

Beclin1-Vps34在自噬发生发展中的作用

阮雯静 万福生*

(南昌大学基础医学院, 生物化学与分子生物学教研室, 南昌 330006)

摘要 自噬是一种关于长寿蛋白质和缺陷细胞器降解且溶酶体依赖的细胞代谢过程, 对于维持细胞稳态和避免细胞衰老至关重要。最新研究表明, Beclin1-Vps34复合体既参与自噬调控又在肿瘤的形成及发展中起关键作用。该文综述了不同Beclin1-Vps34作用分子及其如何促进或抑制自噬, 简介了以Beclin1-Vps34为靶标的癌症治疗最新研究进展, 并提出了其未来发展的新方向。

关键词 Beclin1-Vps34; 自噬; 肿瘤防治

The Role of Beclin1-Vps34 in the Development of Autophagy

Ruan Wenjing, Wan Fusheng*

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, Medical College of Nanchang University, Nanchang 330006, China)

Abstract Autophagy is a lysosome-dependent cellular catabolic process involved in the degradation of long-lived proteins and defective organelles. It is essential to maintain cellular homeostasis and to avoid cellular senescence. Current studies demonstrate that Beclin1-Vps34 complexes not only involved in autophagy regulation but also played a key role in tumor formation and development. This review focuses on the different Beclin1-Vps34 interacting partners, and how they associate in various ways to promote or inhibit autophagy. Here we summarises the latest progress of Beclin1-Vps34 as the target of cancer treatment, and then raised new directions for future development.

Keywords Beclin1-Vps34; autophagy; treatment and prevention of tumor

自噬(autophagy)是一种细胞内溶酶体依赖性代谢过程, 其调控机制的失调与癌症等多种疾病的发生发展密切相关。据报道, 自噬与恶性疾病的发生有关, 包括氧化应激、炎症、先天和后天免疫等。真核生物中自噬是高度保守的。在酵母中发现的与自噬相关的众多蛋白质间的相互作用及蛋白质复合体, 在哺乳动物中也相继被发现。其中一个关键的复合体是酵母Atg6-Vps34复合体, 对应于哺乳动物的是Beclin1-Vps34复合体。最近的研究表明, Beclin1在控制Vps34介导的囊泡转运和自

噬感应中起着关键作用。本文重点叙述自噬的过程、Beclin1-Vps34复合体在自噬过程中的作用及以Beclin1-Vps34复合体为靶标的肿瘤防治。

1 自噬的类型及其发生机制

1.1 自噬的类型

自噬是以双层膜囊泡的自噬体(autophagosome)形成为特征^[1]。根据底物进入溶酶体途径的不同, 可将自噬分为巨自噬(macroautophagy)、微自噬(microautophagy)、分子伴侣介导的自噬(chaperone-

收稿日期: 2016-04-26 接受日期: 2016-07-26

国家自然科学基金(批准号: 81360032)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0791-86360228, E-mail: wanfs01@163.com

Received: April 26, 2016 Accepted: July 26, 2016

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81360032)

*Corresponding author. Tel: +86-791-86360228, E-mail: wanfs01@163.com

网络出版时间: 2016-11-04 17:14:29 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20161104.1714.010.html>

mediated autophagy, CMA)^[2]。一般所说的自噬往往指的是巨自噬。巨自噬是在内外刺激的诱导下,有双层杯状分隔膜的自噬前体不断扩张并包绕受损的细胞器或蛋白质等胞内成分形成自噬体。在微管运输作用下,自噬体外层膜与溶酶体膜融合成自噬溶酶体,再经过囊泡酸化,达到所需pH后,由多种蛋白酶降解囊泡内容物,将其分解成各自的组成成分,被细胞重新利用^[3]。微自噬是溶酶体膜局部凹陷,直接吞噬细胞器或胞质内容物,形成自噬体。自噬体进入溶酶体腔,由溶酶体酶降解并被细胞再利用。分子伴侣介导的自噬是分子伴侣如热休克蛋白70同源蛋白(heat shock cognate protein of 70 kDa, HSC70)识别具有特定五肽(赖氨酸-苯丙氨酸-谷氨酸-精氨酸-谷氨酰胺)序列的蛋白质^[4],形成分子伴侣-底物复合体。后者与溶酶体膜上的受体2(lysosome-associated membrane protein type 2, Lamp2)结合,在溶酶体腔内热休克蛋白90(heat shock protein 90, HSP90)的介导下,底物进入溶酶体腔被蛋白酶分解。

1.2 自噬发生与Beclin1-Vps34复合体

从酵母到哺乳动物,自噬过程是高度保守的,它的启动依赖于一系列自噬相关基因(autophagy related genes, Atg),目前在酵母中发现的Atg有30余种,其中大部分在哺乳动物中存在同源基因^[5]。由这些Atg蛋白质构建的体系,主要包括6个功能组。(1)ULK1(unc51-like kinase 1)复合体:由ULK-mAtg13-FIP200-Atg101组成,mAtg13作为启动子触发自噬;(2)Atg9循环体系:促进脂质转运,将自噬体延伸所需要的膜结构转运至自噬泡;(3)III型磷脂酰肌醇-3-激酶(class III phosphatidylinositol-3-kinase)复合体:由Vps34-Beclin-1-Vps15-mAtg14组成,使诸多Atg蛋白质被募集到自噬体组装位点;(4)PI3K-Atg2-Atg18复合体:满足Atg9从自噬前体逆行转运;(5)Atg12-Atg5-Atg16L复合体:诱导形成不断延长的自噬膜曲度;(6)Atg8蛋白家族:通过结合其C-端,完成对磷脂酰乙醇胺(phosphatidyl ethanolamine, PE)的修饰,最终形成自噬体^[6-7]。

2 Beclin1-Vps34复合体结构及其在自噬中的作用

1998年,Liang等^[8]在研究Bcl-2(B-cell lymphoma-2)

基因抑制Sinbis病毒复制的实验中发现了一种分子量为60 kDa的蛋白质,命名为Beclin1。*Beclin1*基因与酵母自噬基因*Atg6/Vps30*有高度同源性,能介导其他自噬蛋白质定位于自噬前体。Beclin1由BH3(Bcl-2-homology 3)、中央螺旋结构域(central coiled-coil domain, CCD)和进化保守结构域(evolutionarily conserved domain, ECD)组成^[9]。其中,ECD是Beclin1与Vps34结合位点,是自噬及肿瘤抑制的功能结构域。在ECD表面环的顶端有3个芳香族氨基酸,作为与脂质膜相互作用的疏水结构,从而帮助膜和脂质体构形改变,这种新型膜结合位点主要倾向于富含磷脂的脂质膜^[10]。

Vps34作为PI3K(phosphatidylinositol-3-kinase)的催化亚基,最初是在酵母突变体中发现的,也是酵母中发现的唯一PI3K。*PI3KC3*是酵母*Vps34*的同源基因。Vps34主要由N-端的C2结构域、CCD和C-端的磷脂激酶结构域组成。C2结构域能够结合Beclin1,且未影响体外催化活性。C-端10个残基被截断时,则其催化活性也被废除。惊奇的是,在缺失脂类基质的情况下,10个C-末端残基的截断却增强基底ATP酶活性。Vps34结合ATP磷酸盐的P-环结构朝ATP结合口袋向内卷曲,造成Vps34的ATP结合口袋比I类PI3K的ATP结合口袋空间结构小。此外,Vps34中N-裂片和C-裂片形成的残基较I类PI3K短得多^[11]。Vps34与Vps15、Beclin1形成PI3K复合体,可以底物特异性地磷酸化磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol, PI)的3-位羟基,生成3-磷酸磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol 3-phosphate, PIP₃)^[12]。PIP₃能够招募含有FYVE或PX结构域的PIP₃效应蛋白并通过一系列的信号传递调节自噬体膜的形成^[13]。

3 哺乳动物中与Beclin1-Vps34核心复合体结合的伙伴

酵母中,Atg6-Vps34-Vps15形成两类PI3K复合体。其中,以Atg14和Vps30/Atg6为辅助亚基的复合体I具自噬特异性,Vps38特异性融入的复合体II是液泡分选蛋白途径所必需。对应于酵母中两类PI3K复合体,在哺乳动物中也存在。此外,哺乳动物特有的PI3K复合体,由Vps34、Vps15、Beclin1、UVRAG(ultraviolet radiation resistance-associated

gene protein) 及 Rubicon(run domain protein as Beclin1 interacting and cysteine-rich containing)组成。Beclin1-Vps34复合体作为平台涉及不同阶段的细胞自噬信号收敛(图1)。除了常见的亚基, 每个复合体都含有一个独特因子。这些特定因子在Beclin1-Vps34复合体介导的自噬信号转导中发挥关键作用。

3.1 Atg14L

Atg14L是酵母Atg14的同系物, 连接Vps30/Atg6和Vps34, 形成PI3K复合体, 参与自噬体的成核及膜延伸, 促进自噬前体形成。Atg14L有两个重要的结构域: N-端区域中富含半胱氨酸的CCD和C-端的BATS(Barkor autophagosome targeting sequence)^[14]。Atg14L复合体对内质网的锚定是自噬体形成所必需。在营养条件下, Atg14L复合体弥漫于内质网膜内, 饥饿诱导自噬后, Atg14L聚集在内质网-线粒体结合位点^[15]。研究表明, Dpr1(Dapper 1)的过表达能显著提高自噬体形成。溶酶体抑制剂巴弗洛霉素A1(Bafilomycin A1, BafA1)在与不在的情况下, *Dpr1*^{-/-}鼠成纤维细胞LC3-II转化程度都较野生型低。结构域映射实验发现, Dpr1分别和Beclin1、Atg14L的144-272、71-180残基结合, 促进Atg14L-Beclin1-Vps34复合体的形成, 提高Vps34激酶活性。共转染Atg14L-GFP和DsRed-Dpr1的NRK(normal rat

kidney)细胞中, Atg14L-GFP荧光点数量急剧增加, 且Atg14L-GFP荧光点位置与DsRed-Dpr1重叠。随后, 在由Dpr1诱导的*ULK1*^{-/-}细胞中观察到Atg14L数量减少, 这说明ULK1对于Dpr1诱导Atg14L形成是必需的^[16]。已有研究证实, ULK1作为Beclin1-Vps34-Atg14L复合体上游因子, 促进细胞自噬^[17]。AMPK(AMP-activated protein kinase)磷酸化Beclin1的S91/S94位点激活Vps34复合体诱导自噬产生。然而, Vps34的抑制或激活却是由Atg14L决定的。当Atg14L缺失时, Vps34优先被AMPK磷酸化。相反, 当Atg14L存在于复合体中, Beclin1优先被AMPK磷酸化。两种机制可以解释这些现象: Atg14L使Beclin1成为AMPK适合的底物或者对于磷酸酶来说更难以结合的底物^[18-19]。Atg14L还可结合Beclin1-Vps34以外的复合体, 参与自噬调控。Diao等^[20]发现, Atg14L的CCD与突触融合蛋白17(syntaxin 17, STX17)的核心结构域结合, 随后STX17-SNAP29-SNARE复合体结合自噬体, 呈递给VAMP8(vesicle-associated membrane protein 8), 促进自噬体与溶酶体的融合。

3.2 UVRAG

UVRAG是酵母Vps38的哺乳动物同系物, 定位于内质网和核内体, 是众所周知的自噬体成熟调控者^[21]。自噬早期阶段, UVRAG与Beclin1/Vps34复合

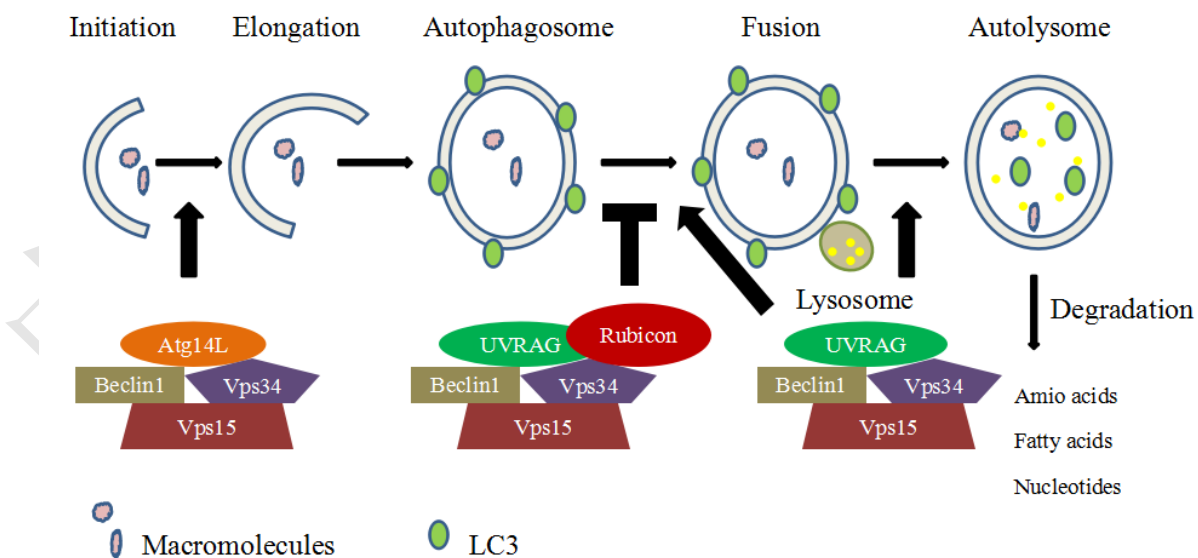


图1 Beclin1-Vps34复合体介导细胞自噬调控模式

Fig.1 The simulated image of Beclin1-Vps34 complex mediating autophagy regulation

体结合诱导自噬体成熟。自噬晚期阶段, UVRAG与C-VPS(class C subset of vacuolar protein sorting)促进自噬体与溶酶体融合。Son等^[22]通过TAP(tandem affinity purification)纯化分析46种UVRAG结合蛋白质, 排名前两位的便是Beclin1、Vps34。UVRAG直接作用于Beclin1-Vps34复合体激活自噬。UVRAG二级结构中, 紧接富含脯氨酸(proline rich, PR)氨基末端序列之后的是潜在的钙依赖性磷脂结合C2结构域和CCD结构域。UVRAG的CCD结构域直接与Beclin1结合, 虽然PR和C2结构域对于UVRAG与Beclin1结合不是必需的, 去除N-端结构域却减少了UVRAG介导的自噬体生成, 这表明, PR或C2结构域也有助于自噬体形成^[23]。UVRAG作为桥联分子, 其PR结构域与Bif-1的C-端SH3结构域结合, 促进Bif-1与Beclin1交互作用。免疫共沉淀实验证明, Bif-1较Beclin1对UVRAG有较高的结合亲和力。高表达Beclin1的CCD结构域, 破坏Bif-1与UVRAG交互作用。此外, 用siRNA敲除UVRAG, 则完全消除Bif-1-Beclin1相互作用。饥饿情况下, HeLa细胞Bif-1的SH3结构域过表达, 抑制GFP-LC3点形成。敲除HeLa细胞的Bif-1, 导致PI3KC3的酶活性显著降低。综上可知, UVRAG是Bif-1和Beclin1之间的桥梁, 以方便PI3KC3脂质激酶在饥饿条件下的活化和自噬体形成^[24]。mTOR诱导HEK293T细胞UVRAG丝氨酸498(S498)磷酸化, S498磷酸化后, 其PIP₃水平与野生型相似。而抑制UVRAG S498磷酸化可增加PIP₃在HEK293T细胞中的积累, 说明UVRAG S498的磷酸化可抑制UVRAG介导的对Vps34激酶活性的刺激^[25]。另有研究通过免疫荧光检测PIP₃在Becn1^{F/F}、Becn1^{F/F;Pcp2-Cre}小鼠浦肯野细胞中的定位, 发现PIP₃荧光信号在Becn1^{F/F}浦肯野细胞中聚集在一定区域, 在Becn1^{F/F;Pcp2-Cre}浦肯野细胞却是弥散的, 说明Beclin1的缺失影响了PIP₃的定位。同时, 在Beclin1敲除的小鼠胚胎成纤维母细胞(mouse embryonic fibroblasts, MEFs)中UVRAG的水平急剧下降, 免疫沉淀反应中的UVRAG、Atg14L及Vps34水平显著减少。这些结果表明, Beclin1的缺失对UVRAG、UVRAG-Vps34复合体具有严重影响^[26]。

3.3 Rubicon

Rubicon作为一种自噬蛋白质, 在自噬晚期阶段

定位于溶酶体, 而非自噬体。Rubicon的结构主要包括N-端的RUN结构、SR-N结构域、SR-C结构域、C-端的半胱氨酸结构域、HC结构域。Rubicon的CCD结构域与Beclin1的CCD、ECD结构域结合。有趣的是, RUN结构或半胱氨酸结构域对Rubicon与Beclin1及Vps34的结合有抑制作用^[27]。Rubicon的敲除造成溶酶体数量的显著增加, p62/SQSTM(sequestosome)水平升高。而它的过表达抑制GTPase Rab7和Vps34激酶活性, 使得晚期溶酶体形态异常并抑制自噬体成熟。研究证实, 去乙酰化酶抑制剂TSA(trichostatin A)、NAM(nicotinamide)将Beclin1的Lys430、Lys437位点乙酰化, 并未干扰Beclin1与Atg14L、Vps34、UVRAG、Bcl-2的作用, 却促进了Beclin1-Rubicon结合, 随后便抑制自噬体与溶酶体融合及降解过程^[28]。已有报道称, 乙酰化残基在适当的条件下也可成为泛素化残基, 如Beclin1的Lys437, 但去乙酰基酶抑制剂并不影响Beclin1的泛素化。Rubicon截短突变体的免疫荧光成像发现, C-端的半胱氨酸结构域对于形成富含PIP₃且与异常溶酶体相关联的Rubicon阳性结构是必需的^[27]。正向调节PI3KC3活性的UVRAG, 与C-VPS/HOPS互动是自噬体成熟所需。Rubicon作为自噬体成熟的负性调节者, 高度富集于Rab5阳性的早期内涵体, 并将UVRAG从C-VPS/HOPS隔离。Sun等^[29]证实, Rab7以GTP依赖的形式和UVRAG竞争性作用于Rubicon的C-端, 恢复PI3KC3活性。又有研究表明, KSHV K7(Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus K7)作用于Rubicon的HC结构域, 促使Rubicon与Beclin1/UVRAG/Vps34自噬复合体交互作用, 抑制Vps34脂质激酶活性^[30]。

3.4 与Beclin1结合的其他蛋白质

其他蛋白质如抗凋亡Bcl-2蛋白家族、Rab5、AMPK等也被报道是Beclin1结合蛋白。Bcl-2、Beclin1基因分别位于人类染色体18q21、17q21, Beclin1借助BH3结构域中的疏水槽稳定地与Bcl-2家族成员结合, 导致更少的Beclin1-Vps34相互作用。Bcl-2范围内的4个磷酸化位点包括Thr56、Ser70、Thr74、Ser87, 其中Ser87和Ser70的磷酸化与JNK诱导的细胞凋亡相关。缺氧/复氧激活JNK, 磷酸化并激活Bcl-2(Ser70), 使Bcl-2从Beclin1解离, 而游离Beclin1介导的自噬已被证明导致心脏组织的缺血再

灌注损伤^[31]。研究发现, Vps34的活性只有在Beclin1存在的情况下由Rab5激活, Rab5或Vps34活性受抑制将阻碍Atg5-Atg12缀合。另一项研究中, Rab5和Vps34被证明是丙型肝炎病毒NS4B(nonstructural protein 4B)诱导自噬的重要组成部分。敲除Rab5或用3-MA(3-methyladenine)抑制Vps34活性, 将大幅减少NS4B诱导GFP-LC3荧光点数量及LC3II水平。在免疫共沉淀反应中, NS4B、Rab5、Vps34、Beclin1也是彼此共沉淀的。在NS4B感染引起的自噬中, NS4B参与包含大分子Rab5、Vps34、Beclin1复合体诱导自噬体形成^[32]。Goyal等^[33]发现, 饰胶蛋白聚糖(decorin)作为可溶性自噬信号结合内皮细胞膜表面的VEGFR2(vascular endothelial growth factor receptor 2), 将AMPK α 有效且持续活化的同时还会促进Vps34与Beclin1的交互作用。有趣的是, 这种互动是伴随着Beclin1从Bcl-2/Beclin1复合体解离的。相反, 阻断AMPK信号完全封闭Beclin1的感应。这种激活AMPK且VEGFR2依赖的细胞信号转导通路揭示了一种新的细胞自噬启动和维持管理模式。

4 以Beclin1-Vps34为靶标的肿瘤防治研究

目前, 自噬已成为肿瘤发展和癌症治疗的一个重要通路, 但其确切的机制尚无定论。当前的共识是, 自噬对癌症的影响具有双重作用。研究表明, 肿瘤细胞的自噬活性显著降低^[31]; 也有研究显示, 某些肿瘤细胞保持了较高的自噬活性, 如宫颈癌、胃癌、结肠癌、肝癌和乳腺癌等^[34]。

近年来, 以Beclin1-Vps34为靶标的自噬调控日益成为肿瘤防治研究的突破口。TAW(8-p-Hydroxy-benzoyl tovarol)是一种由茴香根部分离出来的吉马烷型倍半萜。研究显示, TAW介导的内质网应激和未折叠蛋白反应可导致宫颈癌HeLa细胞非凋亡性细胞程序性死亡, 同时也检测到Beclin1上调, LC3I到LC3II的转变, p62的降解等系列自噬信号。随后, 转染Beclin1-siRNA或自噬抑制剂3-MA均显著增加了TAW对HeLa细胞的增殖抑制, 但内质网应激信号BiP、CHOP也相应增加。这说明自噬对TAW诱导的宫颈癌HeLa细胞非凋亡性细胞程序性死亡有一定的中和作用^[35]。Vps34-IN1是一种Vps34脂质激酶

活性特异性抑制剂, SGK3(serum- and glucocorticoid-regulated kinase 3)磷酸化水平及其活性可以作为监测Vps34活性的生物标志物。非PIP₃结合的SGK3(R50A)或SGK3(R90A)突变体的激酶活性, T型环和疏水基序磷酸化水平均较低。这表明, PIP₃的结合对于SGK3激活及T型环和疏水基序磷酸化水平起着至关重要的作用。Vps34-IN1阻断SGK3的PX结构域与PIP₃相互结合而达到抑制SGK3的活性及其T型环和疏水基序磷酸化水平^[36]。抑制磷脂酶D1(phospholipase D1, PLD1)活性可促进JNK磷酸化, 介导Beclin1从Beclin1/Bcl-2释放, 再与Vps34结合, 使自噬上调。PLD1抑制剂与溶酶体抑制剂联合, 如耐受性药物氯喹(chloroquine, CQ), 可促进细胞死亡及缓解肿瘤形成。这种由PLD1活性抑制而触发的自噬既是一种新的抗癌增效疗法也是一种潜在的肿瘤制约机制^[37]。Beclin1-Vps34的泛素化及降解受两种泛素特异性蛋白酶调控, USP10、USP13。spautin-1(specific and potent autophagy inhibitor-1)抑制USP10、USP13介导的去泛素化活性, 加速Beclin1-Vps34的泛素化和降解。在饥饿条件下, 自噬作为保护机制维持肿瘤细胞生存, 而spautin-1诱导的自噬抑制则促进肿瘤细胞死亡。与此同时, 一种分子伴侣介导的自噬被激活, 该途径通过降低p53的错义突变, 抑制原癌基因激活^[38]。已知PI3K信号通路是了解癌症等重大疾病的重要信号通路。近年来, 合成肽或小分子药物选择性地靶向于Beclin1-Vps34特定的结合或修饰位点已成为药物干预自噬达到预防和治疗肿瘤的新方向。

5 展望

自噬活性的变化与肿瘤发生发展相关, 以Beclin1-Vps34为靶标的肿瘤防治越来越受到人们重视。但是, Beclin1-Vps34复合体组成、体系结构、作用机制尚未完全探明。如何调控自噬、有效地利用自噬协助预防和治疗癌症任重而道远。将自噬抑制剂与化疗药物及电离辐射相结合, 可能会是一个更有前途的肿瘤治疗策略。

参考文献 (References)

- 1 Betin VM, Singleton BK, Parsons SF, Anstee DJ, Lane JD.

- Autophagy facilitates organelle clearance during differentiation of human erythroblasts: Evidence for a role for ATG-paralogs during autophagosome maturation. *Autophagy* 2013; 9(6): 881-93.
- 2 Johnson CW, Melia TJ, Yamamoto A. Modulating macroautophagy: A neuronal perspective. *Future Med Chem* 2012; 4(13): 1715-31.
- 3 Vicinanza M, Korolchuk VI, Ashkenazi A, Puri C, Menzies FM, Clarke JH, *et al.* PI(5)P regulates autophagosome biogenesis. *Mol Cell* 2015; 57(2): 219-34.
- 4 Morris DH, Yip CK, Shi Y, Chait BT, Wang QJ. BECLIN 1-VPS34 COMPLEX ARCHITECTURE: UNDERSTANDING THE NUTS AND BOLTS OF THERAPEUTIC TARGETS. *Front Biol (Beijing)* 2015; 10(5): 398-426.
- 5 Orsi A, Polson HE, Tooze SA. Membrane trafficking events that partake in autophagy. *Curr Opin Cell Biol* 2010; 22(2): 150-6.
- 6 Reggiori F, Shintani T, Nair U, Klionsky DJ. Atg9 cycles between mitochondria and the pre-autophagosomal structure in yeasts. *Autophagy* 2005; 1(2): 101-9.
- 7 Mizushima N. The role of the Atg1/ULK1 complex in autophagy regulation. *Curr Opin Cell Biol* 2010; 22(2): 132-9.
- 8 Liang XH, Jackson S, Seaman M, Brown K, Kempkes B, Hibshoosh H, *et al.* Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin1. *Nature* 1999; 402(6762): 672-6.
- 9 Cao Y, Klionsky DJ. Physiological functions of Atg6/Beclin 1: A unique autophagy-related protein. *Cell Res* 2007; 17(10): 839-49.
- 10 Huang W, Choi W, Hu W, Mi N, Guo Q, Ma M, *et al.* Crystal structure and biochemical analyses reveal Beclin1 as a novel membrane binding protein. *Cell Res* 2012; 22(3): 473-89.
- 11 Miller S, Tavshanjian B, Oleksy A, Perisic O, Houseman BT, Shokat KM, *et al.* Shaping development of autophagy inhibitors with the structure of the lipid kinase Vps34. *Science* 2010; 327(5973): 1638-42.
- 12 McKnight NC, Zhenyu Y. Beclin 1, an essential component and master regulator of PI3KIII in health and disease. *Curr Pathobiol Rep* 2013; 1(4): 231-8.
- 13 Simonsen A, Tooze SA. Coordination of membrane events during autophagy by multiple class PI3-kinase complexes. *J Cell Biol* 2009; 186(6): 773-82.
- 14 Zhao ZF, Tao LJ, Shen C, Liu B, Yang ZM, Tao HM. Silencing of Barkor/ATG14 sensitizes osteosarcoma cells to cisplatin induced apoptosis. *Int J Mol Med* 2014; 33(2): 271-6.
- 15 Hamasaki M, Furuta N, Matsuda A, Nezu A, Yamamoto A, Fujita N, *et al.* Autophagosomes form at ER-mitochondria contact sites. *Nature* 2013; 495(7441): 389-93.
- 16 Ma BY, Cao WP, Li WX, Gao C, Qi Z, Zhao Y, *et al.* Dapper1 promotes autophagy by enhancing the Beclin1-Vps34-Atg14L complex formation. *Cell Res* 2014; 24(8): 912-24.
- 17 Papinski D, Krsft C. Regulation of autophagy by signaling through the Atg1/ULK1 complex. *J Mol Biol* 2016; 428(9): 1725-41.
- 18 Kim J, Kim YC, Fang C, Russell RC, Kim JH, Fan WL, *et al.* Differential regulation of distinct Vps34 complexes by AMPK in nutrient stress and autophagy. *Cell* 2013; 152(1/2): 290-303.
- 19 Kim J, Guan KL. AMPK connects energy stress to PIK3C3/VPS34 regulation. *Autophagy* 2013; 9(7): 1110-1.
- 20 Diao JJ, Liu R, Rong YG, Zhao ML, Zhang J, Lai Y, *et al.* ATG14 promotes membrane tethering and fusion of autophagosomes to endolysosomes. *Nature* 2015; 520(7548): 563-6.
- 21 He SS, Ni DJ, Ma BY, Lee JH, Zhang T, Ghosalli I, *et al.* PtdIns(3)P-bound UVRAG coordinates Golgi-ER retrograde and Atg9 transport by differential interactions with the ER tether and the beclin 1 complex. *Nat Cell Biol* 2013; 15(10): 1206-19.
- 22 Son JH, Hwang EC, Kim J. Systematic analyses of the ultraviolet radiation resistance-associated gene product (UVRAG) protein interactome by tandem affinity purification. *Arch Pharm Res* 2016; 39(3): 370-9.
- 23 Liang CY, Lee JS, Inn KS, Gack MU, Li QL, Roberts EA, *et al.* Beclin1-binding UVRAG targets the class C Vps complex to coordinate autophagosome maturation and endocytic trafficking. *Nat Cell Biol* 2008; 10(7): 776-87.
- 24 Takahashi Y, Coppola D, Matsushita N, Cualing HD, Sun M, Sato Y, *et al.* Bif-1 interacts with Beclin 1 through UVRAG and regulates autophagy and tumorigenesis. *Nat Cell Biol* 2007; 9(10): 1142-51.
- 25 Kim YM, Jung CH, Seo M, Kim EK, Park JM, Bae SS, *et al.* mTORC1 phosphorylates UVRAG to negatively regulate autophagosome and endosome maturation. *Mol Cell* 2015; 57(2): 207-18.
- 26 McKnight NC, Zhong Y, Wold MS, Gong S, Phillips GR, Dou Z, *et al.* Beclin 1 is required for neuron viability and regulates endosome pathways via the UVRAG-VPS34 complex. *PLoS Genet* 2014; 10(10): e1004626.
- 27 Zhong Y, Wang QJ, Li XT, Yan Y, Backer JM, Chait BT, *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): 468-76.
- 28 Sun T, Li X, Zhang P, Chen WD, Zhang HL, Li DD, *et al.* Acetylation of Beclin 1 inhibits autophagosome maturation and promotes tumour growth. *Nat Commun* 2015; 6(7215): 1-12.
- 29 Sun QM, Westphal W, Wong KN, Tian L, Zhong Q. Rubicon controls endosome maturation as a Rab7 effector. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(45): 19338-43.
- 30 Liang QM, Chang B, Brulois KF, Castro K, Min CK, Rodgers MA, *et al.* Kaposi's Sarcoma-associated herpesvirus K7 modulates rubicon-mediated inhibition of autophagosome maturation. *J Virol* 2013; 87(22): 12499-503.
- 31 Fan J, Liu YW, Yin J, Li QQ, Li YM, Gu J, *et al.* Oxygen-glucose-deprivation/reoxygenation-induced autophagic cell death depends on JNK-mediated phosphorylation of Bcl-2. *Cell Physiol Biochem* 2016; 38(3): 1063-74.
- 32 Su WC, Chao TC, Huang YL, Weng SC, Jeng KS, Lai MMC. Rab5 and class III phosphoinositide 3-kinase Vps34 are involved in hepatitis C virus NS4B-induced autophagy. *J Virol* 2011; 85(20): 10561-71.
- 33 Goyal A, Neill T, Owens RT, Schaefer L, Iozzo RV. Decorin activates AMPK, an energy sensor kinase, to induce autophagy in endothelial cells. *Matrix Biol* 2014; 34: 46-54.
- 34 Leone RD, Amaravadi RK. Autophagy: A targetable linchpin of

- cancer cell metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 2013; 24(4): 209-17.
- 35 Zhang C, Jiang YN, Zhang J, Huang J, Wang JH. 8-p-hydroxybenzoyl tovarol induces paraptosis like cell death and protective autophagy in human cervical cancer HeLa cells. *Int J Mol Sci* 2015; 16(7): 14979-96.
- 36 Bago R, Malik N, Munson MJ, Prescott AR, Davies P, Sommer E, *et al*. Characterization of VPS34-IN1, a selective inhibitor of Vps34, reveals that the phosphatidylinositol3-phosphate-binding SGK3 protein kinase is a downstream target of class III phosphoinositide 3-kinase. *Biochem J* 2014; 463(3): 413-27.
- 37 Jang YH, Choi KY, Min DS. Phospholipase D-mediated autophagic regulation is a potential target for cancer therapy. *Cell Death Differ* 2014; 21(4): 533-46.
- 38 Junli Liu, Hongguang Xia, Minsu Kim, Lihua Xu, Ying Li, Lihong Zhang, *et al*. Beclin1 controls the levels of p53 by regulating the deubiquitination activity of USP10 and USP13. *Cell* 2011; 147(1): 223-34.