

文章编号: 1674-7054(2021)02-0253-08



真菌细胞自噬的研究进展

段灵涛, 祝一鸣, 何九卿, 舒灿伟, 周而勋

(华南农业大学 植物保护学院/广东省微生物信号与作物病害防控重点实验室, 广州 510642)

摘要: 为了维持细胞内部物质与能量的动态平衡, 真菌在进化过程中形成了一些复杂的机制来调控胞内物质的代谢和循环, 其中的一条重要途径就是自噬。自噬在真核生物体内是高度保守的, 其通过形成具有双层膜结构的自噬体囊泡, 将细胞内受损的细胞器或蛋白质包裹起来, 随后运输到液泡中进行降解。在过去 20 多年里, 人们对真菌细胞自噬进行了深入的研究, 通过对自噬相关蛋白的分析, 逐渐揭示了自噬过程中的一些分子及调控机制。在对丝状真菌自噬基因功能分析的过程中, 发现自噬在丝状真菌营养生长、产孢、孢子萌发、侵染结构形成以及致病力等方面都起着非常重要的作用。本综述介绍了真菌细胞自噬的分子及调控机制以及自噬基因在丝状真菌中的功能的研究进展。

关键词: 自噬; 分子机制; 丝状真菌; 致病力

中图分类号: S 432.4⁺; Q 939.5 **文献标志码:** A

引用格式: 段灵涛, 祝一鸣, 何九卿, 等. 真菌细胞自噬的研究进展 [J]. 热带生物学报, 2021, 12(2): 253-260.

DOI: 10.15886/j.cnki.rds wxb.2021.02.015

自噬 (autophagy) 是真核生物中一个高度保守的过程, 能够形成具有双层膜结构的自噬小体, 将一些受损或老化的蛋白质或细胞器包裹起来, 运送到溶酶体 (动物) 或者液泡 (植物和真菌) 之中进行物质降解和循环, 维持或恢复真核生物体内的动态平衡。从 1997 年 YOSHINORI 鉴定出第一个自噬基因 *Atg1* 以来^[1], 在酵母菌和其他一些真菌中共鉴定出了 42 个自噬基因^[2]。根据将底物运送到降解细胞器方式的不同, 自噬被分为巨自噬 (Macroautophagy)、微自噬 (Microautophagy) 和伴侣介导的自噬 (Pexophagy)^[3]。巨自噬是一个非选择性过程, 是自噬的主要途径, 本文中的自噬主要指的是巨自噬。自噬将细胞内无用或者破损的细胞器及一些其他底物降解至氨基酸和核苷酸等一些基础营养物质, 并供给机体再次使用, 以此维持有机体细胞内的稳态^[4], 这对有机体的生存及生长发育是必须的。最近几十年来, 通过对植物病原真菌自噬的研究, 发现自噬对真菌的致病性具有重要作用, 了解植物病原真菌自噬的过程与致病分子机制, 将有助于农业生产中对病原真菌引起的植物病害进行有效防控^[5]。笔者介绍了真菌细胞自噬的分子及调控机制以及自噬基因在丝状真菌中的功能的研究进展, 为相关研究提供参考。

1 真菌细胞自噬的分子机制

1.1 真菌细胞自噬诱导的调控 一些自噬调节因子会在细胞受到外界生理和环境应激时对自噬进行调控, 关于真菌自噬调控的研究才刚刚起步, 还不够深入, 目前主要集中于 TOR (Target of Rapamycin, 雷帕霉素靶标蛋白) 途径上。TOR 激酶是细胞适应生理和环境胁迫、调控细胞生长和自噬水平的关键因子^[6], 是自噬的负调节因子。在细胞受到饥饿、伤害、活性氧积累等逆境刺激时, 胞内的信号传导机制会影响包括 TOR 激酶及其靶标识别辅助因子 RAPTOP (Regulatory-Associated Protein of TOR, 雷帕霉素靶标

收稿日期: 2020-11-21

修回日期: 2020-12-15

基金项目: 广东省自然科学基金项目 (2014050001921); 国家重点研发计划专项 (2017YFD0200900)

第一作者: 段灵涛 (1997-), 男, 华南农业大学植物保护学院 2019 级硕士研究生. E-mail: 2244148389@qq.com

通信作者: 周而勋 (1963-), 男, 教授, 博士. 研究方向: 分子植物病理学. E-mail: exzhou@scau.edu.cn

TOR 结合蛋白)、蛋白激酶 A(Protein kinase A, PKA)、SNF-1 激酶等蛋白激酶的活性,进而通过这些激酶控制自噬过程中关键的 Atg1/Atg13 激酶复合体;在稻瘟菌(*Magnaporthe oryzae*)中,正常条件下,由于 TOR 激酶的影响,Atg1 处于去磷酸化,Atg13 处于磷酸化的状态下,导致 Atg1-Atg13-Atg17 复合物各组分间不能结合,处于分离状态;但在外界饥饿、伤害、胁迫等刺激条件下,上游 TOR 激酶的活性因受到雷帕霉素的影响而受到抑制,引起 Atg1 的磷酸化和 Atg13 的去磷酸化,使复合物各组分结合,形成 Atg1-Atg13-Atg17 复合物,并定位于 PAS 位点(Pre-Autophagosomal Structure, 自噬前结构),诱导自噬的发生。此外,有研究发现,白介素 IL-17 与真菌细胞结合后,也会抑制 TOR 激酶的活性,进而促进自噬,在此过程中抑制 TOR 的 *LPI18* 基因表达升高^[7]。作为调控自噬的关键因子, TOR 激酶感知外界刺激信号的机制目前尚不明确,尚待深入研究。在酵母菌中, PKA 也可以通过影响 Atg1 和 Atg13 的磷酸化来调控自噬,而且 PKA 途径对于自噬的调控是独立于 TOR 途径之外的,在 PKA 活性降低时能够引起 Atg13 的磷酸化和 Atg1 的去磷酸化,从而促进 Atg1/Atg13 激酶复合体的形成,诱导自噬^[8]。此外, AMPK 通过磷酸化 Atg13 也同样可以抑制自噬^[9]。综上所述, Atg13 的磷酸化在自噬调控方面起着极其重要的作用。

1.2 真菌细胞自噬小体的形成

1.2.1 Atg1-Atg13-Atg17 复合体 在真菌细胞自噬发生的最初阶段, Atg1-Atg13-Atg17 复合体会在临近液泡的 PAS 位点招募一些自噬小体形成相关蛋白, 丝状真菌细胞中自噬过程见文献 [10]。 Atg1-Atg13-Atg17 复合体由丝/苏氨酸蛋白激酶 Atg1、调控亚基 Atg13、支架蛋白 Atg17 与 Atg29、Atg31 组成, 其中在真核生物中高度保守的蛋白激酶 Atg1 是该复合体的核心, 在诱导自噬发生中起到了关键作用。 Atg13 则是复合体的调控亚基, 其磷酸化水平负向调节 Atg1 激酶的活性, Atg13 主要由其 N 端的 Horma 结构域和 C 端的无序结构域组成, 处于 N 端的 Horma 结构域在与 Atg9 的结合^[11] 以及募集 Atg14 方面具有重要作用, 并且该结构域内的突变也会影响由氨基酸缺乏引起的自噬^[12]; 而处于 C 端的无序结构域则包含着 Atg1 与 Atg17 的结合位点, 这两个结合位点对于自噬发生的初始步骤必不可少^[13], 同时, Atg13 通过与 Atg1 的结合, 能够稳定 Atg1 蛋白激酶并增强其活性^[14]。而对于支架蛋白 Atg17 来说, 其主要是通过与 Atg29 和 Atg31 以 2 : 2 : 2 的比例形成 1 个异六聚体复合物来产生功效, 2 个高度螺旋的 Atg17 在其 C 端聚合, 形成 1 个弯月形的结构, 而 2 个 Atg29-Atg31 球型蛋白通过相互作用则锚定在该弯月形结构的凹面, 形成异六聚体, Atg17 通过此结构与 Atg29-Atg31 相连接保证了自身与含有 Atg9 的囊泡相似的曲率^[15], 有研究指出, Atg17-Atg31-Atg29 复合体在自噬中可以介导早期囊泡的锚定^[13]。 Atg1-Atg13-Atg17 复合体作为自噬小体形成过程中的关键组分, 不仅在自噬反应早期诱导自噬小体形成方面具有重要作用, 而且在自噬反应的下游还可以通过与 Atg11 协同调节自噬小体与液泡的特异性融合^[16]。在稻瘟菌中, *MoAtg1*、*MoAtg13* 和 *MoAtg17* 等基因的缺失都会导致致病力的缺失, 且敲除 *MoAtg1* 基因还会导致产孢量降低、分生孢子脂滴减少、畸形以及附着胞膨压不足等缺陷^[17]。

1.2.2 磷脂酰肌醇 3-激酶复合物 (PtdIns3K) Atg1-Atg13-Atg17 复合体成功组装后, 能够直接或间接地影响后续多个与自噬小体形成相关的步骤^[5]。首先由 Atg6、Atg14、Vps15 和 Vps34 所组成的 PI3K 复合物(Phosphatidylinositol 3-Kinase, 磷脂酰肌醇 3-激酶)。该复合物分为 3 类, PI3K 复合物 I 包括 Vps34、Vps30、Vps15、Atg14 和 Atg6^[18], 其中 Vps15 是 Vps34 的调控亚基^[19], Atg14 将 Atg6 和 Vps15-Vps34 复合物连接到一起, 形成复合物, Atg14 为复合物 I 所特有, 定位于 PAS 位点和液泡膜, 能促进复合物 I 在自噬小体形成过程中行使功能, 并能够介导且复合物 I 定位于 PAS 位点, 参与自噬体囊泡的形成^[20]; 复合物 II 则包括与复合物 I 相同的 Atg6、Vps15、Vps30、Vps34, 以及其特有组分 Vps38, 通过 Vps38 的介导, 复合物 II 定位于内吞作用形成的小囊泡中^[20], 参与液泡蛋白分选过程; 而 III 类 PI3K 复合物对自噬则是发挥着最为重要的作用, 可以对膜上的 PI(Phosphatidylinositol, 磷脂酰肌醇)进行磷酸化修饰, 产生 PI3P(Phosphatidylinositol-3-Phosphate, 磷脂酰肌醇-3-磷酸), 利用 PI3P 招募下游蛋白, 从而促进自噬体囊泡的形成, 但是酵母菌中只含有 I 类 PI3K 复合物和 II 类 PI3K 复合物, 而与 III 类 PI3K 复合物相似的 Vps34 则被 Vps15 激活后参与了 PI3P 的形成^[21]。此外, 有研究指出, 在线虫中 Atg6 可以通过

Atg14 和 Vps38 之间的竞争来调控自噬和内吞作用之间的关系, 当内吞作用受到抑制的时候, 自噬作用就会被促进, 相似的调控机制在稻瘟菌中也被发现^[4, 22]。

1.2.3 Atg9 介导的膜转运系统 被 Atg1-Atg13-Atg17 复合体影响的还有 Atg9 介导的膜转运系统。Atg9 是自噬核心机制中唯一的完整跨膜蛋白, 对拟南芥中 Atg9 蛋白的冷冻电镜分析发现, Atg9 是一个同源三聚体蛋白, 其中每个组分都至少包含 6 个跨膜 α 螺旋^[23]。在酵母菌中, Atg9 定位于自噬体膜的外膜, 并存在于一些可在 PAS 与内质网、高尔基体等位点之间穿梭循环小囊泡之中。关于自噬体的膜来源, 之前认为主要来自内质网、高尔基体、线粒体和质膜等一些细胞器, 通过这些 Atg9 介导的小囊泡运输至 PAS 位点, 但最近的研究发现, 这些细胞器膜不足以维持后续自噬小体的形成, 而绝大多数的自噬体膜是通过自噬小体上结合的 Faa1 激活 FA 进入相邻的内质网进行磷脂的从头合成, 之后在 Atg2-Atg18 复合物的介导下整合到扩张的自噬小体上的^[24]。Atg9 可以与 Atg1-Atg13-Atg17 复合体中 Atg13 的 N 端 Horma 结构域在 PAS 位点结合^[11], 支架蛋白 Atg17 能够特异性识别 Atg9, 从而将 Atg1 复合体靶向自噬体膜上^[25]。同时, Atg9 还是 Atg1 激酶的直接靶点, 通过磷酸化, Atg9 可将 Atg8 和 Atg18 分别招募至自噬小体形成位点和随后自噬体的杯状膜扩张位点, 促进自噬小体的形成^[26]。另外, 在 Atg9 这个自噬体膜转运系统中, 还有 2 个关键的保守蛋白 Atg2 和 Atg18, 其中 Atg2 是 1 个外周膜蛋白, 通过与 PI3P 和 Atg9 在 PAS 位点结合参与自噬体囊泡的形成^[27]; Atg18 是 1 个磷脂酰肌醇结合蛋白, 能够与 PI3P 直接结合定位于 PAS 位点, 同时也存在于内体和液泡之中, 当 Atg9 与 Atg2 之间产生相互作用的时候, 会引起构象变化, 与 PI3P 一起促进对 Atg18 的招募^[28]。Atg18 和 Atg2 可以形成复合体, 在酵母菌中, 该复合体可以调节自噬过程中 PAS 位点内 Atg9 的循环^[29]。

1.2.4 Atg8 和 Atg12 介导的泛素样结合系统 泛素样蛋白 Atg8 是自噬机制中最核心的蛋白, 其通过一种类似泛素化的共轭连接方式与 PE(Phosphatidylethanolamine, 磷脂酰乙醇胺)相连, 修饰自噬体膜^[30]。在 Atg8-PE 的形成过程中, 首先需要半胱氨酸蛋白酶 Atg4 对 Atg8 前体进行处理, 在 Atg8 核心位置中有 1 个 β 折叠, 该结构域中有 1 个突出的短的羧基末端, 其末端包含 1 个对 Atg8 功能重要的甘氨酸, 在 Atg4 的处理下, 该残基被暴露出来, 从而形成成熟的 Atg8。成熟后的 Atg8 随后在依赖 ATP 的 E1 活化酶 Atg7 的作用下被激活, 在硫化脂键的作用下, Atg8 与 Atg7 中保守的半胱氨酸结合。尔后 Atg8 又在酯交换作用下从 Atg7 上被交换到 E2 连接酶 Atg3 之上, 形成 Atg8-Atg3 结合物^[5]。Atg8 与 PE 相连接的最后一步, 则需要 1 个特异的, 由自噬系统中另外一个泛素样蛋白 Atg12 介导的 E3 连接酶复合物的作用^[31]。E3 连接酶复合物是 1 个由 Atg5、Atg12 和 Atg16 以 2 : 52 : 52 的比例形成的六聚体, 其形成首先是 Atg12 在 E1 活化酶 Atg7 和特异性 E2 连接酶 Atg10 的作用下, 与 Atg5 相连接, 形成 Atg12-Atg5 结合物, 随后该结合物与二聚体 Atg16 蛋白相连形成 1 个六聚体, 这个六聚体就是 Atg8 的特异 E3 连接酶复合物。在这个 E3 连接酶复合物的指导下, Atg8-Atg3 结合物上的 Atg8 通过脂化作用被转移到 PE 上, 形成 Atg8-PE 结合物^[32]。Atg8-PE 结合物定位于生长中及完整的自噬体膜上, 在自噬小体形成、扩张、融合等方面具有重要作用, 并且 Atg8-PE 结合物还可为许多自噬受体和适配器提供一个对接的平台, 在自噬体囊泡的底物选择方面有很大影响^[33]。基于这些功能, Atg8 在自噬中起非常重要的作用。在稻瘟菌中, *MoAtg8* 的敲除会破坏通过自噬维持的糖原及脂质的动态平衡, 影响无性发育和分生孢子形成, 使其丧失致病力^[34]。此外, 通过对 Atg8 进行荧光标记的方法来观察自噬发生位置已成为最常用的手段, 也是评估自噬发生和进展的重要标准^[35]。

Atg8 修饰后的成熟自噬小体, 在 FYCO(FYVE and coiled-coil domain containing, 螺旋卷曲结构域包含蛋白)的帮助下, 被系在由 ESCRT(Endosomal sorting complex required for transport, 内吞分选转运复合体)机械控制的微管网络上^[36], 运输至液泡。随后自噬体囊泡膜与液泡膜通过 V-SNARE-type 机制进行半融合^[32], 即含有双层膜结构的自噬体囊泡, 其外膜与液泡膜融合, 而内膜则包裹着底物进入液泡, 随底物一同被液泡内的酸性水解酶降解。

2 自噬在丝状真菌中的生物学功能

2.1 自噬在丝状真菌生长发育中的功能 丝状真菌是植物病原物中非常重要和最大的一个类群,在农业、医学以及基础生物学研究等方面具有重要作用。自噬在丝状真菌生长发育过程中的菌丝发育、产孢繁殖、孢子萌发以及营养代谢等方面起极其重要的作用^[37],通过对稻瘟菌相关自噬基因的敲除发现,当 *MoAtg8* 被敲除之后,会对稻瘟菌中通过自噬来维持的糖原代谢平衡产生很大的影响,对其无性发育和分生孢子产生抑制效果,但是这种抑制会在外界葡萄糖和蔗糖的补充作用下得到缓解。在 *MoAtg4* 缺失突变体中,稻瘟菌的气生菌丝减少,子囊和子囊孢子分化延迟,产孢量下降^[38]。稻瘟菌中 *MoAtg1*、*MoAtg6* 和 *MoAtg14* 敲除突变体的产孢同样会受到影响,其中 *MoAtg14* 的敲除突变体产生的分生孢子存在缺陷,分生孢子内脂滴减少,菌丝发育也受到抑制^[37]。在对禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)中 28 个自噬相关基因敲除突变体的分析中,发现除了 *Atg17* 基因外,这些自噬基因在调控禾谷镰刀菌营养生长、气生菌丝发育、脂质的储存和利用和有性/无性孢子脂滴的降解方面具有重要作用^[39];与正常非饥饿条件相比,这些自噬基因敲除突变体对于饥饿条件更为敏感,其菌株所存在的缺陷也更加明显,如在稻镰状瓶霉(*Harpophora oryzae*)的 *HoAtg5* 敲除突变体之中,突变体菌株在 CM 培养基上培养 7 d 后,其菌丝干重高于野生型和回补菌株,但是在缺氮和缺碳培养基上培养后,突变体却几乎观察不到气生菌丝^[40]。此外,在瓜类炭疽菌(*Colletotrichum orbiculare*)中, *CoAtg8* 和 *CoAtg26* 的敲除会降低其营养生长速率及产孢量^[41, 42];胶孢炭疽菌(*C. gloeosporioides*)中 *CgAtg4* 和 *CgAtg8* 的敲除也会降低其菌丝量和产孢量,但生长速率却无明显的变化^[43-45];米曲霉(*Aspergillus oryzae*)中 *AoAtg1*、*AoAtg4*、*AoAtg8* 和 *AoAtg15* 基因的破坏则导致气生菌丝和分生孢子的形成严重缺陷^[46-48]。对于丝状真菌来说,无论是饥饿还是正常条件下,自噬作用在其生长发育、繁殖、体内物质代谢与循环方面均具有重要的作用,当自噬基因被敲除,自噬处于受阻状态时,丝状真菌细胞将不能及时利用营养物质来供给其自身,从而导致在生长、发育、繁殖等方面出现缺陷^[49]。

2.2 自噬在丝状真菌致病性中的功能 随着对丝状真菌细胞自噬作用研究的逐渐深入,发现自噬不仅对其生长发育具有调控作用,而且对其致病力也同样具有重要的影响。丝状真菌作为病原真菌,在侵染寄主植物的过程中,病原真菌通常会形成一些特殊的侵染结构来突破植物在进化过程中形成的角质层等防御机制。稻瘟菌作为丝状真菌研究的模式真菌,在自噬对其侵染过程以及致病力影响方面的研究较多。稻瘟菌侵染寄主植物的过程中,芽管以及附着胞等结构的形成、附着胞膨压的积累,其养分均来自分生孢子,分生孢子通过降解胞内营养物质以及细胞器等来为侵染过程提供物质与能量,其中自噬是这个降解过程中不可缺少的一环。在对稻瘟菌中的自噬核心基因敲除研究中发现,16 个非选择性自噬基因敲除突变体的稻瘟菌致病力均有所减弱,甚至丧失^[16]。其中 *MoAtg4* 和 *MoAtg8* 的敲除突变体,孢子萌发延迟,分生孢子内降解被限制,分生孢子不死亡,附着胞的形成以及胞内膨压的积累过程都受到阻碍^[38]。*MoAtg14* 敲除突变体中,糖原和脂质降解存在缺陷,导致附着胞内膨压积累受阻,丧失致病力^[37]。此外在稻瘟菌 *MoAtg1*、*MoAtg5*、*MoAtg9*,禾谷镰刀菌除 *FgAtg17* 以外的 27 个自噬基因敲除突变体^[39, 50, 51],玉蜀黍黑粉菌(*Ustilago maydis*)中的 *UmAtg1*、*UmAtg8*^[52],瓜类炭疽菌中的 *CoAtg8* 和 *CoAtg26*^[41, 42],胶孢炭疽菌中 *CgAtg4*^[44] 和 *CgAtg8*^[43],灰葡萄孢(*Botrytis cinerea*)中的 *BcAtg1*^[53] 和米曲霉中的 *AoAtg1*^[46] 等丝状真菌自噬相关的核心基因敲除突变体之中,突变体的孢子萌发均有降低,致病力也随之减弱甚至消失。*Atg8* 是自噬分子机制中最核心的组分,在许多自噬基因敲除突变体之中,突变体内目的基因的敲除缺陷最终大部分会作用于 *Atg8* 之上,在缺失 *MoAtg14* 的突变体中,观察不到被荧光所标记的 *Atg8* 向液泡移动的过程, *Atg14* 的敲除最终影响到了 *Atg8* 蛋白离开 PAS 位点;在 *MoAtg1* 中也发现与此相同的结果^[37]。由此可见,自噬在病原真菌致病力方面具有极其重要的作用,自噬作用的受阻缺失会严重影响孢子的细胞程序性死亡(Programmed Cell Death, PCD),导致孢子无法将胞内养分用于侵染结构的正常形成,从而使其无法在寄主植物表面定殖,侵染寄主植物。

2.3 自噬相关基因在不同物种之间具有不同作用 自噬相关基因在进化上大都是高度保守的,但是人们在对自噬基因功能的不断深入研究过程中,发现相同的自噬基因在不同的物种之间,其功能也存在一定的差异,且这种差异不仅存在于动物与植物、真菌等的分类层次上,在一些小的分类层次中也存在这种差异。就丝状真菌而言,相同的自噬基因在不同的属之间,可能具有不同的作用,如稻瘟菌中 6 个选择性自噬基因 *Atg11*, *Atg24*, *Atg26*, *Atg27*, *Atg28*, *Atg29* 敲除突变体中,菌株的致病力没有改变^[16],但是在禾谷镰刀菌中这些基因的敲除突变体却表现出明显的致病力下降^[39],在瓜类炭疽菌中,*Atg26* 基因的缺失也会引起菌株的致病力下降。在稻瘟菌中,*Atg17* 的缺失对致病力有影响,而在禾谷镰刀菌中,对致病力没有产生明显的影响^[39]。此外,禾谷镰刀菌中 *Atg5* 的缺失会导致菌株营养生长缺陷、菌丝量减少,但是在稻镰状瓶霉 *Atg5* 敲除突变体中,其菌丝干重却高于野生型和回补体^[40]。在对自噬基因的功能进行分析时,由于自噬基因在不同丝状真菌中的功能不尽相同,且对病原真菌的致病力有重大影响,因此,对自噬基因在不同病原真菌中的作用及其作用机制等方面,还有待进行更广泛、更深入的研究。

3 展 望

作为真核生物细胞内重要的物质循环和降解途径,与自噬相关的研究在过去 20 多年间取得了非常巨大的进展,自噬的分子机制以及相关基因功能、调控网络等逐步被人们了解,但是这些研究却大部分集中于人类、模式动植物以及酵母菌上,在丝状真菌中的自噬研究也仅局限于子囊菌中,对一些植物病原真菌自噬的了解还不够全面,甚至是空白的。在对植物病原真菌自噬基因功能的研究过程中,发现一些相同的自噬基因,在不同真菌之间其功能不尽相同,而关于这些区别以及导致这些区别的原因或机制,目前还没有一个系统的阐述。近年来,随着细胞自噬研究的逐步深入,人们对自噬的分子机制以及相关基因功能的了解在不断完善,但在一些细节的了解方面,还不够全面和深入,如在自噬的调控机制方面,除了 TOR, AMPK, PKA 等途径,还有一些转录因子对自噬也有非常重要的调控作用^[54],但是关于转录因子与自噬蛋白之间的互作机制,目前尚不清楚。此外,与自噬蛋白存在互作的蛋白也在不断地被发现,例如之前关于 *Atg8* 蛋白的互作蛋白,大部分是通过 AIM 基序与 *Atg8* 蛋白产生互作,但是近期发现,在 AIM 之外还有许多 *Atg8* 蛋白的互作蛋白是通过 1 个 UIM 基序来与 *Atg8* 蛋白进行互作的^[55]。这些新的发现不仅极大地丰富了自噬的相关机制,也表明目前关于自噬的研究还处在一个基础的层面。

今后有待更加广泛和细致地对不同病原真菌中的自噬机制进行研究。在此过程中,可以考虑通过这些不同真菌之间存在的自噬基因功能差异去寻找一些特定的真菌作用位点,并制定对特定病原真菌引致的特定植物病害的防治策略。

参考文献:

- [1] AKIRA M, TSUKADA M, WADA Y, et al. Apg1p, a novel protein kinase required for the autophagic process in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Gene*, 1997, 192(2): 245 – 250.
- [2] PARZYCH K R, ARIOSIA A, MARI M, et al. A newly characterized vacuolar serine carboxypeptidase, Atg42/Ybr139w, is required for normal vacuole function and the terminal steps of autophagy in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2018, 29(9): 1089 – 1099.
- [3] LI F, VIERSTRA R D. Autophagy: a multifaceted intracellular system for bulk and selective recycling [J]. *Trends in Plant Science*, 2012, 17(9): 526 – 537.
- [4] JACOMIN A, PETRIDIS S, DI M M, et al. Regulation of Expression of Autophagy Genes by Atg8a-Interacting Partners Sequoia, YL-1, and Sir2 in *Drosophila* [J]. *Cell Reports*, 2020, 31(8): 107695.
- [5] WANG Q, LIU H, XU H, et al. Independent losses and duplications of autophagy-related genes in fungal tree of life [J]. *Environ Microbiol.*, 2019, 21(1): 226 – 243.
- [6] FRANCESCA NAZIO F S M A. mTOR inhibits autophagy by controlling ULK1 ubiquitylation, self-association and function through AMBRA1 and TRAF6 [J]. *NATURE CELL BIOLOGY*, 2013, 4(15): 406 – 416.
- [7] ZELANTE T, IANNITTI R G, De LUCA A, et al. Sensing of mammalian IL-17A regulates fungal adaptation and virulence [J]. *Nature Communications*, 2012, 3(1): 1 – 10.

- [8] STEPHAN J S, YEH Y Y, RAMACHANDRAN V, et al. The Tor and PKA signaling pathways independently target the Atg1/Atg13 protein kinase complex to control autophagy [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(40): 17049 – 17054.
- [9] PUENTE C, HENDRICKSON R C, JIANG X. Nutrient-regulated Phosphorylation of ATG13 Inhibits Starvation-induced Autophagy [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2016, 291(11): 6026 – 6035.
- [10] ZHU X, LI L, WU M, et al. Current opinions on autophagy in pathogenicity of fungi [J]. *Virulence*, 2019, 10(1): 481 – 489.
- [11] SUZUKI S W, YAMAMOTO H, OIKAWA Y, et al. Atg13 HORMA domain recruits Atg9 vesicles during autophagosome formation [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(11): 3350 – 3355.
- [12] JAO C C, RAGUSA M J, STANLEY R E, et al. A HORMA domain in Atg13 mediates PI 3-kinase recruitment in autophagy [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(14): 5486 – 5491.
- [13] RAGUSA M J, STANLEY R E, HURLEY J H. Architecture of the Atg17 complex as a scaffold for autophagosome biogenesis [J]. *Cell*, 2012, 151(7): 1501 – 1512.
- [14] KABEYA Y, KAMADA Y, BABA M, et al. Atg17 functions in cooperation with Atg1 and Atg13 in yeast autophagy [J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2005, 16(5): 2544 – 2553.
- [15] CHEW L H, SETIAPUTRA D, KLIONSKY D J, et al. Structural characterization of the *Saccharomyces cerevisiae* autophagy regulatory complex Atg17-Atg31-Atg29 [J]. *Autophagy*, 2013, 9(10): 1467 – 1474.
- [16] LIU X, MAO K, YU A Y H, et al. The Atg17-Atg31-Atg29 complex coordinates with Atg11 to recruit the Vam7 SNARE and mediate autophagosome-vacuole fusion [J]. *Current Biology*, 2016, 26(2): 150 – 160.
- [17] KERSHAW M J, TALBOT N J. Genome-wide functional analysis reveals that infection-associated fungal autophagy is necessary for rice blast disease [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(37): 15967 – 15972.
- [18] STACK J H, DEWALD D B, TAKEGAWA K, et al. 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]. *The Journal of Cell Biology*, 1995, 129(2): 321 – 334.
- [19] SLESSAREVA J E, ROUTH S M, TEMPLE B, et al. Activation of the Phosphatidylinositol 3-Kinase Vps34 by a G Protein α Subunit at the Endosome [J]. *Cell*, 2006, 126(1): 191 – 203.
- [20] 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* [J]. *Molecular biology of the cell*, 2006, 17(4): 1527 – 1539.
- [21] KIHARA A, NODA T, ISHIIHARA N, et al. Two distinct Vps34 phosphatidylinositol 3-kinase complexes function in autophagy and carboxypeptidase Y sorting in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *The Journal of Cell Biology*, 2001, 152(3): 519 – 530.
- [22] ZHU X, LIANG S, SHI H, et al. VPS9 domain-containing proteins are essential for autophagy and endocytosis in *Pyricularia oryzae* [J]. *Environmental Microbiology*, 2018, 20(4): 1516 – 1530.
- [23] LAI L, YU C, WONG J, et al. Subnanometer resolution cryo-EM structure of *Arabidopsis thaliana* ATG9 [J]. *Autophagy*, 2020, 16(3): 575 – 583.
- [24] SCHÜTTER M, GIAVALISCO P, BRODESSER S, et al. Local Fatty Acid Channeling into Phospholipid Synthesis Drives Phagophore Expansion during Autophagy [J]. *Cell*, 2020, 180(1): 135 – 149.
- [25] RAO Y, PERNA M G, HOFMANN B, et al. The Atg1-kinase complex tethers Atg9-vesicles to initiate autophagy [J]. *Nature Communications*, 2016, 7(1): 10338.
- [26] PAPINSKI D, SCHUSCHNIG M, REITER W, et al. Early steps in autophagy depend on direct phosphorylation of Atg9 by the Atg1 kinase [J]. *Mol Cell*, 2014, 53(3): 471 – 483.
- [27] GÓMEZ-SÁNCHEZ R, ROSE J, GUIMARÃES R, et al. Atg9 establishes Atg2-dependent contact sites between the endoplasmic reticulum and phagophores [J]. *Journal of Cell Biology*, 2018, 217(8): 2743 – 2763.
- [28] ZHUANG X, CHUNG K P, CUI Y, et al. ATG9 regulates autophagosome progression from the endoplasmic reticulum in *Arabidopsis* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114(3): E426 – E435.
- [29] XU P, DAMSCHRODER D, ZHANG M, et al. Atg2, Atg9 and Atg18 in mitochondrial integrity, cardiac function and health span in *Drosophila* [J]. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 2019, 127: 116 – 124.
- [30] MARSHALL R S, LI F, GEMPERLINE D C, et al. Autophagic Degradation of the 26S Proteasome Is Mediated by the Dual ATG8/Ubiquitin Receptor RPN10 in *Arabidopsis* [J]. *Molecular Cell*, 2015, 58(6): 1053 – 1066.
- [31] OHSUMI Y. Molecular dissection of autophagy: two ubiquitin-like systems [J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*,

- 2001, 2(3): 211 – 216.
- [32] MARSHALL R S, VIERSTRA R D. Autophagy: The Master of Bulk and Selective Recycling [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2018, 69: 173 – 208.
- [33] KHAMINETS A, BEHL C, DIKIC I. Ubiquitin-dependent and independent signals In selective autophagy [J]. *Trends in Cell Biology*, 2016, 26(1): 6 – 16.
- [34] DENG Y Z, RAMOS-PAMPLONA M, NAQVI N I. Autophagy-assisted glycogen catabolism regulates asexual differentiation in *Magnaporthe oryzae* [J]. *Autophagy*, 2009, 5(1): 33 – 43.
- [35] WANG P, NOLAN T M, YIN Y, et al. Identification of transcription factors that regulate ATG8 expression and autophagy in *Arabidopsis* [J]. *Autophagy*, 2020, 16(1): 123 – 139.
- [36] CHRIST L, RAIBORG C, WENZEL E M, et al. Cellular functions and molecular mechanisms of the ESCRT membrane-scission machinery [J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2017, 42(1): 42 – 56.
- [37] LIU X, ZHAO Y, ZHU X, et al. Autophagy-related protein MoAtg14 is involved in differentiation, development and pathogenicity in the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 40118.
- [38] LIU T, LIU X, LU J, et al. The cysteine protease MoAtg4 interacts with MoAtg8 and is required for differentiation and pathogenesis in *Magnaporthe oryzae* [J]. *Autophagy*, 2014, 6(1): 74 – 85.
- [39] LV W, WANG C, YANG N, et al. Genome-wide functional analysis reveals that autophagy is necessary for growth, sporulation, deoxynivalenol production and virulence in *Fusarium graminearum* [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 11062.
- [40] LIU N, NING G A, LIU X H, et al. An autophagy gene, *HoATG5*, is involved in sporulation, cell wall integrity and infection of wounded barley leaves [J]. *Microbiol Res*, 2016, 192: 326 – 335.
- [41] ASAKURA M, NINOMIYA S, SUGIMOTO M, et al. Atg26-mediated pexophagy is required for host invasion by the plant pathogenic fungus *Colletotrichum orbiculare* [J]. *Plant Cell*, 2009, 21(4): 1291 – 1304.
- [42] TAKANO Y, ASAKURA M, SAKAI Y. Atg26-mediated pexophagy and fungal phytopathogenicity [J]. *Autophagy*, 2009, 5(7): 1041 – 1042.
- [43] 李超萍, 林春花, 翟李刚, 等. 橡胶树胶孢炭疽病菌致病相关基因 *CgATG8* 的功能分析 [J]. *热带作物学报*, 2013, 34(11): 2172 – 2178.
- [44] 翟李刚, 林春花, 蔡志英, 等. 橡胶树胶孢炭疽菌细胞自噬相关基因 *CgAtg4* 的克隆与序列分析 [J]. *湖北农业科学*, 2014, 53(9): 2189 – 2191.
- [45] 何芬, 罗红丽. 巴西橡胶树胶孢炭疽病菌 *CgE6* 基因 RNAi 突变体的构建 [J]. *热带生物学报*, 2014, 5(3): 233 – 238.
- [46] YANAGISAWA S, KIKUMA T, KITAMOTO K. Functional analysis of *Aoatg1* and detection of the Cvt pathway in *Aspergillus oryzae* [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2013, 338(2): 168 – 176.
- [47] KIKUMA T, OHNEDA M, ARIOKA M, et al. Functional analysis of the ATG8 homologue *Aoatg8* and role of autophagy in differentiation and germination in *Aspergillus oryzae* [J]. *Eukaryotic Cell*, 2006, 5(8): 1328 – 1336.
- [48] KIKUMA T, KITAMOTO K. Analysis of autophagy in *Aspergillus oryzae* by disruption of *Aoatg13*, *Aoatg4*, and *Aoatg15* genes [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2011, 316(1): 61 – 69.
- [49] VOIGT O, POGGELER S. Self-eating to grow and kill: autophagy in filamentous ascomycetes [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, 97(21): 9277 – 9290.
- [50] NGUYEN L N, BORMANN J, Le GT, et al. Autophagy-related lipase *FgATG15* of *Fusarium graminearum* is important for lipid turnover and plant infection [J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2011, 48(3): 217 – 224.
- [51] JOSEFSEN L, DROCE A, SONDERGAARD T E, et al. Autophagy provides nutrients for nonassimilating fungal structures and is necessary for plant colonization but not for infection in the necrotrophic plant pathogen *Fusarium graminearum* [J]. *Autophagy*, 2012, 8(3): 326 – 337.
- [52] NADAL M, GOLD S E. The autophagy genes *ATG8* and *ATG1* affect morphogenesis and pathogenicity in *Ustilago maydis* [J]. *Molecular Plant Pathology*, 2010, 11(4): 463 – 478.
- [53] REN W, ZHANG Z, SHAO W, et al. The autophagy-related gene *BcATG1* is involved in fungal development and pathogenesis in *Botrytis cinerea* [J]. *Mol Plant Pathol*, 2017, 18(2): 238 – 248.
- [54] SHU W J, ZHAO M J, KLIONSKY D J, et al. Old factors, new players: transcriptional regulation of autophagy [J]. *Autophagy*, 2020, 16(5): 956 – 958.
- [55] MARSHALL R S, HUA Z, MALI S, et al. ATG8-Binding UIM Proteins Define a New Class of Autophagy Adaptors and Receptors [J]. *Cell*, 2019, 177(3): 766 – 781.

Research Progress on Fungal Autophagy

DUAN Lingtao, ZHU Yiming, HE Jiuqing, SHU Canwei, ZHOU Erxun

(Guangdong Key Laboratory of Microbial Signals and Disease Control / College of Plant Protection,
South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China)

Abstract: In order to maintain the dynamic balance of substances and energy in cells fungi have formed some complex mechanisms during the evolution process to regulate the metabolism and circulation of intracellular materials, and one of the important pathways is autophagy. Autophagy is a highly conserved process in eukaryotes, and it encapsulates the damaged organelles or proteins in the cell by forming autophagosome vesicles with a double membrane structure and then transports them to vacuoles for degradation. In the past two decades fungal autophagy has been well documented. The analysis of autophagy-related proteins has gradually revealed some molecular and regulatory mechanisms in the process of autophagy. The functional analysis of autophagy genes in filamentous fungi has showed that autophagy plays a very important role in vegetative growth, sporulation, spore germination, formation of infective structure and pathogenicity of filamentous fungi. A review is made of the molecular and regulatory mechanisms of autophagy in fungi as well as the research progress of autophagy genes in filamentous fungi.

Keywords: autophagy; molecular mechanism; filamentous fungi; pathogenicity

(责任编辑:罗启香 责任编辑:钟云芳)