

УДК 577.3

АМИНОКИСЛОТЫ КАК РЕГУЛЯТОРЫ МЕТАБОЛИЗМА КЛЕТКИ

Обзор

© 2020 С.В. Нестеров^{1,2}, Л.С. Ягужинский^{1,3*}, Г.И. Подопривора¹, Я.Р. Нарциссов¹

¹ НИИ цитохимии и молекулярной фармакологии,
115404 Москва, Россия; электронная почта: yag@genebee.msu.ru

² Московский физико-технический институт, 141701 Долгопрудный, Московская обл., Россия

³ НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского,
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991 Москва, Россия

Поступила в редакцию 03.10.2019

После доработки 10.02.2020

Принята к публикации 11.02.2020

Обзор посвящён исследованию принципов регуляции и синхронизации процессов метаболизма в клетках млекопитающих. В работе использовали модель двухкомпонентного устройства метаболизма клетки, включающую управляющую сигнальную систему, которая регулирует основные ферментные системы, и исполнительную метаболическую систему, непосредственно осуществляющую биосинтез. Такое рассмотрение позволило выделить два переходных состояния метаболизма (от катаболизма к анаболизму и обратно), в которых происходят основные перестройки в сигнальной системе. Сигнальная система природных аминокислот (АК) выбрана для обзора как наиболее удобный фрагмент общего метаболизма клетки, поскольку АК участвуют и в сигнальной, и исполнительной подсистемах метаболизма. В работе разработан графический способ представления событий, позволивший продемонстрировать последовательность процессов, протекающих в обеих подсистемах метаболизма в ходе прохождения полного метаболического цикла неделиваемой клеткой. Выявлена важная особенность сигнальной системы АК: их сигнальные свойства определяются не только структурой молекулы, но и местом локализации в клетке. Выделены четыре основные сигнальные группы АК, локализованные в лизосомах, митохондриях, цитозоле и внеклеточном пространстве, прилегающем к плазматической мембране. Эти группы АК схожи по составу, но имеют при этом различные рецепторы. Построенная в работе схема системы регуляции метаболизма сигналами АК способна служить базой для разработки более полной пространственно-временной схемы регуляции метаболизма, включающей широкое множество внутриклеточных сигнальных каскадов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: аминокислоты, внутриклеточная сигнализация, mTORC1, AMPK, лизосома, катаболизм, анаболизм.

DOI: 10.31857/S0320972520040016

Настоящая работа посвящена исследованию системы синхронизации (в пространстве и времени) биохимических процессов в системе общего метаболизма клетки. Этой проблемой мы начали заниматься ещё на этапе формирования современных представлений о молекулярном устройстве сигнальных систем клетки [1, 2], опираясь, в том числе, на работы Вебера [3–5]. Веберу удалось выделить две антагонистичные группы ферментов, показать синхронную активацию ферментов каждой группы и синхронное переключение между этими двумя группами. Фактически на уровне ферментативных процессов Вебер эмпирически выделил анаболизм и

катаболизм. При анаболизме активны системы синтеза сложных соединений, а при катаболизме преобладают процессы распада.

В данном обзоре метаболизм клетки рассмотрен на основе двухкомпонентной модели, включающей исполнительную метаболическую систему клетки, выполняющую процессы биосинтеза (основа описания этой системы заложена Вебером), и сигнально-управляющую систему, регулирующую работу исполнительной системы. В настоящее время выделение двух основных состояний метаболизма на уровне исполнительных систем уже стало общепринятым. Актуальной научной задачей является расшифровка механизмов функционирования сигнальных систем, которые обеспечивают синхронизацию работы внутри анаболического и катаболического ферментативных кластеров и переключение между ними.

Принятые сокращения: АК – аминокислоты; GAP – белок-активатор ГТФазной активности; GEF – фактор обмена гуаниловых нуклеотидов.

* Адресат для корреспонденции.

Переходы между метаболическими режимами в клетке индуцируются внешними и внутренними сигналами, такими как гормоны (адреналин, глюкагон, инсулин), стрессовые факторы, сигналы внесения и удаления субстратов (сигналы «сытости» и «голода»). Сигнальная система природных АК выбрана для обзора как наиболее удобный фрагмент общего метаболизма клетки, на основе которого можно получить достаточно полную картину, адекватно отражающую устройство и принципы функционирования системы клеточного метаболизма. Такой выбор был сделан потому, что АК органично включены в обе подсистемы метаболизма клетки – и сигнальную, и исполнительную. В соответствии с этим сигналы АК должны прямо или косвенно контролировать очень широкое множество метаболических процессов. В рамках настоящей работы были рассмотрены именно сигналы АК в качестве индукторов перехода от катаболизма к анаболизму и обратно (при дефиците АК). Таким образом, в работе на уровне сигнальной системы показан полный метаболический цикл неделящихся клеток и проведено соответствие между работой сигнальной и исполнительной систем.

Переключение между метаболическими режимами осуществляется как путём быстрого включения и выключения уже существующих ферментов, так и путём регуляции процессов трансляции и транскрипции, необходимых для синтеза новых ферментов. Центральную роль в переносе сигналов играет система *post*-трансляционной модификации белков. На одном белке под влиянием внешних и внутренних сигналов могут индуцироваться десятки химических модификаций (фосфорилирование, метилирование и др.), которые влияют на конформацию, каталитическую активность и локализацию белка [6]. Взаимосвязанная сеть регуляторных белков, способных к изменению конформации, представляет собой кратковременную («оперативную») память клетки. Именно эта система, в первую очередь, перестраивается в ответ на внешние раздражители, обеспечивает быстрые стрессовые ответы, а также регулирует активность генома за счёт модификации факторов транскрипции.

У эукариот существуют две основные сигнальные системы *post*-трансляционной модификации белков, управляющие метаболизмом непосредственно по сигналу АК: «SOS-система» интегрального стрессового ответа, переводящая клетку в катаболический режим при дефиците хотя бы одной АК (активируется киназой GCN2), и система регуляции, связанная с mTORC1, которая при условии полноты набора

АК и наличия других необходимых для роста факторов активирует анаболизм. Существенное влияние оказывают сигналы АК также на АМФ-зависимую киназу (АМРК) и NAD⁺-зависимую деацетилазу Sirt1. Два последних фермента являются активаторами кластера катаболических процессов. Все вышеперечисленные белковые регуляторные системы (или их аналоги) присутствуют во всех эукариотических клетках, независимо от тканевой специфичности в многоклеточных организмах. Таким образом, именно эти ключевые метаболические регуляторы служат центральной частью системы управления метаболизмом. Необходимо отметить, что для полного представления о метаболизме отдельных типов клеток нужно учитывать также видо- и ткане-специфичные сигнальные каскады, как связанные с аминокислотами (например, сигналы от глутаматного и глицинового рецепторов на плазматических мембранах некоторых клеток), так и иной природы (сигналы от рецепторов гормонов, цитокинов и иных сигнальных молекул).

В обзоре разработана схема графического представления последовательности событий в сигнальной и исполнительной системах неделящихся эукариотических клеток в процессе полного метаболического цикла.

Список и минимальное описание функций основных белков, которые были использованы при построении схем сигнально-метаболической системы, связанной с аминокислотами, дано в табл. 1. Более подробное описание интересных белков и их сигналов можно найти в соответствующих ссылках. Таблица может использоваться вместо списка сокращений, а также для лучшего понимания представленных далее схем.

ЦЕНТР УПРАВЛЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМОМ НА ПОВЕРХНОСТИ ЛИЗОСОМ

Данные последних лет показывают, что главный сигнальный центр метаболического контроля расположен на внешней поверхности мембраны лизосом [39–41]. При этом ключевым звеном в сигнальных каскадах АК является димер малых ГТФаз Rag, который расположен на белковом комплексе Ragulator, закоренном на внешней поверхности лизосомы посредством ковалентной сшивки с жирной кислотой [18], а также за счёт взаимодействия с вакуолярной АТФазой (vATPase) [21]. Комплекс vATPase-Ragulator-Rag является структурной платформой, на которую в разных метаболических режимах происходит посадка ключевых регуляторных белков: протеинкиназы АМРК при ка-

таболизме [19]; протеинкиназы PERK при стрессовом ответе [42]; митоген-активируемой протеинкиназы ERK [18] по сигналу факторов роста; протеинкиназы mTORC1 и некоторых её мишеней по сигналу АК [43]. Белковый комплекс vATPase-Ragulator-Rag, контролирующий посадку и активацию этих протеинкиназ, получил в некоторых работах название «нутрисома» [44–46].

Малые ГТФазы, в том числе Rag и Rheb, являются ГТФ-удерживающими белками и сами по себе обладают слабо выраженной гидролитической активностью. Эти ГТФазы осуществляют гидролиз ГТФ только при воздействии специальных белков GAP. Для RagA и RagB ГТФаза таким активирующим белком является белковый комплекс GATOR1, для RagC – комплекс FLCN/FNIP, для RagD – LRS, для Rheb – белковый комплекс TSC–TBC (см. табл. 1). Прямое взаимодействие с этими белками фактически ингибирует передачу сигнала соответствующими ГТФазами, переводя их в неактивную ГДФ-связанную форму. Последующее возобновление сигнальной активности ГТФаз происходит с помощью других белков (GEF), стимулирующих обмен ГДФ на ГТФ. Для Rag – это Ragulator, для Rheb – регуляторный белок пока не установлен.

В последние несколько лет появилось большее число работ по рентгеноструктурному анализу и криоэлектронной микроскопии, в которых исследуется структура белковых компонент АК-регуляции, связанных с mTORC1 (подробнее см. обзор [47]). Были установлены структуры АК-связывающих белков Strin2 [26] и CAS-TOR [28], АК транспортёра–рецептора SLC38A9 [48]. Недавно была расшифрована структура пентамерного комплекса Ragulator вместе с закреплёнными фрагментами Rag ГТФаз [49–52], показаны также структуры ключевых посредников в каскадах передачи сигналов АК – комплекса GATOR1, присоединённого к Rag ГТФазам [22], ГТФазы Rheb [53], вакуолярной АТФазы [54, 55]. В нескольких работах расшифрована структура самого комплекса mTORC1 [14, 56, 57], которая показала его функционирование в составе димера и позволила установить место связывания активирующей его ГТФазы Rheb. Используя вышеприведённые новейшие структурные данные работы [21] о контактах Ragulator с vATPase, а также того, что комплекс Ragulator и ГТФаза Rheb закорены в лизосомальной мембране [58], мы составили приближённую структуру белкового суперкомплекса на лизосомальной мембране, на котором закреплён mTORC1 (рис. 1). Эта реконструкция является наглядной иллюстрацией структурного устройства ключевого звена системы синхронизации

метаболизма. Наша схема хорошо согласуется с другими подобными реконструкциями, вышедшими в период рецензирования нашего обзора [59, 60], но в отличие от них отображает приблизительное расположение также vATPase и транспортёра SLC38A9, являющегося сенсором лизосомального аргинина.

ЧЕТЫРЕ СИГНАЛЬНЫХ ПУЛА АК, РАЗЛИЧНЫХ ПО ЛОКАЛИЗАЦИИ В КЛЕТКЕ

В настоящей работе показано, что сигнальная система АК, в первую очередь, связана со структурно-функциональными компартментами клетки, такими как плазматическая мембрана (внешняя среда), цитозоль, лизосомы и митохондрии. Возможно, регуляторное значение могут иметь сигналы АК и из других органелл, например, из аппарата Гольджи [61]. Различная локализация АК в клеточных компартментах приводит к их взаимодействию с разными рецепторными белками. Благодаря этому АК, находящиеся в разных компартментах, обладают различными сигнальными свойствами. Тот факт, что специфика сигналов АК определяется не только их структурой, но и локализацией в клетке является важнейшей особенностью этой системы. Как показано в предыдущем разделе, все эти сигналы, так или иначе, сходятся в едином сигнальном центре управления метаболизмом на внешней поверхности мембраны лизосом.

АК с разной локализацией имеют и различное функциональное значение. Внеклеточные АК являются внешним управляющим фактором, под который подстраивается метаболизм клетки. Пул АК в цитозоле используется для синтеза белка и, следовательно, необходим для адаптации клетки к постоянно изменяющимся внешним условиям. АК в матриксе митохондрий активно вовлечены в метаболизм: в зависимости от условий в митохондриях происходит распад или синтез АК (заменимых), а также реализуются начальные звенья биосинтеза многих сложных органических соединений. Лизосомальный пул АК прямо не вовлечён в процессы биосинтеза и является внутренним резервом клетки, который посредством транспортёров может быть транспортирован в цитозоль и митохондрии. АК в лизосомах появляются в основном за счёт эндоцитоза и протеолиза белков в процессе аутофагии.

Необходимо указать, что в каждом компартменте основные сигналы индуцируются приблизительно одним и тем же набором АК: лейцином, глутамином, аргинином и метионином.

Таблица 1. Список основных белков, связанных с системой АК сигнализации

Белок	Краткое описание роли в системе сигнализации
mTORC1 комплекс 1 киназы mTOR (механистической мишени рапамицина)	активирует систему трансляции и несколько факторов транскрипции, стимулирующих синтез ферментов биосинтеза, инактивирует факторы аутофагии и транскрипции лизосомальных белков [7]
AMPK АМФ активируемая киназа	активирует факторы аутофагии и факторы транскрипции, отвечающие за экспрессию лизосомальных и митохондриальных белков; активирует АМФ и Ca ²⁺ при дефиците незаменимых АК [8]
Sirt1 NAD ⁺ -зависимая деацетилаза	активирует AMPK и ряд других клеточных систем антистрессовой защиты, препятствует воспалению [9, 10]; связывание лейцина с Sirt1 усиливает его сродство к NAD ⁺ [11]
GCN2 киназа общего контроля с постоянной репрессией 2	активируется в цитозоле при связывании со свободными тРНК, а также иными путями [12]; фосфорилирует фактор инициации трансляции eIF-2, что препятствует посадке рибосом на мРНК и индуцирует интегральный стрессовый ответ [13]
Rheb малая ГТФаза	в ГТФ-связанной форме при присоединении к mTORC1 включает его фосфорилирующую активность [14]; помимо mTORC1 регулирует и другие сигнальные каскады, причём в разных органеллах [15]
TSC-TBC комплекс из белков TSC1, TSC2, TBC1D7	является GAP для Rheb [16]; активируется многими стрессовыми сигналами, в том числе киназой AMPK; теряет активность при фосфорилировании протеинкиназой Akt (PKB), которая активируется по сигналу инсулина
Rag A, B, C, D малые ГТФазы	существуют в форме димеров: A или B связана с C или D [17]; димеры удерживаются на поверхности лизосом с помощью комплекса Ragulator и обладают способностью связывать mTORC1, если RagA или Rag B связаны с ГТФ
Ragulator (образовано от слов Rag regulator), он же LAMTOR	адапторный белковый пентамерный комплекс на поздних эндосомах или лизосомах, на котором происходит активация митоген-активируемой киназы ERK [18], mTORC1 и AMPK [19]; при взаимодействии с некоторыми транспортёрами АК и vATPase выполняет роль GEF для RagA и B ГТФаз [20]
vATPase вакуолярная АТФаза	протонный насос: закисляет полость лизосом за счёт энергии гидролиза АТФ; взаимодействует с комплексом Ragulator и транспортёрами АК в мембране лизосом [21]; точный механизм участия в активации mTORC1 не установлен, однако без способной к вращению vATPase mTORC1 не может быть активирован
GATOR1	устойчивый комплекс из трёх белков (Depdc5, Nprl2, Nprl3), являющийся GAP для RagA и B [22]; по сигналу АК его активность регулируется связыванием с ним белков SAMTOR и GATOR2
SAMTOR сенсор SAM (S-аденозилметионина)	при недостатке метионина (в несвязанной с SAM форме) связан с GATOR1 (с Depdc5 субъединицей), что усиливает GAP активность GATOR1 по отношению к RagA и B; при связывании с SAM отсоединяется от GATOR1, что ослабляет его связь с RagA и B [23]
GATOR2	пентамерный белковый комплекс; ингибирует GATOR1, связываясь с его Depdc5 субъединицей [22]
Sestrin2 стресс-индуцируемый белок, цитоплазматический сенсор лейцина	при недостатке АК в цитоплазме образует комплекс с GATOR2 [24], тем самым его ингибируя; присоединение лейцина (а также Ile, Val, Met) [25] разрушает комплекс Sestrin с GATOR2, что позволяет последнему блокировать GATOR1, то есть предотвращать гидролиз ГТФ на RagA и B; кроме этого, Sestrin2 регулирует аутофагию, снижает уровень АФК [26]
CASTOR цитоплазматический сенсор аргинина	стресс-индуцируемый белок; в каскаде mTORC1 действует аналогично Sestrin2: комплекс CASTOR с GATOR2 распадается при связывании CASTOR с аргинином [27, 28]
FLCN фолликулин	в каскаде активации mTORC1 функционирует в комплексе с белком FNIP и является GAP для RagC [29]; связывается с Rag при отсоединении GATOR1 [30]; является регулятором активности AMPK [31], также регулирует транспорт лизосом в клетке [32]

Окончание таблицы 1

Белок	Краткое описание роли в системе сигнализации
LRS лейцил-тРНК синтетаза	содержит в структуре специальный домен, который при связывании LRS с лейцином, но в отсутствие связанной тРНК, проявляет GAP-активность по отношению к Rag D [33]
Vps34 киназа фосфатидилинозитола класса 3	регулирует широкий спектр мембранно-связанных процессов, включая везикулярный транспорт, эндоцитоз и аутофагию; по сигналу АК стимулирует активность фосфолипазы D и способствует деактивации TSC–TBC [34]
PLD1 фосфолипаза D1	образует фосфатидную кислоту (PA) из глицерофосфолипидов; PA связывается с mTORC1 и вызывает отсоединение от него ингибиторных белков [35, 36]
PIKfyve фосфоинозитид киназа	образует фосфотидил инозитол бифосфат PI(3,5)P2 из монофосфата PI(3)P [37]
TRPML1 кальциевый канал в лизосомальной мембране	активируется PI(3,5)P2, обеспечивает выход кальция из полости лизосом и активацию кальций-зависимых процессов в окрестности лизосомальной мембраны [37]
GDH глутаматдегидрогеназа	при связывании лейцина ускоряет расщепление глутамата митохондриями; в результате повышается концентрация α -кетоглутарата, необходимого для функционирования пролил-гидроксилаз, без работы которых невозможна активация mTORC1 [38]

Тот факт, что именно эти АК используются клетками в качестве сигнальных, по-видимому, определяется эволюционным развитием рецепторно-сигнальной системы, которая реагирует лишь на самые важные для клетки сигналы. Лейцин является существенно гидрофобной АК, формирующей основу для альфа-спиралей белков, что делает его ключевой частью интегральных белков и одной из самых распространённых АК. Лейцин является неглюкогенной АК, не задерживается печенью, в связи с чем его концентрация в крови после приёма пищи меняется в большей степени, чем большинства АК [62], что делает лейцин индикатором поступления с пищей белка (незаменимых АК). Метионин является незаменимой серосодержащей АК и служит как донором серы для синтеза другой серосодержащей АК – цистеина (ключевой АК при фолдинге белков), так и является основным донором метильных групп (в форме *s*-аденозил-метионина). Реакция метилирования является второй по интенсивности (после фосфорилирования) в клетках, что делает контроль уровня метионина критически важным. Кроме того, значительная часть биологических эффектов метионина вызвана непосредственным влиянием на скорость реакций метилирования и не требует дополнительных сигнальных белков. Глутамин и аргинин, хотя и являются заменимыми АК, не менее важны для клетки. Глутамин является временным депо азота в митохондриях, а аргинин вовлечён в цикл мочевины. Эти АК также влияют на процессы транспорта неза-

менимых АК из внеклеточной среды [63] и лизосом [64] в цитозоль. Таким образом, эти две заменимые АК помимо важной роли в структуре белков являются показателями катаболизма АК и возможности транспорта незаменимых АК. При этом клетка, благодаря наличию системы интегрального стрессового ответа, всё же чувствительна к падению концентрации и любой другой протеиногенной АК, что позволяет оперативно остановить процесс трансляции при их дефиците [65]. Этого механизма, по-видимому, достаточно, чтобы обеспечить функционирование клетки, а развитие сенсорной системы, специфически реагирующей на каждую АК, привело бы лишь к необоснованному усложнению сигнальной системы, что невыгодно для организма в условиях естественного отбора.

ЦИКЛЫ ПЕРЕКЛЮЧЕНИЯ КАТАБОЛИЗМ–АНАБОЛИЗМ

Анализ процессов сигнализации АК и транспорта АК позволяет определить чёткую хронологическую последовательность действия АК на ключевые метаболические регуляторы mTORC1 и AMPK в процессе перехода между режимами катаболизма и анаболизма (рис. 2). Rag ГТФазы при недостатке АК, складывающемся, в частности, при голодании, находятся в «катаболической» форме: Rag B(A)-ГДФ, Rag D(C)-ГТФ [33] (рис. 3, *a* в момент начала отсчёта; рис. 4 блок I). Появление внешних АК и их транспор-

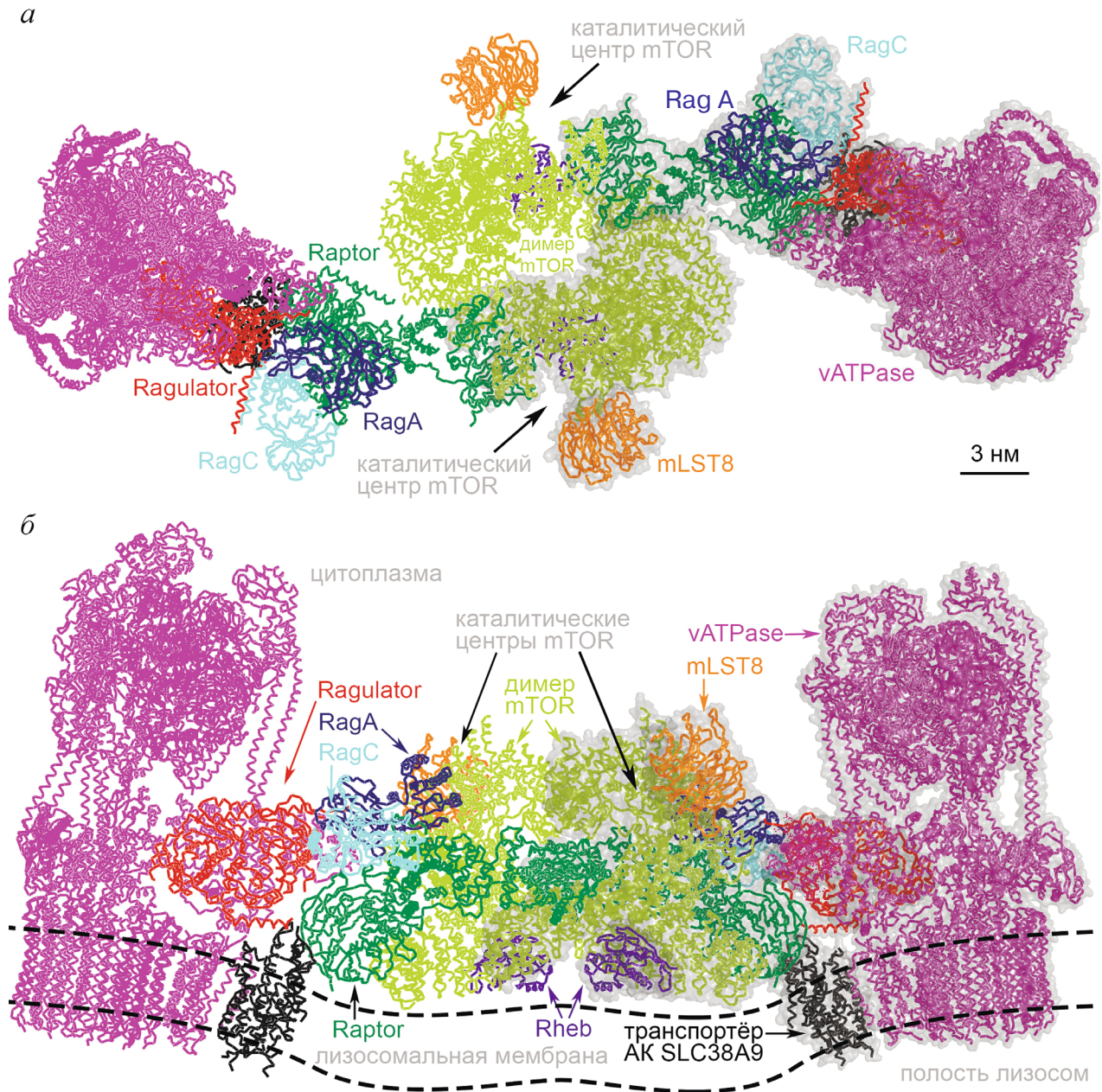
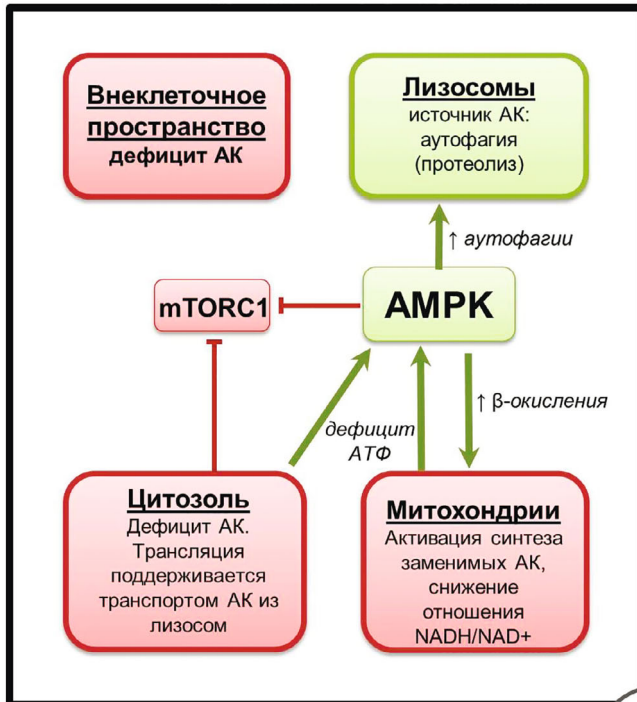


Рис. 1. Реконструкция предположительной структуры места посадки mTORC1 на лизосому (платформы «нутрисома»). *а* – Вид на поверхность лизосомы со стороны цитозоля; *б* – вид на плоскость, перпендикулярную лизосомальной мембране. Пунктиром обозначен возможный контур мембраны лизосом, позволяющий мембранной субъединице vATPase, транспортёру SLC38A9 и жирным кислотам, ковалентно связанным с белками Rheb и Ragulator, находиться в липидном окружении. Первичную визуализацию структуры белков проводили с помощью программы PyMol с использованием структур белкового банка данных 3j9t, 5tj5, 6bcu, 6ehr, 6ces, 6c08, 6U62. Приблизительный докинг проводили по принципу плотной упаковки с использованием установленных методом электронной микроскопии мест связывания отдельных белков, а также описанных в литературе белок-белковых и белок-липидных взаимодействий комплексообразующих белков. Обозначения: mLST8, Raptor, mTOR – субъединицы mTORC1, SLC38A9 – лизосомальный транспортёр незаменимых АК, регулируемый аргинином. Описание остальных белков дано в табл. 1

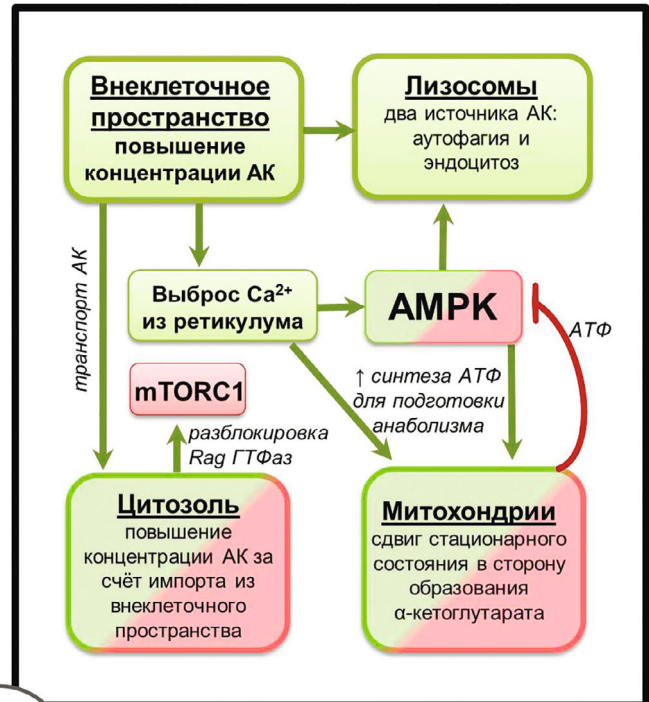
тировка в цитоплазму индуцирует переход Rag ГТФаз в промежуточное разблокированное состояние (рис. 3, *а*, минуты 1–8; рис. 4, блок II). Эта разблокировка происходит по сигналу цитозольных и митохондриальных АК, которые ак-

тивируют ГТФаз-активирующие белки (GAP) для RagC и D. Только в этом разблокированном состоянии димера Rag возможна посадка ГТФ на RagB(A), которая происходит по сигналу от пула лизосомальных АК (посредством актива-

**I. Катаболизм
(активность AMPK)**



**II. Переход к анаболизму
(от AMPK к mTORC1)**



**IV. Переход к катаболизму
(от mTORC1 к AMPK)**



**III. Анаболизм
(активность mTORC1)**

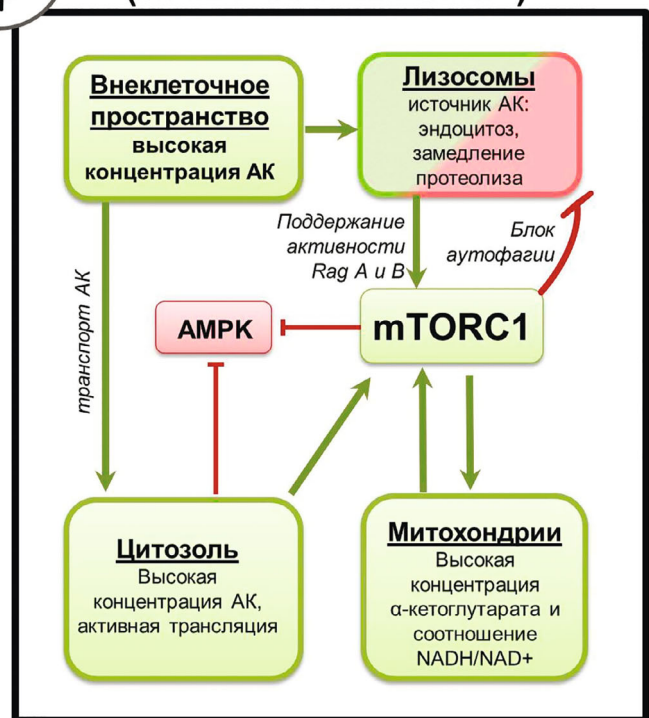


Рис. 2. Схема функционирования сигнальных пулов АК в процессе метаболического цикла. На схеме отображено как изменение в наполненности четырёх основных пулов АК управляет активностью ключевых регуляторов метаболизма (mTORC1 и AMPK) и, тем самым, индуцирует циклический переход от катаболизма к анаболизму и обратно

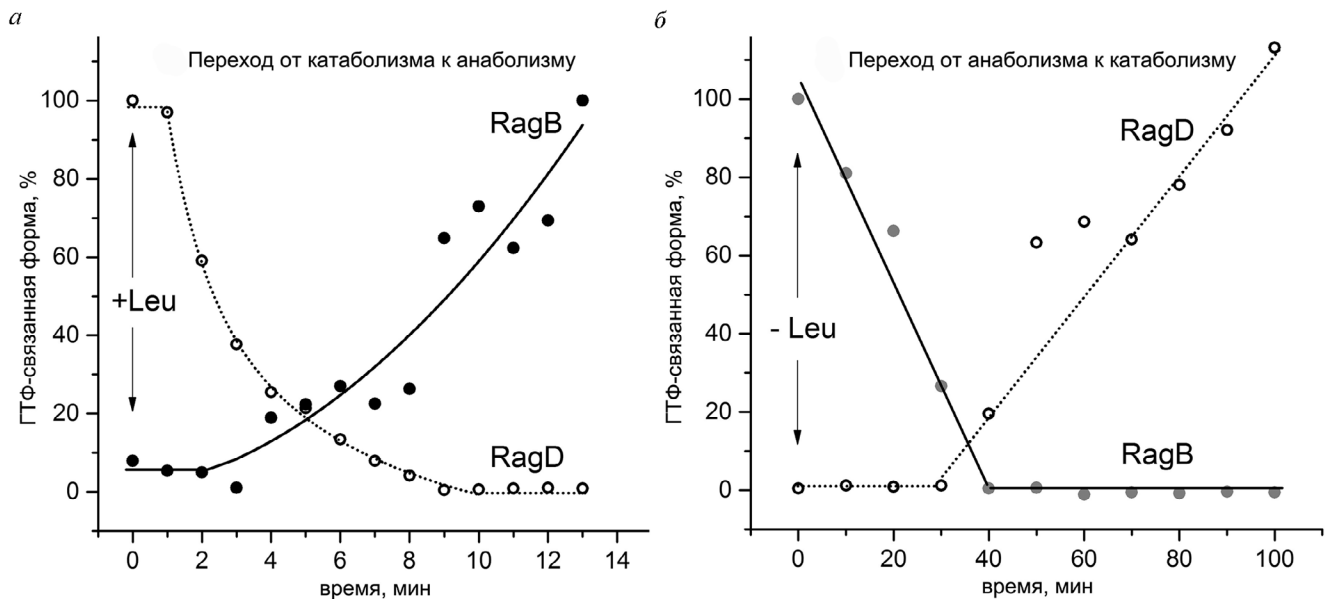


Рис. 3. Изменение ГТФ-связывания Rag ГТФаз (на примере димера RagB с RagD) при переходах катаболизм—анаболизм и анаболизм—катаболизм. Гомологичный димер RagA с RagC претерпевает такие же изменения ГТФ связывания с запаздыванием в несколько минут. Процесс перехода от катаболизма к анаболизму (а) индуцировали добавлением лейцина к клеткам (+Leu), инкубируемым перед этим 90 мин без этой АК. Процесс перехода от анаболизма к катаболизму (б) индуцировали пересадкой клеток в среду, не содержащую лейцин (-Leu). Графики построены по оцифрованным данным работы [33], полученным в экспериментах на клетках рака кишечника человека SW620. Линии на графиках соответствуют сплайн-интерполяции оцифрованных данных

ции комплекса *Ragulator*, являющегося фактором обмена гуаниновых нуклеотидов (GEF) для Rag (рис. 3, а, минуты 8–13). Переход димера Rag в «анаболическую» форму (RagB(A)-ГТФ, RagD(C)-ГДФ) является сигналом для посадки mTORC1 на лизосому [17]. Согласно данным динамической внутриклеточной визуализации [66], активированный димер Rag имеет меньшее сродство к комплексу *Ragulator*, в результате чего приобретает способность отсоединяться от лизосомы и начинает циркулировать между мембраной лизосомы и цитозолем. В цитозоле димер Rag связывается с неактивным mTORC1, после чего вместе с ним садится на поверхность лизосомы, где mTORC1 связывается с ГТФазой Rheb и фосфатидной кислотой, переходит в каталитически-активную форму и включает кластер анаболических процессов (рис. 4, блок III). При исчерпании лизосомального и/или цитозольного пула АК, например, в результате ограничения поступления внешних АК, Rag ГТФазы переходят в промежуточное состояние (рис. 3, б, минуты 1–40; рис. 4, блок IV). В этом состоянии должна также происходить активация фосфатаз, вызывающих дефосфорилирование мишеней mTORC1 (например, фосфатазы PP2A [67]). После стирания «анаболических меток» с сигнальных белков становится возможным переход в катаболический режим. При установившемся

катаболизме димер Rag вновь переходит в «катаболическую» форму (рис. 3, б, минуты 40–100; рис. 4, блок I). Особенность Rag ГТФаз состоит в том, что обе ГТФазы в составе димера одновременно не могут быть связаны с ГТФ, поскольку связывание ГТФ с одной ГТФазой блокирует посадку ГТФ на другую. Данное обстоятельство делает необходимым прохождение через переходное состояние. Это свойство димера Rag подтверждается как структурными данными [68], так и экспериментами по измерению кинетики ГТФ-ГДФ связывания Rag ГТФаз [33] (данные представлены на рис. 3). Необходимо отметить, что приведённые на рис. 3 данные относятся к конкретной культуре клеток, время активации Rag может значительно отличаться в других типах клеток, однако данные литературы позволяют утверждать, что общие принципы сигнализации и качественная картина кинетики активации схожи во всех клетках.

На рис. 2, в основном, отображены изменения в наполненности и сигнальной активности различных пулов АК в процессе циклических переходов клетки между катаболизмом и анаболизмом. На этой схеме, в том числе, упрощённо, отображены основные транспортные и метаболические процессы в клетке в ходе метаболического цикла. Обнаруженные пространственно-временные изменения активности сигнальных

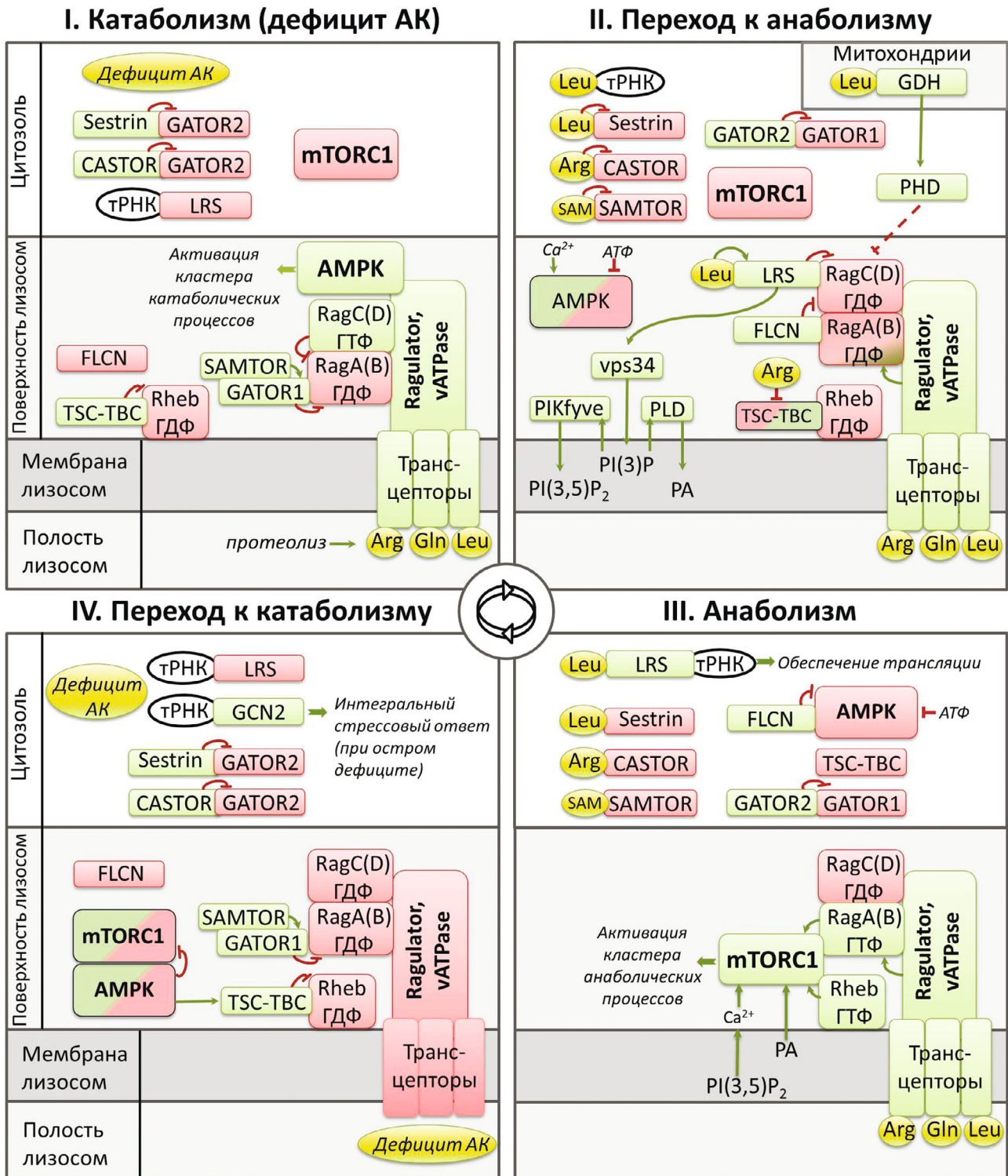


Рис. 4. Молекулярная основа синхронных перестроек метаболизма клетки. Изменения активности белков системы АК сигнализации на основных (I и III) и переходных (II и IV) стадиях метаболического цикла. Зелёным цветом обозначены активные (т.е. передающие сигнал последующим звеньям), а красным – неактивные компоненты сигнальной системы. Двойным цветом обозначены белки, активность которых не однозначна или может претерпевать изменения во временном интервале одной стадии цикла. Физически взаимодействующие белки на схеме также соприкасаются, при этом активирующее воздействие обозначено стрелкой, а подавляющее воздействие обозначено T-образной линией. Активация для ГТФаз понимается в смысле наличия их сигнальной активности, т.е. активация – это переход в ГТФ-связанную форму, а блокирование – в ГДФ-связанную форму. Краткое описание используемых на схеме белков дано в табл. 1, а последовательность активации описана в табл. 2

Таблица 2. Последовательность активации сигналов различных групп АК в процессе циклического переключения между состояниями катаболизма и анаболизма

Первичный сигнал (взаимодействие АК с рецептором)	Краткое описание механизма сигнального каскада	Влияние на метаболизм/ключевые регуляторы
I. Катаболизм		
В этом состоянии низкая концентрация АК вне клетки; основной источник АК – аутофагия и протеолиз в лизосомах; из лизосом АК переносятся в цитозоль и митохондрии, где используются для поддержания трансляции или расщепляются		
<p>Белки Sestrin, CASTOR, SAMTOR в цитозоле не связаны с лейцином, аргинином, и s-аденозилметионином соответственно</p> <p>Связывание АК (подробнее описано ниже) из полости лизосом с лизосомальными транспортёрами-рецепторами (транспепторами)</p>	<p>Sestrin [24–26, 71, 72] и CASTOR [27, 28] связаны с GATOR2. SAMTOR [23] связан с GATOR1, стимулируя его GAP-активность по отношению к RagA(B) [22]</p> <p>в этом состоянии RagA и B не могут связывать ГТФ (из-за активности GAP GATOR1), поэтому происходит медленная посадка ГТФ на RagC и D; возможно, этот процесс катализируется Ragulator, который является единственным известным GEF белком для Rag [20]</p>	<p>RagA(B)-ГДФ не позволяет mTORC1 сесть на лизосому; в цитозоле каталитический центр mTORC1 блокирован</p> <p>перевод димера ГТФаз в «заблокированное» состояние предотвращает спонтанную активацию mTORC1; фиксируется состояние катаболизма (преобладает активность AMPK и Sirt1)</p>
II. Переходное состояние катаболизм–анаболизм		
Индуктируется повышением концентрации внеклеточных АК, попадающих в цитоплазму в результате работы АК-транспортёров и эндоцитоза		
<p>Связывание любой АК из внеклеточной среды с вкусовым рецептором (T1R) на плазматической мембране</p> <p>Связывание незаменимых АК из внеклеточной среды с транспортёрами плазматической мембраны</p> <p>Лейцин в цитозоле связывается с деацетилазой Sirt1</p> <p>Лейцин связывается с лейцил-тРНК синтетазой (LRS) в условиях дефицита свободных тРНК в цитозоле (на фоне медленного темпа трансляции)</p>	<p>T1R активирует фосфолипазу C, образующую инозитол-3-фосфат, вызывающий выброс кальция из ЭПС [73]; кальций стимулирует работу митохондриальных дегидрогеназ, а также AMPK</p> <p>обмен цитозольного глутамата [63] и аспарагина [75] на внешние незаменимые АК может лимитировать скорость включения анаболизма [76]</p> <p>связывание лейцина увеличивает сродство Sirt1 к NAD⁺ [11], что позволяет Sirt1 сохранять активность в условиях повышения соотношения NADH/NAD⁺</p> <p>связанная с лейцином LRS является GAP для RagD [33, 78]</p> <p>LRS связывается с фосфатидилинозитолкиназой vps34 [79]. Фосфатидилинозитолфосфат (PI(3)P) активирует синтез фосфатидной кислоты (PA) фосфолипазой D. Накопление PA и PI(3)P в мембране препятствует посадке TSC–TBC комплекса на лизосому и тем самым способствует удержанию ГТФазы Rheb в ГТФ форме [34]. PI(3)P подвергается также повторному фосфорилированию с образованием бифосфата PI(3,5)P, который активирует кальциевый канал TRPML1, вызывающий выход кальция из полости лизосом [37]</p>	<p>кальций стимулирует синтез АТФ митохондриями, при этом поддерживая или даже временно усиливая активность AMPK [74]. Активация биоэнергетики и катаболизма даёт клетке ресурс для импорта внешних субстратов и включения анаболизма</p> <p>сформированный митохондриями в катаболическом состоянии пул глутамата поддерживает быстрый транспорт незаменимых АК</p> <p>Sirt1 на первом этапе перехода активирует катаболизм (совместно с AMPK) [9, 77]. Sirt1 также необходим для восстановления трансляции после интегрального стрессового ответа [10]</p> <p>гидролиз ГТФ на RagD ГТФазе снимает запрет на посадку ГТФ на связанную с ней RagB</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. фосфатидная кислота связывается с mTORC1, вызывая диссоциацию его ингибиторных белков [35,36] (разблокировка mTORC1); 2. Rheb-ГТФ активирует mTORC1; 3. кальций-кальмодулин непосредственно связывается с mTORC1 и активирует его; 4. также кальций-кальмодулин активирует фосфатазу кальциневрин (PP2B), которая дефосфорилирует мишени AMPK

Окончание таблицы 2

Первичный сигнал (взаимодействие АК с рецептором)	Краткое описание механизма сигнального каскада	Влияние на метаболизм/ключевые регуляторы
<p>В цитозоле:</p> <p>1. Лейцин (также изолейцин и валин) связывается с белком Sestrin</p> <p>2. Аргинин связывается с белком CASTOR</p> <p>3. S-аденозил-метионин связывается с белком SAMTOR</p>	<p>связывание АК с Sestrin и CASTOR разрушает их комплекс с GATOR2. GATOR2 связывается с GATOR1 и вытесняет его с RagA(B) [80]. Связывание SAMTOR с s-аденозил-метионином также вытесняет GATOR1 с RagA(B) [23]</p> <p>после отсоединения GATOR1 с RagA связывается комплекс FLCN/FNIP, являющийся GAP для RagC [30]; гидролиз ГТФ на парную ГТФазу – RagA</p>	<p>переход ведущего димера Rag (RagB с RagD) в промежуточную «разблокированную» форму, из которой возможен переход в «анаболическую» форму, связывающуюся с mTORC1</p> <p>переход запаздывающего димера Rag (RagA с RagC) в промежуточную «разблокированную» форму, из которой возможен переход в «анаболическую» форму, связывающуюся с mTORC1</p>

III. Анаболизм

В ходе переходного состояния сформировались лизосомальный, митохондриальный и цитозольный пулы АК, которые подают терминальные сигналы на mTORC1

<p>Лейцин связывается с глутамат-дегидрогеназой (GDH) в митохондриях</p>	<p>аллостерическая стимуляция лейцином GDH [81] ускоряет образование альфа-кетоглутарата (αKG) из глутамата и глутамина. αKG стимулирует синтез АТФ и работу пролил-гидроксилаз, влияющих на Rag [82]</p>	<p>1. повышение соотношения NADH/NAD⁺ и скорости синтеза АТФ блокируют ключевые катаболические регуляторы (Sirt1 и AMPK);</p> <p>2. пролил-гидроксилазы способствуют посадке mTORC1 на лизосому</p>
<p>Лизосомальные АК связываются с транспортёрами (транспортерами): аргинин связывается с SLC38A9 [64]; лейцин с LAT-1 [83]; глутамин (и, возможно, серин) с PAT-4 [84] (PAT-4 функционирует также в аппарате Гольджи [61]); цистин (димер цистеина) с транспортёром cystinosin [85]</p>	<p>связываемые с соответствующими АК транспортеры образуют комплексы с v-ATPase и Ragulator, что индуцирует посадку ГТФ на RagA и B [86] (предварительно разблокированных при переходном состоянии); присоединение Arg к SLC38A9 также ускоряет опосредованный им транспорт незаменимых АК из лизосомы в цитозоль [64]</p>	<p>сигнал лизосомальных АК индуцирует переход RagA(B) в ГТФ-связанную форму и является окончательным сигналом для посадки mTORC1 на лизосому, где эта протеинкиназа взаимодействует с Rheb-ГТФ и фосфатидной кислотой, активирующими каталитическую активность mTORC1</p>
<p>Лейцил-тРНК синтетаза (LRS) в цитозоле связана и с лейцином, и с тРНК</p>	<p>LRS переходит из режима сигнального белка в режим функционирования в качестве фермента, катализирующего образование лейцил-тРНК [87]</p>	<p>обеспечение высокого темпа трансляции</p>
<p>Заменимые АК (включая аргинин, глутамин) в цитозоле передают сигналы через не идентифицированные рецепторы</p>	<p>стабилизация активной ГТФазы Rheb на лизосоме [88], препятствие её взаимодействию с GAP комплексом TSC–TBC [89]; есть сообщения о Rag-независимой транслокации mTORC1 на лизосому по сигналу глутамина [90]</p>	<p>активный Rheb связывается с mTORC1, включая его каталитическую активность [14]</p>

IV. Переходное состояние анаболизм—катаболизм

Падение уровня АК во внеклеточной среде индуцирует падение уровня АК в цитозоле, лизосомах и митохондриях

<p>Цитозольные белки Sestrin, CASTOR, SAMTOR высвобождаются от связывания с АК и их производными</p>	<p>происходит активация GATOR1, который переводит RagA(B) в ГДФ-связанную форму [33], вызывая диссоциацию mTORC1 с лизосомы</p>	<p>уход mTORC1 с лизосомы, начало процессов дефосфорилирования мишеней mTORC1</p>
<p>Дефицит метионина в цитозоле</p>	<p>недостаток метионина замедляет метилирование и разблокирует фосфатазу PP2A [91, 92]</p>	<p>PP2A дефосфорилирует мишени mTORC1, стимулирует синтез лизосомальных белков [67, 93]</p>
<p>При остром дефиците АК происходит накопление свободных тРНК в цитозоле, которые связываются с киназой GCN2</p>	<p>GCN2 блокирует фактор инициации трансляции eIF-2, что приводит к трансляции с вышестоящих рамок считывания; также блокирует mTORC1 [94, 95]</p>	<p>запуск интегрального стрессового ответа, активация защитных и транспортных систем клетки на уровне трансляции [65], аутофагии</p>

белков, передающих сигналы от АК на mTORC1 в ходе метаболического цикла, более детально представлены на рис. 4. Обозначенные на рис. 4 промежуточные белковые посредники определяют состояние ГТФаз Rag, обеспечивающих связывание mTORC1 с лизосомой, необходимое для активации этой протеинкиназы. Следует подчеркнуть, что разные сигнальные белки, во-первых, находятся в разных компартментах и, следовательно, связаны с разными метаболическими пулами АК, а с другой стороны, именно через посредничество этих «промежуточных» сигнальных белков осуществляется взаимосвязь системы АК сигнализации со всем остальным множеством сигнальных каскадов клетки. Краткое описание перестройки белковых взаимодействий (схемы на рис. 4) в зависимости от изменения концентрации АК в разных компартментах дано в табл. 2.

Особый интерес представляет роль митохондрий в метаболическом цикле. При катаболизме происходит активация AMPK, которая активирует протеолиз в лизосоме, синтез митохондриальных белков и бета-окисление жирных кислот в митохондриях. В условиях катаболизма высокоэффективный синтез АТФ в митохондриях является основным источником энергии в клетке. Последние данные показывают, что без активно функционирующих митохондрий клетки не способны даже поддерживать ключевой катаболический процесс — аутофагию [69]. Важно подчеркнуть, что необходимым фактором для перехода от катаболизма к анаболизму является перестройка метаболизма глутамата в митохондриях под действием аллостерического сигнала лейцина. Присоединение лейцина к GDN обращает процесс синтеза глутамата (преобладающий при катаболизме) в процесс синтеза α -кетоглутарата. Без этого обращения работы фермента, которое экспериментально наблюдается при поступлении внешних АК в митохондрии, невозможен переход Rag ГТФаз в mTORC1-связывающую форму и включение анаболизма [38]. Необходимо отметить, что, наоборот, смещение стационарного состояния в сторону синтеза глутамата является достаточным, чтобы индуцировать катаболизм посредством сигнала из митохондрий [70].

В работе метаболизм клеток млекопитающих рассмотрен как двухкомпонентная система, состоящая из сигнально-командной и исполнительной ферментативной подсистем. Такое рассмотрение позволило достаточно полно описать и графически отобразить последовательность событий, происходящих в ключевых звеньях сигнальной и исполнительной систем клетки при переходах между состояниями катаболизма

и анаболизма. Анализ новейших литературных данных позволил дополнить метаболический цикл Вебера (базирувавшегося только на активности исполнительных систем) двумя промежуточными стадиями, при которых происходит перестройка сигнальной системы и стирание информации, записанной на белках во время основных метаболических стадий.

Построенная нами схема метаболического цикла выполнена на основе сигнальной системы аминокислот. В первую очередь, было проведено сопоставление сигналов АК с активностью ключевых сигнально-метаболических регуляторов, таких как mTORC1 и AMPK (рис. 2 и рис. 4). Для этих протеинкиназ уже известны молекулярные механизмы регуляции, что позволяет по их активности с достаточной точностью прогнозировать состояние исполнительной системы метаболизма. Во-вторых, было показано, что сигнальные свойства АК определяются не только их молекулярной структурой, но и локализацией (рис. 2). Основными компартментами, сигналы АК из которых реализуются на разных стадиях метаболического цикла, являются: внеклеточное примембранное пространство, цитозоль, лизосомы и митохондрии. При этом переход в анаболический режим невозможен без подачи сигналов от всех указанных пулов АК на специальную липидно-белковую платформу на поверхности лизосомы.

Как показал анализ литературы и составленные нами детальные схемы, система аминокислотной регуляции метаболизма оказалась не только необходимой, но и достаточной для обеспечения движения клетки по метаболическому циклу (рис. 4). Таким образом, система АК сигнализации может рассматриваться как стволовая система регуляции метаболизма, а другие типы внешних сигналов (стрессы, гормоны) являются модулирующими, вспомогательными сигналами. Такое рассмотрение логично и с эволюционной точки зрения, так как система АК-сигнализации, близкая по своей структуре к сигнальной системе АК млекопитающих, присутствует и в одноклеточных эукариотах, которые лишены гормональной регуляции.

Сигналы АК не только определяют возможность роста и деления отдельных клеток, но также выполняют адаптогенную роль, являясь необходимыми факторами для быстрого протекания любых стресс-реакций. Наличие согласованной регуляции гомеостаза АК в крови млекопитающих делает АК также неотъемлемой частью механизма синхронизации процессов анаболизма и катаболизма на уровне всего организма за счёт регуляции работы эндокринных клеток [96] и клеток гипоталамуса [97–99]. Активность

mTORC1 также необходима для работы иммунной системы, как на этапе созревания новых иммунных клеток [100], так и на этапе секреции воспалительных цитокинов [101]. Более того, последние данные показывают, что патологическая активность mTORC1 за счёт воздействия на эндотелиальную NO синтазу ведёт к нарушению микроциркуляции [102], что является одной из ключевых причин развития автокаталитических воспалительных процессов [103]. Учёт этих важнейших сигнальных путей АК позволяет дополнить ранее продемонстрированные эффекты АК на микроциркуляцию [104–106] и найти новые пути коррекции метаболических нарушений, тесно связанных с воспалением. Благодаря тесной взаимосвязи метаболизма и функциональной активности клеток, построенная в работе схема пространственно-временной динамики АК сигнализации открывает путь для поиска новых схем терапии и профилактики заболеваний человека с использованием аминокислот.

Таким образом, построенная в работе схема системы регуляции метаболизма, присутствующая практически во всех клетках млекопитающих, способна служить начальным звеном и точкой роста для более полной пространственной схемы, включающей, помимо сигналов АК, широкое множество других сигнальных каскадов клетки, в том числе, и тканеспецифических.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке НИИ цитохимии и молекулярной фармакологии и РФФИ (грант 19-04-00835/19).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая работа не содержит описания выполненных авторами исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Смирнова Е. Г., Нижний С. В., Ягужинский Л. С. (1980) Метод определения специфических изменений метаболизма в быстро пролиферирующих тканях, *Изв. АН СССР*, 636–653.
- Смирнова Е. Г., Нижний С. В., Ягужинский Л. С. (1982) Соотношение скоростей метаболических процессов в опухолевых клетках, *Изв. АН СССР*, 499–507.
- Weber, G. (1964) Enzyme regulation in mammalian tissues, *Science*, **146**, 1489–1492, doi: 10.1126/science.146.3650.1489.
- Weber, G., and Singhal, R. L. (1965) Insulin: inducer of phosphofructokinase. The integrative action of insulin at the enzyme biosynthetic level, *Life Sci.*, **4**, 1993–2002.
- Weber, G., Singhal, R. L., and Srivastava, S. K. (1965) Effect of nutritional state on hormonal regulation of liver enzymes, *Can. J. Biochem.*, **43**, 1549–1563.
- Pearce, L. R., Komander, D., and Alessi, D. R. (2010) The nuts and bolts of AGC protein kinases, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **11**, 9–22, doi: 10.1038/nrm2822.
- Sabatini, D. M. (2017) Twenty-five years of mTOR: uncovering the link from nutrients to growth, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **114**, 11818–11825, doi: 10.1073/pnas.1716173114.
- Herzig, S., and Shaw, R. J. (2018) AMPK: guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **19**, 121–135, doi: 10.1038/nrm.2017.95.
- Price, N. L., Gomes, A. P., Ling, A. J. Y., Duarte, F. V., Martin-Montalvo, A., North, B. J., Agarwal, B., Ye, L., Ramadori, G., Teodoro, J. S., Hubbard, B. P., Varela, A. T., Davis, J. G., Varamini, B., Hafner, A., Moaddel, R., Rolo, A. P., Coppari, R., Palmeira, C. M., de Cabo, R., Baur, J. A., and Sinclair, D. A. (2012) SIRT1 is required for AMPK activation and the beneficial effects of resveratrol on mitochondrial function, *Cell Metab.*, **15**, 675–690, doi: 10.1016/j.cmet.2012.04.003.
- Ghosh, H. S., Reizis, B., and Robbins, P. D. (2011) SIRT1 associates with eIF2- α and regulates the cellular stress response, *Sci. Rep.*, **1**, 150, doi: 10.1038/srep00150.
- Liang, C., Curry, B. J., Brown, P. L., and Zemel, M. B. (2014) Leucine modulates mitochondrial biogenesis and SIRT1-AMPK signaling in C2C12 myotubes, *J. Nutr. Metab.*, **2014**, 239750, doi: 10.1155/2014/239750.
- Masson, G. R. (2019) Towards a model of GCN2 activation, *Biochem. Soc. Trans.*, **47**, 1481–1488, doi: 10.1042/BST20190331.
- Pakos-Zebrucka, K., Koryga, I., Mnich, K., Ljubic, M., Samali, A., and Gorman, A. M. (2016) The integrated stress response, *EMBO Rep.*, **17**, 1374–1395, doi: 10.15252/embr.201642195.
- Yang, H., Jiang, X., Li, B., Yang, H. J., Miller, M., Yang, A., Dhar, A., and Pavletich, N. P. (2017) Mechanisms of mTORC1 activation by RHEB and inhibition by PRAS40, *Nature*, **552**, 368–373, doi: 10.1038/nature25023.
- Heard, J. J., Fong, V., Bathaie, S. Z., and Tamanoi, F. (2014) Recent progress in the study of the Rheb family GTPases, *Cell. Signal.*, **26**, 1950–1957, doi: 10.1016/j.cellsig.2014.05.011.
- Dibble, C. C., Elis, W., Menon, S., Qin, W., Klekota, J., Asara, J. M., Finan, P. M., Kwiatkowski, D. J., Murphy, L. O., and Manning, B. D. (2012) TBC1D7 is a third subunit of the TSC1-TSC2 complex upstream of mTORC1, *Mol. Cell*, **47**, 535–546, doi: 10.1016/j.molcel.2012.06.009.
- Sancak, Y., Peterson, T. R., Shaul, Y. D., Lindquist, R. A., Thoreen, C. C., Bar-Peled, L., and Sabatini, D. M. (2008) The Rag GTPases bind raptor and mediate amino acid signaling to mTORC1, *Science*, **320**, 1496–1501, doi: 10.1126/science.1157535.
- Nada, S., Hondo, A., Kasai, A., Koike, M., Saito, K., Uchiyama, Y., and Okada, M. (2009) The novel lipid raft adaptor p18 controls endosome dynamics by anchoring the MEK-ERK pathway to late endosomes, *EMBO J.*, **28**, 477–489, doi: 10.1038/emboj.2008.308.
- Zhang, C.-S., Jiang, B., Li, M., Zhu, M., Peng, Y., Zhang, Y.-L., Wu, Y.-Q., Li, T. Y., Liang, Y., Lu, Z., Lian, G., Liu, Q., Guo, H., Yin, Z., Ye, Z., Han, J., Wu, J.-W., Yin, H., Lin, S.-Y., and Lin, S.-C. (2014) The lysosomal v-ATPase-ragulator complex is a common activator for AMPK and mTORC1, acting as a switch between catabolism and anabolism, *Cell Metab.*, **20**, 526–540, doi: 10.1016/j.cmet.2014.06.014.

20. Bar-Peled, L., Schweitzer, L. D., Zoncu, R., and Sabatini, D. M. (2012) Ragulator is a GEF for the Rag GTPases that signal amino acid levels to mTORC1 *Cell*, **150**, 1196-1208, doi: 10.1016/j.cell.2012.07.032.
21. Zoncu, R., Bar-Peled, L., Efeyan, A., Wang, S., Sancak, Y., and Sabatini, D. M. (2011) mTORC1 senses lysosomal amino acids through an inside-out mechanism that requires the vacuolar H(+)-ATPase, *Science*, **334**, 678-683, doi: 10.1126/science.1207056.
22. Shen, K., Huang, R. K., Brignole, E. J., Condon, K. J., Valenstein, M. L., Chantranupong, L., Bomaliyamu, A., Choe, A., Hong, C., Yu, Z., and Sabatini, D. M. (2018) Architecture of the human GATOR1 and GATOR1-Rag GTPases complexes, *Nature*, **556**, 64-69, doi: 10.1038/nature26158.
23. Gu, X., Orozco, J. M., Saxton, R. A., Condon, K. J., Liu, G. Y., Krawczyk, P. A., Scaria, S. M., Harper, J. W., Gygi, S. P., and Sabatini, D. M. (2017) SAMTOR is an S-adenosylmethionine sensor for the mTORC1 pathway, *Science*, **358**, 813-818, doi: 10.1126/science.aao3265.
24. Chantranupong, L., Wolfson, R. L., Orozco, J. M., Saxton, R. A., Scaria, S. M., Bar-Peled, L., Spooner, E., Isasa, M., Gygi, S. P., and Sabatini, D. M. (2014) The sestrins interact with GATOR2 to negatively regulate the amino acid sensing pathway upstream of mTORC1, *Cell Rep.*, **9**, 1-8, doi: 10.1016/j.celrep.2014.09.014.
25. Wolfson, R. L., Chantranupong, L., Saxton, R. A., Shen, K., Scaria, S. M., Cantor, J. R., and Sabatini, D. M. (2016) Sestrin2 is a leucine sensor for the mTORC1 pathway, *Science*, **351**, 43-48, doi: 10.1126/science.aab2674.
26. Kim, H., An, S., Ro, S.-H., Teixeira, F., Park, G. J., Kim, C., Cho, C.-S., Kim, J.-S., Jakob, U., Lee, J. H., and Cho, U.-S. (2015) Janus-faced sestrin2 controls ROS and mTOR signalling through two separate functional domains, *Nat. Commun.*, **6**, 10025, doi: 10.1038/ncomms10025.
27. Chantranupong, L., Scaria, S. M., Saxton, R. A., Gygi, M. P., Shen, K., Wyant, G. A., Wang, T., Harper, J. W., Gygi, S. P., and Sabatini, D. M. (2016) The CASTOR proteins are arginine sensors for the mTORC1 pathway, *Cell*, **165**, 153-164, doi: 10.1016/j.cell.2016.02.035.
28. Gai, Z., Wang, Q., Yang, C., Wang, L., Deng, W., and Wu, G. (2016) Structural mechanism for the arginine sensing and regulation of CASTOR1 in the mTORC1 signaling pathway, *Cell Discov.*, **2**, 16051, doi: 10.1038/celldisc.2016.51.
29. Shen, K., Rogala, K. B., Chou, H.-T., Huang, R. K., Yu, Z., and Sabatini, D. M. (2019) Cryo-EM structure of the human FLCN-FNIP2-Rag-Ragulator complex, *Cell*, **179**, 1319-1329, doi: 10.1016/j.cell.2019.10.036.
30. Meng, J., and Ferguson, S. M. (2018) GATOR1-dependent recruitment of FLCN-FNIP to lysosomes coordinates Rag GTPase heterodimer nucleotide status in response to amino acids, *J. Cell Biol.*, **217**, 2765-2776, doi: 10.1083/jcb.201712177.
31. Baba, M., Hong, S.-B., Sharma, N., Warren, M. B., Nickerson, M. L., Iwamatsu, A., Esposito, D., Gillette, W. K., Hopkins, R. F., Hartley, J. L., Furihata, M., Oishi, S., Zhen, W., Burke, T. R., Linehan, W. M., Schmidt, L. S., and Zbar, B. (2006) Folliculin encoded by the BHD gene interacts with a binding protein, FNIP1, and AMPK, and is involved in AMPK and mTOR signaling, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 15552-15557, doi: 10.1073/pnas.0603781103.
32. Starling, G. P., Yip, Y. Y., Sanger, A., Morton, P. E., Eden, E. R., and Dodding, M. P. (2016) Folliculin directs the formation of a Rab34-RILP complex to control the nutrient-dependent dynamic distribution of lysosomes, *EMBO Rep.*, **17**, 823-841, doi: 10.15252/embr.201541382.
33. Lee, M., Kim, J. H., Yoon, I., Lee, C., Sichani, M. F., Kang, J. S., Kang, J., Guo, M., Lee, K. Y., Han, G., Kim, S., and Han, J. M. (2018) Coordination of the leucine-sensing Rag GTPase cycle by leucyl-tRNA synthetase in the mTORC1 signaling pathway, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **115**, 5279-5288, doi: 10.1073/pnas.1801287115.
34. Mohan, N., Shen, Y., Dokmanovic, M., Endo, Y., Hirsch, D. S., and Wu, W. J. (2016) VPS34 regulates TSC1/TSC2 heterodimer to mediate RheB and mTORC1/S6K1 activation and cellular transformation, *Oncotarget*, **7**, 52239-52254, doi: 10.18632/oncotarget.10469.
35. Yoon, M.-S., Rosenberger, C. L., Wu, C., Truong, N., Sweedler, J. V., and Chen, J. (2015) Rapid mitogenic regulation of the mTORC1 inhibitor, DEPTOR, by phosphatidic acid. *Mol. Cell*, **58**, 549-556, doi: 10.1016/j.molcel.2015.03.028.
36. Yoon, M.-S., Sun, Y., Arauz, E., Jiang, Y., and Chen, J. (2011) Phosphatidic acid activates mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) kinase by displacing FK506 binding protein 38 (FKBP38) and exerting an allosteric effect, *J. Biol. Chem.*, **286**, 29568-29574, doi: 10.1074/jbc.M111.262816.
37. Dayam, R. M., Saric, A., Shilliday, R. E., and Botelho, R. J. (2015) The phosphoinositide-gated lysosomal Ca²⁺ channel, TRPML1, is required for phagosome maturation, *Traffic Cph. Den.*, **16**, 1010-1026, doi: 10.1111/tra.12303.
38. Durán, R. V., Oppliger, W., Robitaille, A. M., Heiserich, L., Skendaj, R., Gottlieb, E., and Hall, M. N. (2012) Glutaminolysis activates Rag-mTORC1 signaling, *Mol. Cell*, **47**, 349-358, doi: 10.1016/j.molcel.2012.05.043.
39. Mony, V. K., Benjamin, S., and O'Rourke, E. J. (2016) A lysosome-centered view of nutrient homeostasis, *Autophagy*, **12**, 619-631, doi: 10.1080/15548627.2016.1147671.
40. Lim, C.-Y., and Zoncu, R. (2016) The lysosome as a command-and-control center for cellular metabolism: lysosomes as orchestrators of cellular metabolism, *J. Cell Biol.*, **214**, 653-664, doi: 10.1083/jcb.201607005.
41. Lamming, D. W., and Bar-Peled, L. (2019) Lysosome: the metabolic signaling hub, *Traffic*, **20**, 27-38, doi: 10.1111/tra.12617.
42. Tyagi, R., Shahani, N., Gorgen, L., Ferretti, M., Pryor, W., Chen, P. Y., Swarnkar, S., Worley, P. F., Karbstein, K., Snyder, S. H., and Subramaniam, S. (2015) Rheb inhibits protein synthesis by activating the PERK-eIF2 α signaling cascade, *Cell Rep.*, **10**, 684-693, doi: 10.1016/j.celrep.2015.01.014.
43. Martina, J. A., and Puertollano, R. (2013) Rag GTPases mediate amino acid-dependent recruitment of TFEB and MITF to lysosomes, *J. Cell Biol.*, **200**, 475-491, doi: 10.1083/jcb.201209135.
44. Goberdhan, D. C. (2010) Intracellular amino acid sensing and mTORC1-regulated growth: new ways to block an old target? *Curr. Opin. Investig. Drugs Lond. Engl.*, **11**, 1360-1367.
45. Ögmundsdóttir, M. H., Heublein, S., Kazi, S., Reynolds, B., Visvalingam, S. M., Shaw, M. K., and Goberdhan, D. C. I. (2012) Proton-assisted amino acid transporter PAT1 complexes with Rag GTPases and activates TORC1 on late endosomal and lysosomal membranes, *PLoS One*, **7**, e36616, doi: 10.1371/journal.pone.0036616.
46. Zoncu, R., Sabatini, D. M., and Efeyan, A. (2011) mTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing., *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **12**, 21-35, doi: 10.1038/nrm3025.
47. Kailash, R., and Aylett, C. H. S. (2018) Signal integration in the (m)TORC1 growth pathway, *Front. Biol.*, **13**, 237-262, doi: 10.1007/s11515-018-1501-7.
48. Lei, H.-T., Ma, J., Sanchez Martinez, S., and Gonen, T. (2018) Crystal structure of arginine-bound lysosomal

- transporter SLC38A9 in the cytosol-open state, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **25**, 522-527, doi: 10.1038/s41594-018-0072-2.
49. Cherfils, J. (2017) Encoding allostery in mTOR signaling: the structure of the Rag GTPase/ragulator complex, *Mol. Cell*, **68**, 823-824, doi: 10.1016/j.molcel.2017.11.027.
 50. Mu, Z., Wang, L., Deng, W., Wang, J., and Wu, G. (2017) Structural insight into the Ragulator complex which anchors mTORC1 to the lysosomal membrane, *Cell Discov.*, **3**, 17049, doi: 10.1038/celldisc.2017.49.
 51. Yonehara, R., Nada, S., Nakai, T., Nakai, M., Kitamura, A., Ogawa, A., Nakatsumi, H., Nakayama, K. I., Li, S., Standley, D. M., Yamashita, E., Nakagawa, A., and Okada, M. (2017) Structural basis for the assembly of the Ragulator-Rag GTPase complex, *Nat. Commun.*, **8**, 1625, doi: 10.1038/s41467-017-01762-3.
 52. Zhang, T., Wang, R., Wang, Z., Wang, X., Wang, F., and Ding, J. (2017) Structural basis for Ragulator functioning as a scaffold in membrane-anchoring of Rag GTPases and mTORC1, *Nat. Commun.*, **8**, 1394, doi: 10.1038/s41467-017-01567-4.
 53. Yu, Y., Li, S., Xu, X., Li, Y., Guan, K., Arnold, E., and Ding, J. (2005) Structural basis for the unique biological function of small GTPase RHEB, *J. Biol. Chem.*, **280**, 17093-17100, doi: 10.1074/jbc.M501253200.
 54. Mazhab-Jafari, M. T., Rohou, A., Schmidt, C., Bueler, S. A., Benlekkbir, S., Robinson, C. V., and Rubinstein, J. L. (2016) Atomic model for the membrane-embedded VO motor of a eukaryotic v-ATPase, *Nature*, **539**, 118-122, doi: 10.2210/pdb5tj5/pdb.
 55. Zhao, J., Benlekkbir, S., and Rubinstein, J. L. (2015) Electron cryomicroscopy observation of rotational states in a eukaryotic v-ATPase, *Nature*, **521**, 241-245, doi: 10.1038/nature14365.
 56. Aylett, C. H. S., Sauer, E., Imseng, S., Boehringer, D., Hall, M. N., Ban, N., and Maier, T. (2016) Architecture of human mTOR complex 1, *Science*, **351**, 48-52, doi: 10.1126/science.aaa3870.
 57. Yang, H., Wang, J., Liu, M., Chen, X., Huang, M., Tan, D., Dong, M.-Q., Wong, C. C. L., Wang, J., Xu, Y., and Wang, H.-W. (2016) 4.4 Å Resolution Cryo-EM structure of human mTOR complex 1, *Protein Cell*, **7**, 878-887, doi: 10.1007/s13238-016-0346-6.
 58. Basso, A. D., Mirza, A., Liu, G., Long, B. J., Bishop, W. R. and Kirschmeier, P. (2005) The farnesyl transferase inhibitor (FTI) SCH66336 (lonafarnib) inhibits Rheb farnesylation and mTOR signaling. Role in FTI enhancement of taxane and tamoxifen anti-tumor activity, *J. Biol. Chem.*, **280**, 31101-31108, doi: 10.1074/jbc.M503763200.
 59. Rogala, K. B., Gu, X., Kedir, J. F., Abu-Remaileh, M., Bianchi, L. F., Bottino, A. M. S., Dueholm, R., Niehaus, A., Overwijn, D., Fils, A.-C. P., Zhou, S. X., Leary, D., Laqtom, N. N., Brignole, E. J., and Sabatini, D. M. (2019) Structural basis for the docking of mTORC1 on the lysosomal surface, *Science*, **366**, 468-475, doi: 10.1126/science.aay0166.
 60. Peng, W., and Jewell, J. L. (2020) Amino acid sensing: architecture of mTORC1 on the lysosome surface, *Curr. Biol.*, **30**, 89-91, doi: 10.1016/j.cub.2019.11.087.
 61. Fan, S.-J., Snell, C., Turley, H., Li, J.-L., McCormick, R., Perera, S. M. W., Heublein, S., Kazi, S., Azad, A., Wilson, C., Harris, A. L., and Goberdhan, D. C. I. (2016) PAT4 levels control amino-acid sensitivity of rapamycin-resistant mTORC1 from the Golgi and affect clinical outcome in colorectal cancer, *Oncogene*, **35**, 3004-3015, doi: 10.1038/onc.2015.363.
 62. Pedroso, J. A. B., Zampieri, T. T., and Donato, J. (2015) Reviewing the effects of L-leucine supplementation in the regulation of food intake, energy balance, and glucose homeostasis, *Nutrients*, **7**, 3914-3937, doi: 10.3390/nu7053914.
 63. Nicklin, P., Bergman, P., Zhang, B., Triantafellow, E., Wang, H., Nyfeler, B., Yang, H., Hild, M., Kung, C., Wilson, C., Myer, V. E., MacKeigan, J. P., Porter, J. A., Wang, Y. K., Cantley, L. C., Finan, P. M., and Murphy, L. O. (2009) Bidirectional transport of amino acids regulates mTOR and autophagy, *Cell*, **136**, 521-534, doi: 10.1016/j.cell.2008.11.044.
 64. Wyant, G. A., Abu-Remaileh, M., Wolfson, R. L., Chen, W. W., Freinkman, E., Danai, L. V., Vander Heiden, M. G., and Sabatini, D. M. (2017) mTORC1 activator SLC38A9 is required to efflux essential amino acids from lysosomes and use protein as a nutrient, *Cell*, **171**, 642-654, doi: 10.1016/j.cell.2017.09.046.
 65. Kilberg, M. S., Shan, J., and Su, N. (2009) ATF4-dependent transcription mediates signaling of amino acid limitation, *Trends Endocrinol. Metab.*, **20**, 436-443, doi: 10.1016/j.tem.2009.05.008.
 66. Lawrence, R. E., Cho, K. F., Rappold, R., Thrun, A., Tofaute, M., Kim, D. J., Moldavski, O., Hurley, J. H., and Zoncu, R. (2018) A nutrient-induced affinity switch controls mTORC1 activation by its Rag GTPase-ragulator lysosomal scaffold, *Nat. Cell Biol.*, **20**, 1052-1063, doi: 10.1038/s41556-018-0148-6.
 67. Wong, P.-M., Feng, Y., Wang, J., Shi, R., and Jiang, X. (2015) Regulation of autophagy by coordinated action of mTORC1 and protein phosphatase 2A, *Nat. Commun.*, **6**, 8048, doi: 10.1038/ncomms9048.
 68. Shen, K., Choe, A., and Sabatini, D. M. (2017) Intersubunit crosstalk in the Rag GTPase heterodimer enables mTORC1 to respond rapidly to amino acid availability, *Mol. Cell*, **68**, 552-565, doi: 10.1016/j.molcel.2017.09.026.
 69. Thomas, H. E., Zhang, Y., Stefely, J. A., Veiga, S. R., Thomas, G., Kozma, S. C., and Mercer, C. A. (2018) Mitochondrial complex I activity is required for maximal autophagy, *Cell Rep.*, **24**, 2417, doi: 10.1016/j.celrep.2018.07.101.
 70. Adachi, Y., De Sousa-Coelho, A. L., Harata, I., Aoun, C., Weimer, S., Shi, X., Gonzalez Herrera, K. N., Takahashi, H., Doherty, C., Noguchi, Y., Goodyear, L. J., Haigis, M. C., Gerszten, R. E., and Patti, M.-E. (2018) l-alanine activates hepatic AMP-activated protein kinase and modulates systemic glucose metabolism, *Mol. Metab.*, **17**, 61-70, doi: 10.1016/j.molmet.2018.08.002.
 71. Kimball, S. R., Gordon, B. S., Moyer, J. E., Dennis, M. D., and Jefferson, L. S. (2016) Leucine induced dephosphorylation of sestrin2 promotes mTORC1 activation, *Cell. Signal.*, **28**, 896-906, doi: 10.1016/j.cellsig.2016.03.008.
 72. Parmigiani, A., Nourbakhsh, A., Ding, B., Wang, W., Kim, Y. C., Akopiants, K., Guan, K.-L., Karin, M., and Budanov, A. V. (2014) Sestrins inhibit mTORC1 kinase activation through the GATOR complex, *Cell Rep.*, **9**, 1281-1291, doi: 10.1016/j.celrep.2014.10.019.
 73. Wauson, E. M., Zaganjor, E., Lee, A.-Y., Guerra, M. L., Ghosh, A. B., Bookout, A. L., Chambers, C. P., Jivan, A., McGlynn, K., Hutchison, M. R., Deberardinis, R. J., and Cobb, M. H. (2012) The G protein-coupled taste receptor T1R1/T1R3 regulates mTORC1 and autophagy, *Mol. Cell*, **47**, 851-862, doi: 10.1016/j.molcel.2012.08.001.
 74. Pezze, P. D., Ruf, S., Sonntag, A. G., Langelaar-Makkinje, M., Hall, P., Heberle, A. M., Navas, P. R., van Eunen, K., Tölle, R. C., Schwarz, J. J., Wiese, H., Warscheid, B., Deitersen, J., Stork, B., Fäßler, E., Schäuble, S., Hahn, U., Horvatovich, P., Shanley, D. P., and Thedieck, K. (2016) A systems study reveals concurrent activation of AMPK and mTOR by amino acids, *Nat. Commun.*, **7**, doi: 10.1038/ncomms13254.
 75. Krall, A. S., Xu, S., Graeber, T. G., Braas, D., and Christofk, H. R. (2016) Asparagine promotes cancer cell

- proliferation through use as an amino acid exchange factor, *Nat. Commun.*, **7**, 11457, doi: 10.1038/ncomms11457.
76. Dyachok, J., Earnest, S., Iturraran, E. N., Cobb, M. H., and Ross, E. M. (2016) Amino acids regulate mTORC1 by an obligate two-step mechanism, *J. Biol. Chem.*, **291**, 22414-22426, doi: 10.1074/jbc.M116.732511.
 77. Ruderman, N. B., Xu, X. J., Nelson, L., Cacicedo, J. M., Saha, A. K., Lan, F., and Ido, Y. (2010) AMPK and SIRT1: a long-standing partnership? *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **298**, 751-760, doi: 10.1152/ajpendo.00745.2009.
 78. Kim, J. H., Lee, C., Lee, M., Wang, H., Kim, K., Park, S. J., Yoon, I., Jang, J., Zhao, H., Kim, H. K., Kwon, N. H., Jeong, S. J., Yoo, H. C., Kim, J. H., Yang, J. S., Lee, M. Y., Lee, C. W., Yun, J., Oh, S. J., Kang, J. S., Martinis, S. A., Hwang, K. Y., Guo, M., Han, G., Han, J. M., and Kim, S. (2017) Control of leucine-dependent mTORC1 pathway through chemical intervention of leucyl-tRNA synthetase and Rag D interaction, *Nat. Commun.*, **8**, 732, doi: 10.1038/s41467-017-00785-0.
 79. Yoon, M.-S., Son, K., Arauz, E., Han, J. M., Kim, S., and Chen, J. (2016) Leucyl-tRNA synthetase activates Vps34 in amino acid-sensing mTORC1 signaling, *Cell Rep.*, **16**, 1510-1517, doi: 10.1016/j.celrep.2016.07.008.
 80. Wolfson, R. L., Chantranupong, L., Wyant, G. A., Gu, X., Orozco, J. M., Shen, K., Condon, K. J., Petri, S., Kedir, J., Scaria, S. M., Abu-Remaileh, M., Frankel, W. N., and Sabatini, D. M. (2017) KICSTOR recruits GATOR1 to the lysosome and is necessary for nutrients to regulate mTORC1, *Nature*, **543**, 438-442, doi: 10.1038/nature21423.
 81. Tomita, T., Kuzuyama, T., and Nishiyama, M. (2011) Structural basis for leucine-induced allosteric activation of glutamate dehydrogenase, *J. Biol. Chem.*, **286**, 37406-37413, doi: 10.1074/jbc.M111.260265.
 82. Durán, R. V., MacKenzie, E. D., Boulahbel, H., Frezza, C., Heiserich, L., Tardito, S., Bussolati, O., Rocha, S., Hall, M. N., and Gottlieb, E. (2013) HIF-independent role of prolyl hydroxylases in the cellular response to amino acids, *Oncogene*, **32**, 4549-4556, doi: 10.1038/onc.2012.465.
 83. Milkereit, R., Persaud, A., Vanoaica, L., Guetg, A., Verrey, F., and Rotin, D. (2015) LAPT4b recruits the LAT1-4F2hc Leu transporter to lysosomes and promotes mTORC1 activation, *Nat. Commun.*, **6**, 7250, doi: 10.1038/ncomms8250.
 84. Shang, P., Valapala, M., Grebe, R., Hose, S., Ghosh, S., Bhutto, I. A., Handa, J. T., Luty, G. A., Lu, L., Wan, J., Qian, J., Sergeev, Y., Puertollano, R., Zigler, J. S., Xu, G.-T., and Sinha, D. (2017) The amino acid transporter SLC36A4 regulates the amino acid pool in retinal pigmented epithelial cells and mediates the mechanistic target of rapamycin, complex 1 signaling, *Aging Cell*, **16**, 349-359, doi: 10.1111/acel.12561.
 85. Andrzejewska, Z., Nevo, N., Thomas, L., Chhuon, C., Bailleux, A., Chauvet, V., Courtoy, P. J., Chol, M., Guerrero, I. C., and Antignac, C. (2016) Cystinosin is a component of the vacuolar H⁺-ATPase-Ragulator-Rag complex controlling mammalian target of rapamycin complex 1 signaling, *J. Am. Soc. Nephrol.*, **27**, 1678-1688, doi: 10.1681/ASN.2014090937.
 86. Shen, K., and Sabatini, D. M. (2018) Ragulator and SLC38A9 activate the Rag GTPases through noncanonical GEF mechanisms, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **115**, 9545-9550, doi: 10.1073/pnas.1811727115.
 87. Lee, S. W., Cho, B. H., Park, S. G., and Kim, S. (2004) Aminoacyl-tRNA synthetase complexes: beyond translation, *J. Cell Sci.*, **117**, 3725-3734, doi: 10.1242/jcs.01342.
 88. Fawal, M.-A., Brandt, M., and Djouder, N. (2015) MCRS1 binds and couples Rheb to amino acid-dependent mTORC1 activation, *Dev. Cell*, **33**, 67-81, doi: 10.1016/j.devcel.2015.02.010.
 89. Carroll, B., Maetzel, D., Maddocks, O. D., Otten, G., Ratcliff, M., Smith, G. R., Dunlop, E. A., Passos, J. F., Davies, O. R., Jaenisch, R., Tee, A. R., Sarkar, S., and Korolchuk, V. I. (2016) Control of TSC2-Rheb signaling axis by arginine regulates mTORC1 activity, *eLife*, **5**, e11058, doi: 10.7554/eLife.11058.
 90. Jewell, J. L., Kim, Y. C., Russell, R. C., Yu, F.-X., Park, H. W., Plouffe, S. W., Tagliabracci, V. S., and Guan, K.-L. (2015) Differential regulation of mTORC1 by leucine and glutamine, *Science*, **347**, 194-198, doi: 10.1126/science.1259472.
 91. Laxman, S., Sutter, B. M., and Tu, B. P. (2014) Methionine is a signal of amino acid sufficiency that inhibits autophagy through the methylation of PP2A, *Autophagy*, **10**, 386-387, doi: 10.4161/auto.27485.
 92. Sutter, B. M., Wu, X., Laxman, S., and Tu, B. P. (2013) Methionine inhibits autophagy and promotes growth by inducing the SAM-responsive methylation of PP2A, *Cell*, **154**, 403-415, doi: 10.1016/j.cell.2013.06.041.
 93. Chen, L., Wang, K., Long, A., Jia, L., Zhang, Y., Deng, H., Li, Y., Han, J., and Wang, Y. (2017) Fasting-induced hormonal regulation of lysosomal function, *Cell Res.*, **27**, 748-763, doi: 10.1038/cr.2017.45.
 94. Yuan, W., Guo, S., Gao, J., Zhong, M., Yan, G., Wu, W., Chao, Y., and Jiang, Y. (2017) General control nonderepressible 2 (GCN2) kinase inhibits target of rapamycin complex 1 in response to amino acid starvation in *Saccharomyces cerevisiae*, *J. Biol. Chem.*, **292**, 2660-2669, doi: 10.1074/jbc.M116.772194.
 95. Averous, J., Lambert-Langlais, S., Mesclon, F., Carraro, V., Parry, L., Jousse, C., Bruhat, A., Maurin, A.-C., Pierre, P., Proud, C. G., and Fafournoux, P. (2016) GCN2 contributes to mTORC1 inhibition by leucine deprivation through an ATF4 independent mechanism, *Sci. Rep.*, **6**, 27698, doi: 10.1038/srep27698.
 96. Floyd, J. C., Fajans, S. S., Pek, S., Thiffault, C. A., Knopf, R. F., and Conn, J. W. (1970) Synergistic effect of certain amino acid pairs upon insulin secretion in man, *Diabetes*, **19**, 102-108, doi: 10.2337/diab.19.2.102.
 97. Choi, Y. H., Fletcher, P. J., and Anderson, G. H. (2001) Extracellular amino acid profiles in the paraventricular nucleus of the rat hypothalamus are influenced by diet composition, *Brain Res.*, **892**, 320-328, doi: 10.1016/S0006-8993(00)03267-4.
 98. Su, Y., Lam, T. K. T., He, W., Poci, A., Bryan, J., Aguilar-Bryan, L., and Gutiérrez-Juárez, R. (2012) Hypothalamic leucine metabolism regulates liver glucose production, *Diabetes*, **61**, 85-93, doi: 10.2337/db11-0857.
 99. Xiao, Y., Deng, Y., Yuan, F., Xia, T., Liu, H., Li, Z., Liu, Z., Ying, H., Liu, Y., Zhai, Q., Chen, S., and Guo, F. (2017) ATF4/ATG5 signaling in hypothalamic proopiomelanocortin neurons regulates fat mass via affecting energy expenditure, *Diabetes*, **66**, 1146-1158, doi: 10.2337/db16-1546.
 100. Delgoffe, G. M., Pollizzi, K. N., Waickman, A. T., Heikamp, E., Meyers, D. J., Horton, M. R., Xiao, B., Worley, P. F., and Powell, J. D. (2011) The kinase mTOR regulates the differentiation of helper T cells through the selective activation of signaling by mTORC1 and mTORC2, *Nat. Immunol.*, **12**, 295-303, doi: 10.1038/ni.2005.
 101. Bao, W., Wang, Y., Fu, Y., Jia, X., Li, J., Vangan, N., Bao, L., Hao, H., and Wang, Z. (2015) mTORC1 regulates flagellin-induced inflammatory response in macrophages, *PLoS One*, **10**, e0125910, doi: 10.1371/journal.pone.0125910.
 102. Decker, B., and Pumiglia, K. (2018) mTORC1 activity is necessary and sufficient for phosphorylation of eNOS S1177, *Physiol. Rep.*, **6**, e13733, doi: 10.14814/phy2.13733.

103. Nesterov, S. V., Yaguzhinsky, L. S., Podoprigora, G. I., and Nartsissov, Y. R. (2018) Autocatalytic cycle in the pathogenesis of diabetes mellitus: biochemical and pathophysiological aspects of metabolic therapy with natural amino acids on the example of glycine, *Diabetes Mellit.*, **21**, 283-292, doi: 10.14341/DM9529.
104. Podoprigora, G. I., and Nartsissov, Y. R. (2009) Effect of glycine on the microcirculation in rat mesenteric vessels, *Bull. Exp. Biol. Med.*, **147**, 308-311, doi: 10.1007/s10517-009-0498-y.
105. Podoprigora, G. I., Nartsissov, Y. R., and Aleksandrov, P. N. (2005) Effect of glycine on microcirculation in pial vessels of rat brain, *Bull. Exp. Biol. Med.*, **139**, 675-677, doi: 10.1007/s10517-005-0375-2.
106. Podoprigora, G. I., Blagosklonov, O., Angoué, O., Boulahdour, H., and Nartsissov, Y. R. (2012) Assessment of microcirculatory effects of glycine by intravital microscopy in rats, *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.*, **2012**, 2651-2654, doi: 10.1109/EMBC.2012.6346509.

AMINO ACIDS AS METABOLIC REGULATORS

Review

S. V. Nesterov^{1,2}, L. S. Yaguzhinsky^{1,3*}, G. I. Podoprigora¹, and Ya. R. Nartsissov¹

¹ Institute of Cytochemistry and Molecular Pharmacology, 115404 Moscow, Russia; E-mail: yag@genebee.msu.ru

² Moscow Institute of Physics and Technology, 141701 Dolgoprudny, Moscow Region, Russia

³ Belozersky Research Institute for Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russia

Received October 3, 2019

Revised February 10, 2020

Accepted February 11, 2020

In this analytical review the regulation and synchronization principles of metabolic processes in mammalian cells were studied. It was used a model of cell metabolism as a two-componential system, which includes a controlling signaling system (that regulates the main enzymatic systems), and an executive metabolic system (that directly performs biosynthesis). This consideration allowed us to distinguish two transitional metabolic states (transition from catabolism to anabolism and vice versa), in which the main changes in the signaling system occur. The signaling system of natural amino acids (AAs) was selected for review as the most convenient fragment of the cell metabolism, since AAs are involved in both signaling and executive metabolic subsystems. A graphical method for representation of signaling events was developed in the work. It made possible to demonstrate the processes sequence occurring in both metabolic subsystems during the passage of a complete metabolic cycle by a non-dividing cell. An important feature of the AA signaling system was revealed: their signal properties are determined not only by molecular structure, but also by their location in the cell. Four main signaling groups of AAs were determined: localized in lysosomes, mitochondria, cytosol, and extracellular space near the plasma membrane. These AA groups are similar in composition, but have different receptors. The scheme of metabolism regulation by AAs was constructed in this work and can serve as basis for the development of a more complete spatio-temporal scheme of metabolic regulation, which includes a wide variety of other intracellular signaling cascades.

Keywords: amino acids, intracellular signaling, mTORC1, AMPK, lysosome, catabolism, anabolism