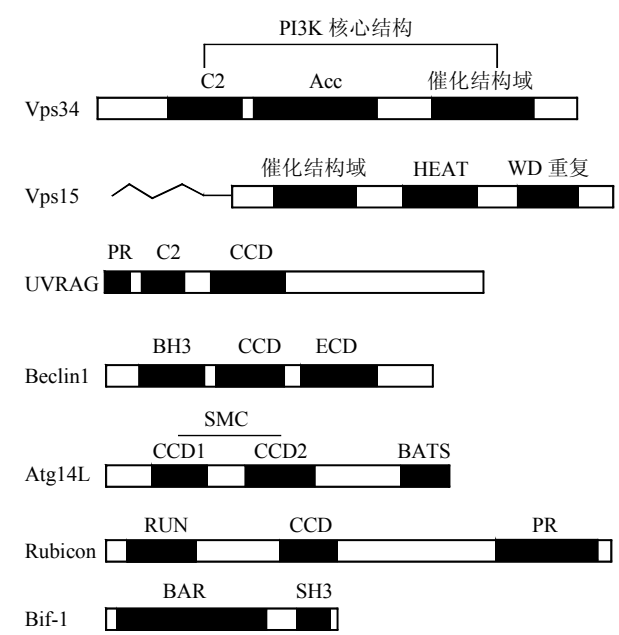


Fig. 1 The sketch for PI3KC3 complex membranes domain structure^[1, 4-6]

图 1 PI3KC3 复合物成员结构示意图^[1, 4-6]

2.1 Beclin 1/Vps30/Atg6

酵母中 Atg6/Vps30 即哺乳动物 Beclin 1 同源蛋白, 是 Vps34 复合物中参与自噬和凋亡两条途径的蛋白质, 而哺乳动物中 Beclin 1 仅参与自噬. 在酵母中, Atg6/Vps30 并不与 Vps34 直接结合而是通过 Atg14 或 Vps38 与 Vps34 形成复合物, 分别参与自噬与蛋白质分选(图 2). 人的 Beclin 1 与酵母 Atg6/Vps30 有 24.4% 的同源性, 已经确证仅在自噬中发挥重要作用, 而不参与膜泡运输. 对 Beclin 1 的结构学分析^[4]表明其含有一个 BH3 结构域, 是 Bcl-2 家族成员并可与 Bcl-2 结合. Beclin 1 中还含有一个 ECD 结构域(Beclin 1 与 III 型 PI3K 结合需要该结构域)和一个 CCD 结构域. Beclin 1 分子间可以通过 CCD 结构域形成同二聚体^[7], 又可与 UVRAG、Atg14 的 CCD 结构域结合形成异二聚体. 对这些 CCD 结构域的晶体结构进行分析发现,

CCD 结构域表面的 a-d 配对及关键残基的电荷性直接影响二聚体的稳定性及不同 PI3KC3 复合物的形成^[8]. Beclin 1 作为 Bcl-2 家族成员既可以与 Bcl-2、Bcl-XL 结合调控凋亡又与 III 型 PI3K 形成复合物在自噬过程中发挥关键作用, 是凋亡与自噬途径相互交流和协调的重要蛋白质^[9].

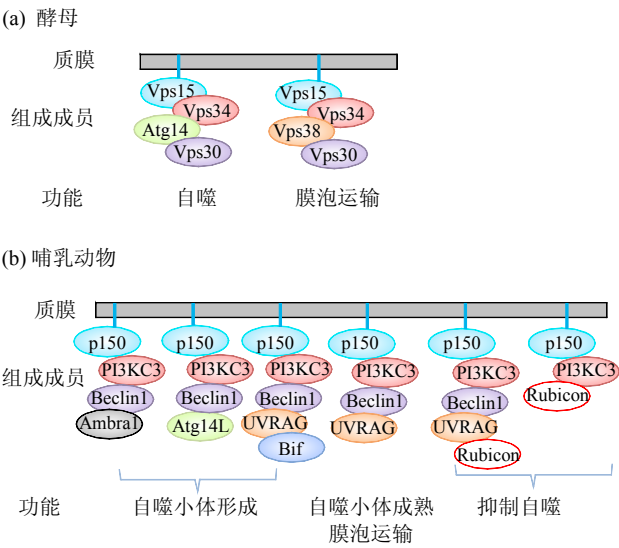


Fig. 2 Vps34-Vps15 complexes in yeast and mammals^[11, 10-12]

图 2 酵母及哺乳动物中 PI3KC3 复合物^[11, 10-12]

2.2 p150/Vps15

哺乳动物中 p150 即酵母 Vps15, 能与 PI3KC3 结合将整个 PI3KC3 复合物锚定在磷脂双层膜上. 早期的研究主要集中在酵母 Vps15. 最初 Vps15 是作为分选酵母可溶性水解酶的蛋白质被鉴定出来, 对其结构学分析认为 Vps15 在膜泡蛋白运输中具有高度特异性. 随后的研究表明, Vps15 能与 Vps34 相互作用形成异二聚体参与酵母可溶性水解酶的分选, 且 Vps34 的活性受 Vps15 介导的磷酸化调控. 而 Vps15 参与自噬过程最初是由 Stasyk 等^[13]在对酵母进行研究时提出来的. 该研究发现酵母 Vps15 缺失株即使在碳源丰富的条件下也不能对其加以利用, 电镜观察发现碳源不能被膜结构包裹. Lindmo 等^[14]开始对多细胞生物的 Vps15 进行研究, 该研究敲除了果蝇的 Vps15 后发现饥饿诱导果蝇不能形成自噬结构, 而是在细胞内形成蛋白质聚集. 随后各种研究进一步证实了 Vps15 的确是自噬中 PI3KC3 的核心成员, 并鉴定了 ATG14L、UVRAG 等调节该复合物功能的蛋白

质^[15]。目前认为早期自噬小泡的形成很可能源于内质网等膜结构上突出的膜结构与含 Rab5 的早期内体, 并通过与 p150 相互作用招募 PI3KC3^[16]。

2.3 UVRAG/Vps38

UVRAG 最初是 1990 年 Teitz 等用功能互补寻找细胞中负责抗紫外损伤、修复 DNA 的基因时发现的, 当时仅克隆到该蛋白质的 cDNA 序列。1997 年 Perelman 等^[16]将 UVRAG 定位至人 11 号染色体 11q13 亚区上 D11S916 与 D11S906 之间, 并指出该区域在多种癌症中有扩增, 该蛋白质可能与肿瘤密切相关。该研究还对 UVRAG 的结构进行了分析, 指出该蛋白质含一个结构域 CCD(coiled-coil domain)与 PEST 结构域(图 1), PEST 结构域可能引起 UVRAG 在代谢上不稳定。Ionov 等^[17]通过改进试验方法找出很可能引发直肠癌微卫星不稳定的两个基因, UVRAG 与 p300, 再一次证实了 UVRAG 与肿瘤等多种疾病有密切关系。其后也有研究表明 UVRAG 与胃癌的微卫星不稳定性相关^[18]。除肿瘤外, UVRAG 缺失可引发胸腹腔内脏反位症^[19-20]。

目前分子生物学研究认为, UVRAG 蛋白与自噬及膜泡运输相关, 但其具体的分子机制还存在争议, 主要有 3 类观点:

a. UVRAG 直接参与自噬。Liang 等^[11]在寻找与 vBcl-2 结合的蛋白质时发现了 vBcl-2-Beclin 1-UVRAG-PI3KC3 复合物, 首次提出 UVRAG 参与自噬, 并指出 UVRAG 通过其 CCD 结构域与 Beclin 1 的 CCD 结构域结合, 从而稳定 Beclin 1-PI3KC3 复合物, 并增强 PI3KC3 的激酶活性, UVRAG 缺失可能会通过下调自噬而引发癌症。Matsunaga 等^[5]和 Zhong 等^[12]的研究表明, Rubicon 与 UVRAG-Beclin 1-hVps34 复合物结合, 负调自噬和内吞, 主要是在自噬体的成熟阶段。

b. UVRAG 不参与自噬。Itakura 等^[21]认为, 在酵母中主要存在两类 PI3K 复合物: 复合物 I (Vps34、Vps15、Vps30/Atg6 和 Atg14) 参与自噬, 而复合物 II (Vps34、Vps15、Vps30/Atg6 和 Vps38) 与膜泡运输相关。哺乳动物中 Atg14 与 UVRAG 也分别与 PI3KC3 形成不同的复合物, 参与不同的分子途径。其研究认为, UVRAG 主要出现在 Rab9 阳性的内吞复合物中, 并不与 GFP-LC3 重合, 相反, Atg14 才是自噬必需蛋白。Farre 等^[22]也在酵母中找出 UVRAG 的同源蛋白 PpUvrag, 并认为其与自噬无关, 主要参与 PpCPY 分选。Lee 等^[6]的研究

认为, 果蝇的 UVRAG 基因缺失通过内吞性降解 Notch 障碍, 从而引发胸腹腔内脏反位症, 首次将近年来关于 UVRAG 的分子学研究进行了拓展, 具体解释了之前建立的 UVRAG 基因与疾病的分子机制, 但这项研究也否认了 UVRAG 在自噬中的作用。

c. UVRAG 通过膜泡运输参与自噬。研究表明, UVRAG 可以与 C-Vps 形成复合物, 该复合物功能独立于 UVRAG-VPS34 复合物, 主要激活 Rab7 的 GTP 酶活性, 促进膜囊之间的融合, 包括内体与内体的融合及自噬体与晚期内体/溶酶体之间的融合, 促进被吞噬物质的快速降解, 从而促进自噬体的成熟和自噬过程。UVRAG-C-Vps 复合物同时促进膜泡运输及自噬体成熟两条通路^[23]。Sun 等^[24]在上述研究的基础上发现, Rubicon 能与 C-VPS/HOPS 竞争和 UVRAG 的结合, 导致 C-VPS/HOPS 不能催化 GDP-Rab7 转化为 GTP-Rab7, 从而抑制内体的成熟过程。

2.4 Rubicon

2009 年 Matsunaga 等^[5]与 Zhong 等^[12]同时纯化表达标签 -Beclin 1 融合蛋白, 并用 SDS-PAGE 寻找 Belin 1 结合蛋白, 对获得的条带进行测序后发现了 Rubicon (Run domain protein as Beclin-1 interacting and cystein-rich containing), 并证实 Rubicon 是自噬的负调蛋白。Rubicon 通过其 RUN 结构域与 hVps34 结合, 该结构域缺失导致 Rubicon 不能抑制 PI3KC3 活性, 从而不能下调自噬^[25]。不同的是 Zhong 等^[12]的研究认为 Rubicon 既可以与 Vps34、Vps15、Beclin 1、Atg14L、UVRAG 形成一个大的复合物, 也可以单独与 Vps34 结合。而 Matsunaga 等^[5, 26]提出, Atg14L 与 Rubicon 不出现在同一复合物中, UVRAG 有包含与不含 Rubicon 的两种 PI3KC3 复合物形式, 分别负调和正调自噬体成熟阶段和膜泡运输。

2.5 Bif-1

Bif-1 即 Endophilin B1, 最早由 Cuddeback 等^[27]在用酵母双杂交法寻找 Bax 结合蛋白时发现并克隆到, 并认为其可以促进 Bax 的构象改变, caspase 激活和凋亡。随后 Takahashi 等^[28]发现, Bif-1 位于线粒体, 与促凋亡蛋白 Bak 相互作用促进程序性细胞死亡, 从而抑制肿瘤发生, 并揭示了其在自噬中的作用是通过与 UVRAG 结合而成为 PI3KC3 复合物成员^[29]。Bif-1 通过其 SH3 结构域与 UVRAG 的 C2 结构域相互作用, 从而参与形成

PI3KC3 复合物. 当 PI3KC3 催化 PtdIns 磷酸化时, Bif-1 通过其 N 端两个 BAR 结构域诱导自噬体前体膜囊上的磷脂双分子层弯曲. 含 Bif-1 的弯月状膜结构通过募集含 Atg9 的微小膜结构完成自噬体的形成^[29-30]. 缺失 Bif-1 还被证实能加速 EGF、TrkA 等蛋白质的内吞性降解, 其原因可能是 Bif-1 可以促进 UVRAG 从 C 型 Vps 上解离及与 PI3KC3 复合物的形成^[31].

2.6 Atg14L/Barkor

2008~2009 年, 4 个独立的课题组几乎同时发表文章宣布发现哺乳动物 Atg14L 并对其功能进行了深入的研究. Itakura 等^[21]通过 BLAST 搜寻酵母中 Atg14 而寻找出编码 492 个氨基酸的 KIAA0831 序列, 并证实其与酵母 Atg14 一样能结合 Beclin 1 并参与自噬小体的成核过程. 而 Matsunaga^[5], Zhong^[12], Sun^[32]等则是利用免疫共沉淀原理纯化与 Beclin 1 结合的蛋白并对获得的蛋白质逐一测序并搜索同源蛋白, 发现其中一条带与酵母 Atg14L 有 15% 的相似度. 4 篇文献对 Atg14L 功能研究的结论基本一致: Atg14L 与 PI3KC3 形成复合物在自噬中发挥重要作用而不参与膜泡运输.

Atg14L 在 N 端含 3 个 CCD 结构域, 并通过中间的 CCD 结构域与 Beclin 1 的 CCD 结构域结合. 虽然 UVRAG 也含有 CCD 结构域并通过 Beclin 1 的 CCD 结构域, 但 Atg14L 与 UVRAG 不能通过 CCD 结构域结合, 也不共存于同一复合物中^[32]. Atg14L 通过 N 端中间的 CCD 结构域和 C 端第 181~400 位氨基酸与 PI3KC3 相互作用. Atg14L 富集于内质网并与富含 DFCP-1 的点共定位, 当自噬诱导时聚集到内质网上特定位点参与形成 Ω 状小体(omegasome)直接招募 PI3KC3 复合物, 并进一步参与自噬体前体膜囊的形成. Atg14L 敲除的 ES 细胞 Atg16L 及 LC3 不能呈点状分布^[33]. Fan 等发现, Atg14L 羧基端含一个 BATS(barkor autophagosome targeting sequence)结构域. 生物信息学分析发现 BATS 结构域在脊椎动物中高度保守, 二级结构分析表明该结构域中 19 个氨基酸残基可以形成典型的两性 α 螺旋^[34]. 两性 α 螺旋的特征是疏水的氨基酸残基和亲水的氨基酸残基分别位于螺旋的两侧. 两性 α 螺旋通过其疏水的一面插入磷脂双分子层的一侧, 仅增加一侧的表面积从而使磷脂双分子层产生弯曲. 当亲水的一侧氨基酸极性不是很强, 而是富含丝氨酸与苏氨酸的残基, 该两性 α 螺旋就只能与高度弯曲的膜结构结合, 感

知膜的弯曲而不是诱导膜的弯曲^[35]. Atg14L 的 BATS 正是含后种 α 螺旋, 可以感知并特异性结合富含 PtdIns3P 的弯曲的膜结构, 进而招募 PI3KC3 完成自噬小体的成核过程^[34-35].

2.7 Ambra1

Ambra1 最初是由 Fimia 等^[36]用基因突变搜寻对神经系统发育起重要作用的分子时发现的一个长达 1 300 个氨基酸的 WD40 蛋白. 进一步研究发现, Ambra1 与 Beclin1 结合, 可能通过自噬途径影响神经系统的发育, 并证实其突变可以导致严重的神经管缺陷, 自噬途径受阻, 泛素化蛋白积累, 细胞增殖失衡和凋亡性死亡过度. 该研究不仅为自噬通路发现了新的调控蛋白, 而且将自噬通路 with 神经系统发育联系起来. Humbeeck 等^[37-38]报道, 与帕金森症密切相关的 E3 泛素连接酶 Parkin 通过与 Ambra1 相互作用激活 PI3KC3 复合物, 诱导自噬前体膜囊在受损线粒体周围组装从而促进线粒体自噬, 将 Ambra1 与神经退行性疾病帕金森症及自噬联系起来, 进一步证实了 Ambra1 在自噬及神经系统中发挥重要作用. 而 Bartolomeo 等^[39-40]认为, 在正常细胞中, Ambra1-Beclin 1-Vps34 复合物通过 Ambra1 与 DLC1 结合, 从而被锚定在微管上, 当细胞被诱导自噬时, ULK1 磷酸化 Ambra1, DLC1 与 Ambra1-Beclin 1-Vps34 复合物解离, 从而释放该复合体, 使其定位于内质网诱导自噬. Strappazzon 等^[41]还报道线粒体 Bcl-2 可以通过与 Ambra1 结合抑制其对自噬的作用.

PI3KC3 复合物中很多蛋白质成员同时参与自噬与膜泡运输两条途径. 有观点也认为, 自噬的发生需要经过自噬小体的成核、成熟并与溶酶体结合才能最终降解其内容物, 而内体与晚期吞噬体和早期自噬小体融合是自噬小体成熟的重要阶段, 所以 PI3KC3 复合物成员很可能以参与膜泡运输的方式促进自噬^[1, 23]. 图 2 是在酵母及哺乳动物中分别参与自噬与膜泡运输的 PI3KC3 复合物.

3 PI3KC3 复合物与自噬

自噬是双层膜包裹细胞器及大分子物质, 形成自噬体并与酸化的晚期内体及溶酶体融合, 降解其内容物的过程. 前面已经介绍了 PI3KC3 复合物中单个蛋白质参与自噬的结构学及细胞学研究, 下面就这些蛋白质如何协调完成自噬作一归纳.

自噬始于内质网上富含 PtdIns3P 的 Ω 状小体(omegasome), 在 ATG14L-PI3KC3 复合物等的作

用下形成自噬前体膜囊,随后膜囊延伸并脱落形成自噬小体,自噬小体与早期内体,多泡体融合完成其成熟阶段形成酸性晚期自噬体,与溶酶体形成自噬溶酶体后最终降解其内容物。自噬小体的起始成核是由 TOR 整合胞外刺激信号后,由 Atg1/ULK 在内质网等膜结构上诱发的,在 Beclin1-Vps34-p150-UVRAG-Bif 的作用下膜弯曲形成自噬小体组装位点,并在分别与 Atg14L、Ambra1、UVRAG 结合的 Beclin1-Vps34-p150 作用下完成成核过程。由这些 PI3KC3 复合物产生的 PtdIns3P 将 Atg12、Atg8/LC3、Atg16L、DFCP1、Atg18/WIPI-1 等蛋白质招募到自噬小体组装位点完成延伸、封闭及脱落过程。形成的自噬小体在 COP I、ESCRT、Beclin1-Vps34-p150-UVRAG、含 UVRAG 的 C-Vps 复合物的介导下,与内体融合完成自噬小体的成熟阶段并形成酸性晚期自噬体。最后酸性晚期自噬体与溶酶体融合并降解其内容物^[17, 42]。PI3KC3 的多个复合物分别在自噬的不同阶段参与了自噬,大多直接参与自噬小体的形成,也有含 UVRAG 的 PI3KC3 复合物参与自噬小体的成熟从而保障自噬的顺利进行。

4 展 望

尽管已经明确 PI3KC3 在自噬小泡的形成过程中发挥重要作用,且 Beclin 1、Ⅲ型 PI3K、p150 的蛋白质结构及其 PI3KC3 复合物中发挥作用的分子机理都已研究得比较透彻,但是近年来鉴定的该复合体其他结合蛋白与自噬的联系还不明确,尤其是 UVRAG 及其结合蛋白在自噬中的作用还颇有争议。此外,自噬与膜泡运输中有共同的关键蛋白,具体区分这些蛋白质在各自通路中的作用及自噬与膜泡运输可能存在的相互影响都有待进一步研究。这些问题的解决,不但有助于深入探究自噬的分子机制,而且可以将自噬与疾病的发生机理联系起来,从而为临床上相关疾病的诊断及治疗提供依据。

参 考 文 献

- [1] Vanhaesebroeck B, Guillermet-Guibert J, Graupera M, *et al.* The emerging mechanisms of isoform-specific PI3K signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, **11**(5): 329-341
- [2] Dou Z, Chattopadhyay M, Pan J A, *et al.* The class IA phosphatidylinositol 3-kinase p110-beta subunit is a positive regulator of autophagy. *J Cell Biol*, 2010, **191**(4): 827-843
- [3] Zhao L, Vogt P K. Class I PI3K in oncogenic cellular transformation. *Oncogene*, 2008, **27**(41): 5486-5496
- [4] Cao Y, Klionsky D J. Physiological functions of Atg6/Beclin 1: a unique autophagy-related protein. *Cell Res*, 2007, **17**(10): 839-849
- [5] Matsunaga K, Saitoh T, Tabata K, *et al.* Two Beclin 1-binding proteins, Atg14L and Rubicon, reciprocally regulate autophagy at different stages. *Nat Cell Biol*, 2009, **11**(4): 385-396
- [6] Lee G, Liang C, Park G, *et al.* UVRAG is required for organ rotation by regulating Notch endocytosis in *Drosophila*. *Dev Biol*, 2011, **356**(2): 588-597
- [7] Noble C G, Dong J M, Manser E, *et al.* Bcl-xL and UVRAG cause a monomer-dimer switch in Beclin1. *J Biol Chem*, 2008, **283**(38): 26274-26282
- [8] Li X, He L, Che K H, *et al.* Imperfect interface of Beclin1 coiled-coil domain regulates homodimer and heterodimer formation with Atg14L and UVRAG. *Nat Commun*, 2012, **3**: 662
- [9] Kang R, Zeh H J, Lotze M T, *et al.* The Beclin 1 network regulates autophagy and apoptosis. *Cell Death Differ*, 2011, **18**(4): 571-580
- [10] Simonsen A, Tooze S A. Coordination of membrane events during autophagy by multiple class III PI3-kinase complexes. *J Cell Biol*, 2009, **186**(6): 773-782
- [11] Liang C, Feng P, Ku B, *et al.* Autophagic and tumour suppressor activity of a novel Beclin1-binding protein UVRAG. *Nat Cell Biol*, 2006, **8**(7): 688-699
- [12] Zhong Y, Wang Q J, Li X, *et al.* Distinct regulation of autophagic activity by Atg14L and Rubicon associated with Beclin 1-phosphatidylinositol-3-kinase complex. *Nat Cell Biol*, 2009, **11**(4): 468-476
- [13] Stasyk O V, van der Klei I J, Bellu A R, *et al.* A *Pichia pastoris* VPS15 homologue is required in selective peroxisome autophagy. *Curr Genet*, 1999, **36**(5): 262-269
- [14] Lindmo K, Brech A, Finley K D, *et al.* The PI 3-kinase regulator Vps15 is required for autophagic clearance of protein aggregates. *Autophagy*, 2008, **4**(4): 500-506
- [15] Thoresen S B, Pedersen N M, Liestol K, *et al.* A phosphatidylinositol 3-kinase class III sub-complex containing VPS15, VPS34, Beclin 1, UVRAG and BIF-1 regulates cytokinesis and degradative endocytic traffic. *Exp Cell Res*, 2010, **316**(20): 3368-3378
- [16] Perelman B, Dafni N, Naiman T, *et al.* Molecular cloning of a novel human gene encoding a 63-kDa protein and its sublocalization within the 11q13 locus. *Genomics*, 1997, **41**(3): 397-405
- [17] Ionov Y, Nowak N, Perucho M, *et al.* Manipulation of nonsense mediated decay identifies gene mutations in colon cancer Cells with microsatellite instability. *Oncogene*, 2004, **23**(3): 639-645
- [18] Kim M S, Jeong E G, Ahn C H, *et al.* Frameshift mutation of UVRAG, an autophagy-related gene, in gastric carcinomas with microsatellite instability. *Hum Pathol*, 2008, **39**(7): 1059-1063
- [19] Iida A, Emi M, Matsuoka R, *et al.* Identification of a gene disrupted by inv (11) (q13.5; q25) in a patient with left-right axis malformation. *Hum Genet*, 2000, **106**(3): 277-287
- [20] Goi T, Kawasaki M, Yamazaki T, *et al.* Ascending colon cancer with hepatic metastasis and cholecystolithiasis in a patient with situs inversus totalis without any expression of UVRAG mRNA: *Hum Pathol*, 2008, **39**(7): 1059-1063

- report of a case. *Surg Today*, 2003, **33**(9): 702-706
- [21] Itakura E, Kishi C, Inoue K, *et al.* Beclin 1 forms two distinct phosphatidylinositol 3-kinase complexes with mammalian Atg14 and UVRAG. *Mol Biol Cell*, 2008, **19**(12): 5360-5372
- [22] Farre J C, Mathewson R D, Manjithaya R, *et al.* Roles of *Pichia pastoris* Uvrag in vacuolar protein sorting and the phosphatidylinositol 3-kinase complex in phagophore elongation in autophagy pathways. *Autophagy*, 2010, **6**(1): 86-99
- [23] Liang C, Lee J S, Inn K S, *et al.* Beclin1-binding UVRAG targets the class C Vps complex to coordinate autophagosome maturation and endocytic trafficking. *Nat Cell Biol*, 2008, **10**(7): 776-787
- [24] Sun Q, Westphal W, Wong K N, *et al.* Rubicon controls endosome maturation as a Rab7 effector. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(45): 19338-19343
- [25] Sun Q, Zhang J, Fan W, *et al.* The RUN domain of rubicon is important for hVps34 binding, lipid kinase inhibition, and autophagy suppression. *J Biol Chem*, 2011, **286**(1): 185-191
- [26] Matsunaga K, Noda T, Yoshimori T. Binding Rubicon to cross the Rubicon. *Autophagy*, 2009, **5**(6): 876-877
- [27] Cuddeback S M, Yamaguchi H, Komatsu K, *et al.* Molecular cloning and characterization of Bif-1. A novel Src homology 3 domain-containing protein that associates with Bax. *J Biol Chem*, 2001, **276**(23): 20559-20565
- [28] Takahashi Y, Karbowski M, Yamaguchi H, *et al.* Loss of Bif-1 suppresses Bax/Bak conformational change and mitochondrial apoptosis. *Mol Cell Biol*, 2005, **25**(21): 9369-9382
- [29] Takahashi Y, Coppola D, Matsushita N, *et al.* Bif-1 interacts with Beclin 1 through UVRAG and regulates autophagy and tumorigenesis. *Nat Cell Biol*, 2007, **9**(10): 1142-1151
- [30] Takahashi Y, Meyerkord C L, Hori T, *et al.* Bif-1 regulates Atg9 trafficking by mediating the fission of Golgi membranes during autophagy. *Autophagy*, 2011, **7**(1): 61-73
- [31] Takahashi Y, Meyerkord C L, Wang H G. Bif-1/endophilin B1: a candidate for crescent driving force in autophagy. *Cell Death Differ*, 2009, **16**(7): 947-955
- [32] Sun Q, Fan W, Chen K, *et al.* Identification of Barkor as a mammalian autophagy-specific factor for Beclin 1 and class III phosphatidylinositol 3-kinase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, **105**(49): 19211-19216
- [33] Matsunaga K, Morita E, Saitoh T, *et al.* Autophagy requires endoplasmic reticulum targeting of the PI3-kinase complex via Atg14L. *J Cell Biol*, 2010, **190**(4): 511-521
- [34] Fan W, Nassiri A, Zhong Q. Autophagosome targeting and membrane curvature sensing by Barkor/Atg14(L). *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(19): 7769-7774
- [35] Wilz L, Fan W, Zhong Q. Membrane curvature response in autophagy. *Autophagy*, 2011, **7**(10): 1249-1250
- [36] Fimia G M, Stoykova A, Romagnoli A, *et al.* Ambra1 regulates autophagy and development of the nervous system. *Nature*, 2007, **447**(7148): 1121-1125
- [37] Van Humbeeck C, Cornelissen T, Vandenbergh W. Ambra1: A Parkin-binding protein involved in mitophagy. *Autophagy*, 2011, **7**(12): 1555-1556
- [38] Van Humbeeck C, Cornelissen T, Hofkens H, *et al.* Parkin interacts with Ambra1 to induce mitophagy. *J Neurosci*, 2011, **31** (28): 10249-10261
- [39] Di Bartolomeo S, Corazzari M, Nazio F, *et al.* The dynamic interaction of AMBRA1 with the dynein motor complex regulates mammalian autophagy. *J Cell Biol*, 2010, **191**(1): 155-168
- [40] Behrends C, Sowa M E, Gygi S P, *et al.* Network organization of the human autophagy system. *Nature*, 2010, **466**(7302): 68-76
- [41] Strappazzon F, Vietri-Rudan M, Campello S, *et al.* Mitochondrial BCL-2 inhibits AMBRA1-induced autophagy. *EMBO J*, 2011, **30**(7): 1195-1208
- [42] Mehrpour M, Esclatine A, Beau I, *et al.* Overview of macroautophagy regulation in mammalian cells. *Cell Res*, 2010, **20**(7): 748-762

Advances in Relationship Between Class III PI3K Complex and Autophagy*

WU Pa, XU Cai-Min**

(National Laboratory of Medical Molecular Biology, Basic Institute of Medical Science, The Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100005, China)

Abstract Class III phosphoinositide 3-kinase (class III PI3K), which specifically phosphorylate PtdIns to generate PtdIns3P, plays a vital role in autophagy and vacuolar sorting pathways by forming Class III PI3K (PI3KC3) complexes with a variety of regulatory proteins. Proteins that compose PI3KC3 complex, namely, PI3K, p150, Beclin 1, ATG14L, UVRAG, Bif-1 and Rubicon are conserved in evolution. In addition, neurodevelopment, situs inversus totalis and development of tumor are found to closely related to these members.

Key words phosphoinositide 3-kinase, PI3KC3, Vps34, autophagy

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00387

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China(30770491, 30970655), State Key Laboratory Special Fund (2060204) and Ministry of Education, China for Doctor Training Unite (20091106110025).

**Corresponding author.

Tel: 86-10-65296445, E-mail: caiminxu@yahoo.com.cn

Received: August 22, 2011 Accepted: December 6, 2011