

РОЛЬ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК В РЕПЛИКАТИВНОМ СТАРЕНИИ ДРОЖЖЕЙ

Обзор

© 2023 А.В. Азбарова^{1,2}, Д.А. Кнорре^{1*}

¹ НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского,
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
119991 Москва, Россия; электронная почта: knorre@belozersky.msu.ru

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
факультет биоинженерии и биоинформатики, 119991 Москва, Россия

Поступила в редакцию 23.08.2023

После доработки 13.11.2023

Принята к публикации 15.11.2023

Несмотря на многообразие проявлений старения, в его основе лежат общие закономерности. В частности, у многоклеточных животных и грибов одной из наиболее уязвимых для возрастных изменений систем являются митохондрии. В обзоре рассмотрено, как дисфункция митохондрий взаимосвязана с репликативным старением простейшей эукариотической модели — дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Обсуждается цепь событий, которая начинается с асимметричного распределения митохондрий между материнской и дочерней клетками, снижения трансмембранного потенциала митохондрий и скорости импорта митохондриальных белков в стареющих клетках. Это приводит к накоплению предшественников митохондриальных белков в цитоплазме, потере митохондриальной ДНК и в конечном счете к гибели клетки. Интересно, что при этом штаммы дрожжей, исходно лишенные митохондриальной ДНК, могут обладать как повышенной, так и сниженной продолжительностью жизни. Это зависит от того, как у них устроены системы активации ответа на митохондриальную дисфункцию. Ключевая роль митохондрий в развитии процессов, приводящих к старению и гибели дрожжей, показывает, что они являются одной из наиболее сложных, и потому уязвимой к накоплению ошибок, системой эукариотической клетки.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: дрожжи, программа развития, старение, митохондриальная ДНК, дисфункция митохондрий.

DOI: 10.31857/S0320972523120047, EDN: NJQFMZ

ВВЕДЕНИЕ

Старение — процесс снижения фертильности и увеличения вероятности смерти с возрастом [1] — неизбежно возникает в живых системах в процессе эволюции. Это связано с тем, что естественный отбор становится менее эффективным после размножения, поскольку он действует на признаки и гены, которые влияют на размножение и потомство. Соответственно, по мере того как организм производит все больше потомков, действие естественного отбора на те признаки (и определяющие их гены), которые проявляются уже после размножения, ослабевает [2, 3]. Микроорганизмы, в том числе бактерии и одноклеточные

грибы, не являются исключением. У тех видов бактерий и дрожжей, у которых деление происходит асимметрично, то есть клетка делится с образованием материнской и дочерней клетки, которые различаются по размеру, обычно наблюдается старение [4–7].

Наиболее детально изученным одноклеточным организмом, у которого обнаружено старение, являются пекарские дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* [8–10]. Исследование механизмов старения дрожжей расширило знания о фундаментальных закономерностях старения, а также привело к идентификации систем, воздействие на которые приводит к увеличению продолжительности жизни. Преимуществами пекарских дрожжей как модельного

Принятые сокращения: мтДНК — митохондриальная ДНК; РПЖ — репликативная продолжительность жизни.

* Адресат для корреспонденции.

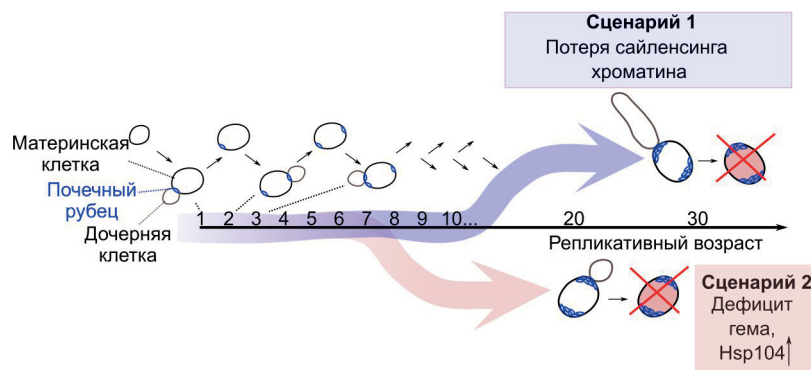


Рис. 1. Два сценария репликативного старения дрожжей. Репликативный возраст указан приблизительно — на основании работ, процитированных в тексте

объекта являются высокая скорость пролиферации и возможность получения генетически стабильных линий мутантных штаммов, что позволяет устанавливать функции генов и кодируемых ими белков [11]. В настоящее время доступны десятки коллекций мутантных штаммов дрожжей, с их помощью проведены генетические скрининги, направленные на идентификацию генов, связанных с долголетием [12, 13]. Так, например, с помощью дрожевой модели старения были открыты миметики ограничения калорийности питания, в том числе ресвератрол [14], эффект которых наблюдается и на животных [15]. Скрининг мутаций, меняющих продолжительность жизни *S. cerevisiae*, выявил 238 генов, делеция которых увеличивает продолжительность жизни дрожжей [16]. Многие из этих генов аналогичным образом влияли на продолжительность жизни нематод *Caenorhabditis elegans* [16]. Результаты данного скрининга были обогащены генами, кодирующими ферменты цикла трикарбоновых кислот, генами, необходимыми для трансляции белков в митохондриях, а также генами, кодирующими белковые компоненты митохондриальной рибосомы [16]. В другой работе авторы показали, что делеция генов, связанных со старением у нематод, чаще приводит к увеличению продолжительности жизни дрожжей, чем к ее снижению [17]. Поэтому можно говорить о консервативности механизмов старения у эукариот.

Старение пекарских дрожжей *S. cerevisiae* обычно определяют как увеличение вероятности гибели материнской клетки не со временем, а с количеством образованных дочерних клеток — почек. Поэтому по отношению к клеткам дрожжей часто используется термин «репликативное» старение [18] (рис. 1).

Количество дочерних клеток, которое может образовать отдельно взятая материнская

клетка дрожжей, ограничено и обычно находится в диапазоне 15–25 [19]. Количество дочерних клеток, которые может образовать материнская клетка до того, как погибнет, называют репликативной продолжительностью жизни (РПЖ). При этом первые изменения внутри клетки, например изменения экспрессии генов стрессового ответа, происходят уже при образовании первых нескольких почек [20].

В процессе старения дрожжей происходит дерегуляция экспрессии многих генов и биогенеза белков. Это приводит к тому, что с возрастом соотношение субъединиц в сложных белковых комплексах, таких, например, как вакуолярная АТРаза, отклоняется от оптимального [21]. В последние годы методы микрофлюидики открыли возможность следить за ходом репликативного старения в отдельно взятых клетках [22, 23]. Оказалось, что траектория старения каждой индивидуальной клетки предопределяется в течение первых нескольких клеточных циклов, а затем идет по одному из двух сценариев. Оба сценария в конечном счете приводят к гибели клеток, однако причины потери жизнеспособности различаются для каждого из этих двух сценариев [24].

Первый сценарий связан с постепенной потерей сайленсинга хроматина (подавление экспрессии генов на уровне транскрипции), что характеризуется повышенной экспрессией *rDNA-GFP* (ген *GFP* интегрирован в нетранскрибируемый участок между генами, кодирующими рибосомальные РНК). Продолжительность клеточного цикла материнских клеток, стареющих таким способом, остается относительно постоянной в течение всей жизни. Последние несколько клеточных циклов сопряжены с формированием удлинённых дочерних клеток (рис. 1).

Старение по второму сценарию сопряжено с увеличением продолжительности клеточного

цикла на ранних этапах жизни и формированием округлых почек [25]. В клетках дрожжей, состарившихся по второму сценарию, наблюдается дефицит гема [25]. Поскольку последние этапы синтеза гема происходят в митохондриях, а дефицит гема вызывает нарушение работы митохондрий [26], можно предположить, что старение по второму сценарию связано с нарушением функции митохондрий. Смерть клеток, стареющих по второму сценарию, характеризуется исчезновением сигнала от Leu4-GFP — митохондриально локализованного белка, участвующего в биосинтезе лейцина (2-изопропилмалат синтаза). Поскольку Leu4p принимает участие в биосинтезе лейцина, содержание Leu4p в клетках предполагает возникновение проблем с анаболизмом лейцина в состарившихся клетках. Кроме того, при старении по второму сценарию наблюдается увеличение экспрессии *HSP104* — гена, кодирующего цитоплазматический шаперон Hsp104p [27]. Одной из функций Hsp104p является связывание и временное хранение предшественников митохондриальных белков в цитоплазме [28], а увеличение концентрации Hsp104p в цитоплазме, как правило, ассоциировано с накоплением денатурированных белков [29]. На основе информации об описанных выше сценариях был придуман генетический осциллятор, заставляющий клетки дрожжей колебаться между этими двумя траекториями старения, что позволило увеличить продолжительность их жизни на 82% [30].

Таким образом, репликативное старение дрожжей можно рассматривать как детерминированную программу развития, идущую по одному из как минимум двух возможных сценариев (рис. 1). При этом, как обсуждалось выше, некоторые клеточные системы лимитируют продолжительность жизни дрожжей и в то же время влияют на долголетие многоклеточных животных [17]. Один из двух описанных сценариев старения, по всей видимости, сопряжен с нарушением работы митохондрий. В этом обзоре мы обсуждаем возможные причинно-следственные связи старения и митохондриальной дисфункции у дрожжей.

НАРУШЕНИЕ ФУНКЦИЙ МИТОХОНДРИЙ ПРИ РЕПЛИКАТИВНОМ СТАРЕНИИ

Клетки пекарских дрожжей делятся асимметрично: материнская и дочерняя клетки значительно отличаются по размеру и по содержанию некоторых белков [31]. Асимметрия по содержанию белков достигается диффузион-

ными ограничениями, накладываемыми на транспорт между клетками крупных клеточных структур: больших белковых агрегатов и органелл, в которых заключены эти белки [32]. Кроме того, агрегаты белков и некоторые клеточные органеллы активно транспортируются между клетками, а также могут заякориваться в кортикальном слое цитоплазмы материнской или дочерних клеток [33, 34]. Транспорт митохондрий между материнской и дочерней клеткой у пекарских дрожжей осуществляется с помощью актинового цитоскелета и миозина Myo2p [35], который связывает митохондрии за белок Mmr1p, локализованный в их внешней мембране [36]. Одновременно с этим белки Num1p и Mfb1p удерживают часть митохондрий на полюсе материнской клетки [37, 38]. Транспорт и селективное удержание митохондрий позволяет распределить их между материнской и дочерней клетками таким образом, чтобы в дочерней клетке оказались наиболее функциональные митохондрии, но при этом и в материнской клетке, наряду с поврежденными митохондриями, осталось небольшое количество функциональных митохондрий [39].

Асимметричное распределение митохондрий между материнской и дочерней клетками приводит к тому, что в материнской клетке остаются митохондрии с более окисленным состоянием молекул матрикса, чем у митохондрий, доставленных в дочернюю клетку. Окислительно-восстановительный баланс в матриксе митохондрий выявляют по изменению флуоресценции редокс-чувствительных флуоресцентных белков, адресованных в матрикс митохондрий [40, 41]. При наличии внутриклеточной гетерогенности митохондрий в клетке дочерняя клетка скорее получит функциональную митохондрию, а нефункциональные митохондрии останутся в материнской клетке [39]. Однако до сих пор неясно, на каком принципе построена селективность заякоривания и транспорта митохондрий между клетками.

Последовательные раунды асимметричных делений приводят к тому, что за несколько делений в материнской клетке начинают проявляться нарушения работы митохондрий. В частности, в течение первых десяти делений происходит снижение трансмембранного потенциала митохондрий ($\Delta\Psi$) [42], а митохондриальная сеть фрагментируется на отдельные органеллы [42, 43]. Известно, что вызванное добавлением протонофоров снижение трансмембранного потенциала митохондрий приводит к дроблению митохондриальной сети [44]. Более того, окислительный стресс, вызванный добавлением прооксидантов, также способен

вызывать фрагментацию митохондрий [45, 46]. Поэтому можно было бы предположить, что дробление митохондрий — это всего лишь сопутствующее событие, сопровождающее увеличение уровня окислительного стресса и деполяризации митохондрий с возрастом. Однако, как было показано, делеция гена *DNM1*, который кодирует динаминподобный белок Dnm1p, необходимый для деления митохондрий, значительно увеличивала РПЖ дрожжей [47]. Таким образом, фрагментация митохондрий является одной из причин деструктивных процессов, развивающихся с возрастом клетки, а не просто сопутствующим событием.

Возраст-зависимое снижение трансмембранного потенциала митохондрий приводит к снижению эффективности импорта белков из цитоплазмы в митохондрии [48]. Импорт белков через наружную мембрану не зависит от трансмембранного потенциала на внутренней мембране митохондрий, в то время как транслокация белков через внутреннюю мембрану прекращается при рассеивании $\Delta\Psi$ протонафорами [48].

Подавление белкового импорта в митохондрии имеет два неблагоприятных для клетки следствия: во-первых, в матриксе возникает дефицит белков, необходимых для репликации митохондриальной ДНК (мтДНК), а также транскрипции и трансляции закодированных там генов. В частности, происходит снижение содержания Mip1p, митохондриальной ДНК-полимеразы, без которой репликация мтДНК невозможна [49]. Интересно, что повышенная экспрессия гена *ТОМ70*, который кодирует компонент ТОМ-комплекса (транслоказа внешней мембраны митохондрий), может частично компенсировать этот эффект за счет активации белкового импорта [49]. Это также указывает на то, что нарушение белкового импорта является одной из причин репликативного старения дрожжей. В конечном счете эти процессы приводят к потере мтДНК в репликативно старых клетках [50] (рис. 1).

Во-вторых, ингибирование импорта белков в митохондрии приводит к накоплению их предшественников в цитоплазме. Такие предшественники токсичны для клетки: известно, что экспрессия белков «клоггеров», запирающих митохондриальную систему импорта белков, останавливает рост клеток [28]. Более того, несмотря на то что клетки дрожжей могут жить за счет гликолиза без мтДНК и окислительного фосфорилирования, делеция большинства генов комплекса TIM (транслоказа внутренней мембраны митохондрий)

или ТОМ-комплекса — летальна [51]. Вероятно, в совокупности, два этих неблагоприятных явления — снижение концентрации жизненно важных белков в митохондриях и протеотоксический стресс, вызванный предшественниками митохондриальных белков, приводят к увеличению длительности клеточного цикла и в конечном счете к гибели клеток. На данный момент нет возможности достоверно различить вклад митохондрий в старение по первому и второму сценариям, описанным выше. Однако именно в случае второго сценария наблюдается изменение структуры митохондриальной сети в процессе старения [25], а также снижение способности клеток накапливать в своих митохондриях флуоресцентный липофильный катион DiOC6 [27]. Это указывает на то, что дисфункция митохондрий, скорее, характерна для второго сценария.

ПОТЕРЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК РАЗНОНАПРАВЛЕННО ВЛИЯЕТ НА РЕПЛИКАТИВНУЮ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ ДРОЖЖЕЙ

Митохондрия — это полуавтономная клеточная органелла; у большинства видов эукариот она сохранила собственную ДНК, в которой закодированы компоненты систем транскрипции, а также некоторые ключевые белки дыхательной цепи [52]. Поэтому мутации в мтДНК или ее полное исчезновение (обычно обозначается как *rho*⁰) приводит к потере митохондриями возможности выполнять функцию, связанную с преобразованием энергии.

Клетки некоторых стандартных лабораторных штаммов дрожжей, которые были лишены мтДНК (например — *YPK9 rho*⁰), демонстрируют увеличенную репликативную продолжительность жизни по сравнению с родительскими штаммами *rho*⁺ [53–57]. Однако эффект от удаления мтДНК обратный [58] или отсутствует в других штаммах, в том числе в *W303-1A*, широко используемом для исследования митохондриальной энергетики дрожжей [53], и в *BY4742* — штамме, на котором основаны современные коллекции мутантных штаммов [59, 60]. Различия в эффектах, по всей видимости, связаны с тем, что клетки разных штаммов по-разному отвечают на митохондриальную дисфункцию [53]. Потеря мтДНК клетками дрожжей вызывает значительные изменения в экспрессии генов и содержании белков у всех исследованных штаммов [61–63]. В том числе

происходит активация ретроградного сигнального пути, приводящего к активации генов, кодирующих ферменты гликолиза и глиоксилатного цикла [61, 64]. Это позволяет клеткам адаптировать собственный метаболизм к условиям, когда невозможно окислительное фосфорилирование, и реакции, сопряженные с дыханием (например, окисление сукцината), — заблокированы.

Причина разнонаправленного изменения РПЖ дрожжей разных штаммов при потере мтДНК может быть связана с несколькими факторами. Так, лабораторный штамм *W303-1A* при потере мтДНК не активирует экспрессию гена *CIT2*, кодирующего пероксисомальную цитрат-синтазу [65], а штамм *YPK9*, клетки *rho⁰* которого обладают увеличенной продолжительностью жизни, — увеличивает экспрессию этого гена [53]. Кроме того, разные штаммы могут значительно отличаться по длине tandemного повтора участка генов рРНК, расположенного на хромосоме XII [66]. Длина этого повтора в геноме положительно коррелирует со средней РПЖ клеток штамма [67]. Это связано с работой механизма отрицательной обратной связи, регулирующего работу гена *SIR2*, который кодирует деацетилазу гистонов Sir2p. Sir2p ингибирует образование кольцевых рибосомальных ДНК (рДНК), являющихся одной из причин старения дрожжей. Регуляторные факторы, связывающиеся с tandemным повтором генов рРНК, количество которых отрицательно коррелирует с длиной tandemного повтора участка генов рРНК, ингибируют Sir2p. Это приводит к появлению кольцевых рДНК в клетках с коротким tandemным повтором. Такие кольцевые рДНК накапливаются в старых клетках, нарушают сайленсинг хроматина и увеличивают вероятность их гибели с возрастом [67]. Можно предположить, что в штаммах дрожжей с коротким tandemным повтором РПЖ лимитируется активностью *SIR2*, накоплением рДНК и старением по первому сценарию, и поэтому функциональное состояние митохондрий не играет особой роли. В то же время в штаммах дрожжей, в которых tandemный повтор рРНК относительно длинный, старение идет преимущественно по второму сценарию, и митохондриальная дисфункция ускоряет скорость старения.

Разный ответ штаммов на деплецию мтДНК может быть также связан с тем, что процесс адаптации к потере мтДНК происходит медленно и занимает несколько десятков поколений [68]. При этом неадаптированные клетки *rho⁰* обладают сниженной, а адаптированные — повышенной продолжительностью

жизни по сравнению с родительским штаммом [68]. Можно предположить, что процесс адаптации происходит с разной скоростью и протекает разными путями у разных лабораторных штаммов.

Наконец, можно предположить, что потеря мтДНК в разной степени влияет на старение по двум сценариям, описанным выше, например, заранее делает клетки адаптированными для старения по второму сценарию, связанному с нарушением работы митохондрий. В этом случае различия лабораторных штаммов по тому, в каком соотношении реализуются эти два сценария при старении, также может объяснять неоднозначность последствий потери клетками мтДНК.

РОЛЬ ЯДЕРНЫХ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ БЕЛКИ, В РЕПЛИКАТИВНОМ ДОЛГОЛЕТИИ ДРОЖЖЕЙ

Митохондриальный протеом дрожжей (совокупность разных белков митохондрий) составляет ~900 белков, подавляющее большинство которых закодированы в ядре и импортируются в митохондрии из цитоплазмы [69]. Соответственно, дисфункция митохондрий может быть вызвана не только потерей мтДНК, но происходит и при выключении ядерных генов, которые кодируют митохондриальные белки. Полногеномное секвенирование коллекции делеционных штаммов дрожжей *S. cerevisiae* показало, что делеция 129 из приблизительно 5000 генов, делеция которых не приводит к потере клетками жизнеспособности, вызывает утрату мтДНК [70]. Показательно, что часть этих генов (17) также была выявлена в скрининге, направленном на поиск генов, делеция которых приводит к увеличению репликативной продолжительности жизни дрожжей [16]. Такое пересечение с большой долей вероятности неслучайно и указывает на связь этих явлений (рис. 2).

В то же время эти результаты показывают, что далеко не все делеции, которые вызывают потерю мтДНК, приводят к долголетию. Среди генов, кодирующих митохондриальные белки, делеция которых увеличивает РПЖ дрожжей, явно выделяется одна категория — это гены, кодирующие компоненты митохондриальной рибосомы. Из диаграммы Венна на рис. 2 видно, что делеция генов *MRPL33*, *MRPL40*, *MRPL49*, *IMG1*, *IMG2*, кодирующих рибосомальные белки, приводит к увеличению РПЖ. Было показано, что делеция гена *MRPL25*, кодирующего

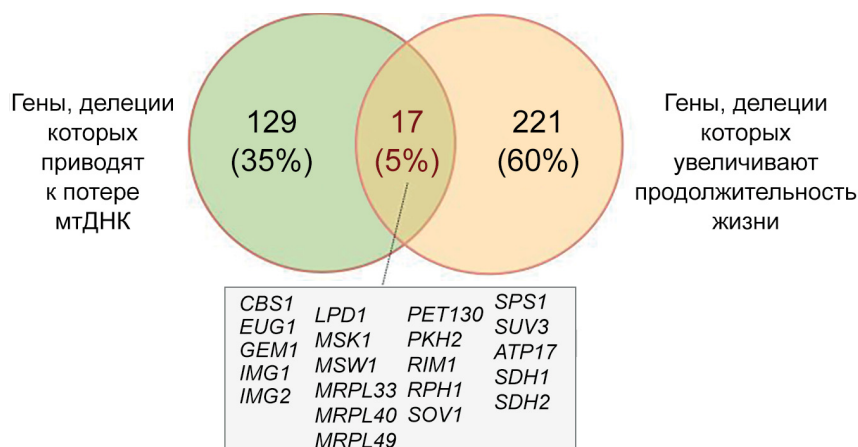


Рис. 2. Диаграмма Венна иллюстрирует пересечение выборок генов дрожжей *S. cerevisiae*, делеция которых приводит к потере мтДНК (работа Puddu et al. [70]) и делеция которых приводит к увеличению репликативной продолжительности жизни (работа McCormick et al. [16]). Вероятность случайного пересечения таких выборок 17 или более генами составляет менее 0,1%

еще один рибосомальный белок, делает клетки устойчивыми к прооксидантам и увеличивает максимальную РПЖ до 60 клеточных делений вместо ~40 — у контрольного штамма [71]. Кроме того, делеция гена *SOV1*, необходимого для сборки митохондриальных рибосом, также увеличивает РПЖ дрожжей [72]. На данный момент остается неизвестным, что делают особенными гены, кодирующие именно митохондриальные рибосомальные белки. Стоит отметить, что функциональная митохондриальная рибосома не имеет возможности сформироваться вне зависимости от того, что послужило причиной потери мтДНК, так как в мтДНК закодированы субъединицы митохондриальной рибосомы рРНК [73]. Однако механизм импорта белков митохондриальной рибосомы несколько отличается от импорта остальных белков. Некоторые из них лишены выраженной митохондриальной адресной последовательности, что связано с консервативностью их функции, в том числе и *N*-концевого участка белков [74]. Следовательно, можно предположить, что делеция этих генов может менять нагрузку на систему импорта белков в митохондрии *rho*⁰ иначе (например, освобождая другие вспомогательные белки), чем делеция остальных, закодированных в ядре генов с выраженным *N*-концевым митохондриальным адресом. Другая возможность связана с тем, что при отсутствии рРНК в митохондриальном матриксе данные белки могут проявлять токсичность и тем самым ускорять старение материнских клеток дрожжей. Наконец, в работе Caballero et al. [72] было высказано предположение, что при исчезновении одних компонентов организации митохондриальной трансляции оставшиеся компоненты той же

системы могут приобретать дополнительные сигнальные функции, связанные с сайленсингом хроматина, приводящие к увеличению долголетия. Это предположение согласуется с наблюдением: для того чтобы делеция гена *CBS1*, кодирующего митохондриальный активатор трансляции, приводила к увеличению РПЖ, необходим белок Cbs2p, который локализуется одновременно и в митохондрии, и в ядре [72].

В то время как делеция одних генов, кодирующих митохондриальные белки, увеличивает РПЖ, делеция других генов приводит к ее заметному сокращению. Делеция гена *MIP1*, который кодирует митохондриальную ДНК-полимеразу и без которого репликация мтДНК невозможна, приводит к укорочению РПЖ [72]. Снижение продолжительности жизни также наблюдается при делеции генов *COX4*, *COX7* [72, 75], *CYC3* [76]. Эти гены кодируют субъединицы комплекса IV дыхательной цепи; их делеция делает невозможным окислительное фосфорилирование и, соответственно, утилизацию неферментируемых источников углерода [77]. Делеция гена *TOM70*, кодирующего компонент системы транспорта белков из цитоплазмы в митохондрии, также приводила к сокращению РПЖ дрожжей [49]. Аналогичный эффект наблюдался при делеции гена митохондриальной протеазы *PIM1*, необходимой для поддержания протеостаза в митохондриальном матриксе [78]. Причина увеличения скорости старения материнских клеток дрожжей при нарушении работы митохондрий, вероятно, связана с тем, что при этом увеличивается доля клеток, стареющих по второму сценарию, связанному со снижением концентрации гема, обладающих более низкой РПЖ, чем клетки, стареющие по первому сце-

нарию, связанному с нарушением сайленсинга хроматина [25].

Нарушение работы митохондрий с помощью ингибиторов митохондриальных ферментов (антимидин А, олигомицин D) и протонофоров, вызывающих деполяризацию митохондрий и стимулирующих дыхание, так же как и потеря мтДНК, разнонаправленно действует на РПЖ [76, 79]. С одной стороны, слабый протонофор динитрофенол (в концентрации 5 мМ) несколько увеличивал РПЖ в штамме *W303-1A* [79]. Эффект динитрофенола, по всей видимости, связан с активацией сигнального пути Rtg, передающего сигнал от неработающих митохондрий к ядру. Известно, что протонофоры вызывают активацию гена *PDR5* — одного из маркерных генов, мишеней ретроградной сигнализации [80]. Сигнальный путь Rtg, в свою очередь, индуцирует адаптивный ответ, продлевающий жизнь [81].

С другой стороны, добавление «сильного» протонофора карбонил цианид-п-трифторметоксифенилгидразона приводило к резкому снижению РПЖ в штамме *BY4741* [82]. С чем может быть связан эффект снижения РПЖ под действием разобщителей? Снижение трансмембранного потенциала митохондрий, вызванное протонофорами, селективно токсично для клеток с ограниченной возможностью генерировать трансмембранный потенциал. Известно, что анионные протонофоры более токсичны для клеток *rho⁰*, в которых трансмембранный потенциал генерируется транслокатором адениновых нуклеотидов ANT, чем для клеток *rho⁺* дрожжей, в которых функционирует дыхательная цепь [83, 84]. В то же время с увеличением репликативного возраста в клетках дрожжей происходит накопление нарушений в митохондриях, а также увеличивается вероятность полной потери мтДНК и дыхательной активности, что обсуждалось выше. Следовательно, высокие концентрации протонофоров могут быть просто селективно токсичны для старых клеток, по сравнению с молодыми клетками, и поэтому сокращать РПЖ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Асимметричное распределение митохондрий в зависимости от их функционального состояния между материнской и дочерней клетками приводит к тому, что в материнской клетке накапливаются дефектные митохондрии. В результате изменения в структуре и функциях митохондрий происходят на ран-

них этапах репликативного старения дрожжей. С возрастом в материнской клетке возникает дефицит закодированных в ядре белков, локализованных во внутренней мембране митохондрий и митохондриального матрикса. Это приводит к мутациям или полной потере мтДНК. Одновременно происходит накопление токсичных предшественников митохондриальных белков в цитоплазме. Однако с возрастом дрожжевая клетка все более зависит от окислительного метаболизма, в то время как молодые клетки в большей степени полагаются на гликолиз. С возрастом происходит увеличение интенсивности пентозофосфатного пути, цикла трикарбоновых кислот, снижается концентрация АТФ в клетках и увеличивается скорость биосинтеза глицерина [85]. Таким образом, с одной стороны, с возрастом нарастают проблемы с функционированием митохондрий, а с другой стороны, логика последовательных изменений настроек метаболизма в клетке делает ее все более зависимой от этих функций. Можно предположить, что это противоречие и приводит к снижению скорости роста, а затем — к гибели клеток.

Вклад дисфункции митохондрий в снижение жизнеспособности старых клеток указывает на то, что клетки с исходно заблокированным окислительным фосфорилированием будут стареть быстрее. Однако эксперименты показывают, что РПЖ дрожжей зависит не столько от наличия мтДНК и возможности окислительного фосфорилирования, сколько от способа, которым клетки адаптируются к митохондриальной дисфункции. Таким образом, дрожжевая модель старения указывает на одну из наиболее уязвимых к накоплению ошибок и дерегуляции систем в клетке, нарушение которой приводит к снижению надежности всей системы. Этой системой является механизм координации работы митохондрий и ядра — механизм, возникший за миллиард лет эволюции, прошедших с момента симбиогенеза архей и предков митохондрий.

Вклад авторов. А.А. и Д.К. принимали участие в анализе литературы и написании текста; Д.К. подготовил иллюстрации.

Финансирование. Работа написана при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 22-14-00108).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Kirkwood, T. B., and Austad, S. N. (2000) Why do we age? *Nature*, **408**, 233–238, doi: 10.1038/35041682.
- Flatt, T., and Partridge, L. (2018) Horizons in the evolution of aging, *BMC Biol.*, **16**, 93, doi: 10.1186/s12915-018-0562-z.
- Wensink, M. J., and Cohen, A. A. (2021) The dاناид theory of aging, *Front. Cell Dev. Biol.*, **9**, 671208, doi: 10.3389/fcell.2021.671208.
- Mortimer, R. K., and Johnston, J. R. (1959) Life span of individual yeast cells, *Nature*, **183**, 1751–1752, doi: 10.1038/1831751a0.
- Barker, M. G., and Walmsley, R. M. (1999) Replicative ageing in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*, *Yeast*, **15**, 1511–1518, doi: 10.1002/(SICI)1097-0061(199910)15:14<1511::AID-YEA482>3.0.CO;2-Y.
- Ackermann, M., Stearns, S. C., and Jenal, U. (2003) Senescence in a bacterium with asymmetric division, *Science*, **300**, 1920, doi: 10.1126/science.1083532.
- Bouklas, T., and Fries, B. C. (2015) Aging as an emergent factor that contributes to phenotypic variation in *Cryptococcus neoformans*, *Fungal Genet. Biol.*, **78**, 59–64, doi: 10.1016/j.fgb.2014.10.004.
- Laun, P., Bruschi, C. V., Dickinson, J. R., Rinnerthaler, M., Heeren, G., Schwimbersky, R., Rid, R., and Breitenbach, M. (2007) Yeast mother cell-specific ageing, genetic (in)stability, and the somatic mutation theory of ageing, *Nucleic Acids Res.*, **35**, 7514–7526, doi: 10.1093/nar/gkm919.
- Barros, M. H., da Cunha, F. M., Oliveira, G. A., Tahara, E. B., and Kowaltowski, A. J. (2010) Yeast as a model to study mitochondrial mechanisms in ageing, *Mech. Ageing Dev.*, **131**, 494–502, doi: 10.1016/j.mad.2010.04.008.
- Jazwinski, S. M., Jiang, J. C., and Kim, S. (2018) Adaptation to metabolic dysfunction during aging: making the best of a bad situation, *Exp. Gerontol.*, **107**, 87–90, doi: 10.1016/j.exger.2017.07.013.
- Botstein, D., and Fink, G. R. (2011) Yeast: an experimental organism for 21st Century biology, *Genetics*, **189**, 695–704, doi: 10.1534/genetics.111.130765.
- Campos, S. E., and DeLuna, A. (2019) Functional genomics of dietary restriction and longevity in yeast, *Mech. Ageing Dev.*, **179**, 36–43, doi: 10.1016/j.mad.2019.02.003.
- Novarina, D., Janssens, G. E., Bokern, K., Schut, T., van Oerle, N. C., Kazemier, H. G., Veenhoff, L. M., and Chang, M. (2020) A genome-wide screen identifies genes that suppress the accumulation of spontaneous mutations in young and aged yeast cells, *Aging Cell*, **19**, e13084, doi: 10.1111/ace1.13084.
- Howitz, K. T., Bitterman, K. J., Cohen, H. Y., Lamming, D. W., Lavu, S., Wood, J. G., Zipkin, R. E., Chung, P., Kisielewski, A., Zhang, L.-L., Scherer, B., and Sinclair, D. A. (2003) Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan, *Nature*, **425**, 191–196, doi: 10.1038/nature01960.
- Okamoto, N., Sato, Y., Kawagoe, Y., Shimizu, T., and Kawamura, K. (2022) Short-term resveratrol treatment restored the quality of oocytes in aging mice, *Aging*, **14**, 5628–5640, doi: 10.18632/aging.204157.
- McCormick, M. A., Delaney, J. R., Tsuchiya, M., Tsuchiyama, S., Shemorry, A., Sim, S., Chou, A. C.-Z., Ahmed, U., Carr, D., Murakami, C. J., Schleit, J., Sutphin, G. L., Wasko, B. M., Bennett, C. F., Wang, A. M., Olsen, B., Beyer, R. P., Bammler, T. K., Prunkard, D., Johnson, S. C., Pennypacker, J. K., An, E., Anies, A., Castanza, A. S., Choi, E., Dang, N., Enerio, S., Fletcher, M., Fox, L., Goswami, S., Higgins, S. A., Holmberg, M. A., Hu, D., Hui, J., Jelic, M., Jeong, K.-S., Johnston, E., Kerr, E. O., Kim, J., Kim, D., Kirkland, K., Klum, S., Kotireddy, S., Liao, E., Lim, M., Lin, M. S., Lo, W. C., Lockshon, D., Miller, H. A., Moller, R. M., Muller, B., Oakes, J., Pak, D. N., Peng, Z. J., Pham, K. M., Pollard, T. G., Pradeep, P., Pruett, D., Rai, D., Robison, B., Rodriguez, A. A., Ros, B., Sage, M., Singh, M. K., Smith, E. D., Snead, K., Solanky, A., Spector, B. L., Steffen, K. K., Tchao, B. N., Ting, M. K., Vander Wende, H., Wang, D., Welton, K. L., Westman, E. A., Brem, R. B., Liu, X. G., Suh, Y., Zhou, Z., Kaerberlein, M., and Kennedy, B. K. (2015) A comprehensive analysis of replicative lifespan in 4,698 single-gene deletion strains uncovers conserved mechanisms of aging, *Cell. Metab.*, **22**, 895–906, doi: 10.1016/j.cmet.2015.09.008.
- Smith, E. D., Tsuchiya, M., Fox, L. A., Dang, N., Hu, D., Kerr, E. O., Johnston, E. D., Tchao, B. N., Pak, D. N., Welton, K. L., Promislow, D. E. L., Thomas, J. H., Kaerberlein, M., and Kennedy, B. K. (2008) Quantitative evidence for conserved longevity pathways between divergent eukaryotic species, *Genome Res.*, **18**, 564–570, doi: 10.1101/gr.074724.107.
- He, C., Zhou, C., and Kennedy, B. K. (2018) The yeast replicative aging model, *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.*, **1864**, 2690–2696, doi: 10.1016/j.bbadis.2018.02.023.
- Ashrafi, K., Sinclair, D., Gordon, J. I., and Guarente, L. (1999) Passage through stationary phase advances replicative aging in *Saccharomyces cerevisiae*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 9100–9105, doi: 10.1073/pnas.96.16.9100.
- Knorre, D. A., Azbarova, A. V., Galkina, K. V., Feniouk, B. A., and Severin, F. F. (2018) Replicative aging as a source of cell heterogeneity in budding yeast, *Mech. Ageing Dev.*, **176**, 24–31, doi: 10.1016/j.mad.2018.09.001.
- Janssens, G. E., Meinema, A. C., González, J., Wolters, J. C., Schmidt, A., Guryev, V., Bischoff, R., Wit, E. C., Veenhoff, L. M., and Heinemann, M.

- (2015) Protein biogenesis machinery is a driver of replicative aging in yeast, *Elife*, **4**, e08527, doi: 10.7554/eLife.08527.
22. Orner, E. P., Zhang, P., Jo, M. C., Bhattacharya, S., Qin, L., and Fries, B. C. (2019) High-throughput yeast aging analysis for *Cryptococcus* (HYAAC) microfluidic device streamlines aging studies in *Cryptococcus neoformans*, *Commun. Biol.*, **2**, 256, doi: 10.1038/s42003-019-0504-5.
 23. Yu, R., Jo, M. C., and Dang, W. (2020) Measuring the replicative lifespan of *Saccharomyces cerevisiae* using the HYAA microfluidic platform, *Methods Mol. Biol.*, **2144**, 1-6, doi: 10.1007/978-1-0716-0592-9_1.
 24. Jin, M., Li, Y., O'Laughlin, R., Bittihn, P., Pillus, L., Tsimring, L. S., Hasty, J., and Hao, N. (2019) Divergent aging of isogenic yeast cells revealed through single-cell phenotypic dynamics, *Cell Syst.*, **8**, 242-253. e3, doi: 10.1016/j.cels.2019.02.002.
 25. Li, Y., Jiang, Y., Paxman, J., O'Laughlin, R., Klepin, S., Zhu, Y., Pillus, L., Tsimring, L. S., Hasty, J., and Hao, N. (2020) A programmable fate decision landscape underlies single-cell aging in yeast, *Science*, **369**, 325-329, doi: 10.1126/science.aax9552.
 26. Atamna, H., Killilea, D. W., Killilea, A. N., and Ames, B. N. (2002) Heme deficiency may be a factor in the mitochondrial and neuronal decay of aging, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 14807-14812, doi: 10.1073/pnas.192585799.
 27. Xie, Z., Zhang, Y., Zou, K., Brandman, O., Luo, C., Ouyang, Q., and Li, H. (2012) Molecular phenotyping of aging in single yeast cells using a novel microfluidic device, *Aging Cell*, **11**, 599-606, doi: 10.1111/j.1474-9726.2012.00821.x.
 28. Krämer, L., Dalheimer, N., Räsche, M., Storchová, Z., Pielage, J., Boos, F., and Herrmann, J. M. (2023) MitoStores: chaperone-controlled protein granules store mitochondrial precursors in the cytosol, *EMBO J.*, **42**, e112309, doi: 10.15252/embj.2022112309.
 29. Seppä, L., Hänninen, A.-L., and Makarow, M. (2004) Upregulation of the Hsp104 chaperone at physiological temperature during recovery from thermal insult, *Mol. Microbiol.*, **52**, 217-225, doi: 10.1111/j.1365-2958.2003.03959.x.
 30. Zhou, Z., Liu, Y., Feng, Y., Klepin, S., Tsimring, L. S., Pillus, L., Hasty, J., and Hao, N. (2023) Engineering longevity-design of a synthetic gene oscillator to slow cellular aging, *Science*, **380**, 376-381, doi: 10.1126/science.add7631.
 31. Yang, J., McCormick, M. A., Zheng, J., Xie, Z., Tsuchiya, M., Tsuchiyama, S., El-Samad, H., Ouyang, Q., Kaerberlein, M., Kennedy, B. K., and Li, H. (2015) Systematic analysis of asymmetric partitioning of yeast proteome between mother and daughter cells reveals "aging factors" and mechanism of lifespan asymmetry, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, 11977-11982, doi: 10.1073/pnas.1506054112.
 32. Zhou, C., Slaughter, B. D., Unruh, J. R., Guo, F., Yu, Z., Mickey, K., Narkar, A., Ross, R. T., McClain, M., and Li, R. (2014) Organelle-based aggregation and retention of damaged proteins in asymmetrically dividing cells, *Cell*, **159**, 530-542, doi: 10.1016/j.cell.2014.09.026.
 33. Hill, S. M., Hanzén, S., and Nyström, T. (2017) Restricted access: spatial sequestration of damaged proteins during stress and aging, *EMBO Rep.*, **18**, 377-391, doi: 10.15252/embr.201643458.
 34. Kumar, S., de Boer, R., and van der Klei, I. J. (2018) Yeast cells contain a heterogeneous population of peroxisomes that segregate asymmetrically during cell division, *J. Cell Sci.*, **131**, jcs207522, doi: 10.1242/jcs.207522.
 35. Förtsch, J., Hummel, E., Krist, M., and Westermann, B. (2011) The myosin-related motor protein Myo2 is an essential mediator of bud-directed mitochondrial movement in yeast, *J. Cell Biol.*, **194**, 473-488, doi: 10.1083/jcb.201012088.
 36. Itoh, T., Toh-E, A., and Matsui, Y. (2004) Mmr1p is a mitochondrial factor for Myo2p-dependent inheritance of mitochondria in the budding yeast, *EMBO J.*, **23**, 2520-2530, doi: 10.1038/sj.emboj.7600271.
 37. Klecker, T., Scholz, D., Förtsch, J., and Westermann, B. (2013) The yeast cell cortical protein Num1 integrates mitochondrial dynamics into cellular architecture, *J. Cell Sci.*, **126**, 2924-2930, doi: 10.1242/jcs.126045.
 38. Pernice, W. M., Vevea, J. D., and Pon, L. A. (2016) A role for Mfb1p in region-specific anchorage of high-functioning mitochondria and lifespan in *Saccharomyces cerevisiae*, *Nat. Commun.*, **7**, 10595, doi: 10.1038/ncomms10595.
 39. Pernice, W. M., Swayne, T. C., Boldogh, I. R., and Pon, L. A. (2017) Mitochondrial tethers and their impact on lifespan in budding yeast, *Front. Cell. Dev. Biol.*, **5**, 120, doi: 10.3389/fcell.2017.00120.
 40. McFaline-Figueroa, J. R., Vevea, J., Swayne, T. C., Zhou, C., Liu, C., Leung, G., Boldogh, I. R., and Pon, L. A. (2011) Mitochondrial quality control during inheritance is associated with lifespan and mother-daughter age asymmetry in budding yeast, *Aging Cell*, **10**, 885-895, doi: 10.1111/j.1474-9726.2011.00731.x.
 41. Manzano-López, J., Matellán, L., Álvarez-Llamas, A., Blanco-Mira, J. C., and Monje-Casas, F. (2019) Asymmetric inheritance of spindle microtubule-organizing centres preserves replicative lifespan, *Nat. Cell. Biol.*, **21**, 952-965, doi: 10.1038/s41556-019-0364-8.
 42. Hughes, A. L., and Gottschling, D. E. (2012) An early age increase in vacuolar pH limits mitochondrial function and lifespan in yeast, *Nature*, **492**, 261-265, doi: 10.1038/nature11654.
 43. Azbarova, A. V., Galkina, K. V., Sorokin, M. I., Severin, F. F., and Knorre, D. A. (2017) The contribution of *Saccharomyces cerevisiae* replicative age to

- the variations in the levels of Trx2p, Pdr5p, Can1p and Idh isoforms, *Sci. Rep.*, **7**, 13220, doi: 10.1038/s41598-017-13576-w.
44. Galkina, K. V., Zyrina, A. N., Golyshev, S. A., Kashko, N. D., Markova, O. V., Sokolov, S. S., Severin, F. F., and Knorre, D. A. (2020) Mitochondrial dynamics in yeast with repressed adenine nucleotide translocator AAC2, *Eur. J. Cell Biol.*, **99**, 151071, doi: 10.1016/j.ejcb.2020.151071.
 45. Nguyen, T. T. M., Iwaki, A., Ohya, Y., and Izawa, S. (2014) Vanillin causes the activation of Yap1 and mitochondrial fragmentation in *Saccharomyces cerevisiae*, *J. Biosci. Bioeng.*, **117**, 33-38, doi: 10.1016/j.jbiosc.2013.06.008.
 46. Rogov, A. G., Ovchenkova, A. P., Goleva, T. N., Kireev, I. I., and Zvyagilskaya, R. A. (2017) New yeast models for studying mitochondrial morphology as affected by oxidative stress and other factors, *Anal. Biochem.*, **552**, 24-29, doi: 10.1016/j.ab.2017.04.003.
 47. Scheckhuber, C. Q., Erjavec, N., Tinazli, A., Hamann, A., Nyström, T., and Osiewicz, H. D. (2007) Reducing mitochondrial fission results in increased life span and fitness of two fungal ageing models, *Nat. Cell Biol.*, **9**, 99-105, doi: 10.1038/ncb1524.
 48. Poveda-Huertes, D., Taskin, A. A., Dhaouadi, I., Myketin, L., Marada, A., Habernig, L., Büttner, S., and Vögtle, F.-N. (2021) Increased mitochondrial protein import and cardiolipin remodelling upon early mtUPR, *PLoS Genet.*, **17**, e1009664, doi: 10.1371/journal.pgen.1009664.
 49. Liu, Q., Chang, C. E., Wooldredge, A. C., Fong, B., Kennedy, B. K., and Zhou, C. (2022) Tom70-based transcriptional regulation of mitochondrial biogenesis and aging, *Elife*, **11**, e75658, doi: 10.7554/eLife.75658.
 50. Veatch, J. R., McMurray, M. A., Nelson, Z. W., and Gottschling, D. E. (2009) Mitochondrial dysfunction leads to nuclear genome instability via an iron-sulfur cluster defect, *Cell*, **137**, 1247-1258, doi: 10.1016/j.cell.2009.04.014.
 51. Giaever, G., Chu, A. M., Ni, L., Connelly, C., Riles, L., Véronneau, S., Dow, S., Lucau-Danila, A., Anderson, K., André, B., Arkin, A. P., Astromoff, A., El-Bakkoury, M., Bangham, R., Benito, R., Brachat, S., Campanaro, S., Curtiss, M., Davis, K., Deutschbauer, A., Entian, K.-D., Flaherty, P., Foury, F., Garfinkel, D. J., Gerstein, M., Gotte, D., Güldener, U., Hegemann, J. H., Hempel, S., Herman, Z., Jaramillo, D. F., Kelly, D. E., Kelly, S. L., Kötter, P., LaBonte, D., Lamb, D. C., Lan, N., Liang, H., Liao, H., Liu, L., Luo, C., Lussier, M., Mao, R., Menard, P., Ooi, S. L., Revuelta, J. L., Roberts, C. J., Rose, M., Ross-Macdonald, P., Scherens, B., Schimmack, G., Shafer, B., Shoemaker, D. D., Sookhai-Mahadeo, S., Storms, R. K., Strathern, J. N., Valle, G., Voet, M., Volckaert, G., Wang, C.-Y., Ward, T. R., Wilhelmy, J., Winzeler, E. A., Yang, Y., Yen, G., Youngman, E., Yu, K., Bussey, H., Boeke, J. D., Snyder, M., Philippsen, P., Davis, R. W., and Johnston, M. (2002) Functional profiling of the *Saccharomyces cerevisiae* genome, *Nature*, **418**, 387-391, doi: 10.1038/nature00935.
 52. Janouškovec, J., Tikhonenkov, D. V., Burki, F., Howe, A. T., Rohwer, F. L., Mylnikov, A. P., and Keeling, P. J. (2017) A new lineage of eukaryotes illuminates early mitochondrial genome reduction, *Curr. Biol.*, **27**, 3717-3724.e5, doi: 10.1016/j.cub.2017.10.051.
 53. Kirchman, P. A., Kim, S., Lai, C. Y., and Jazwinski, S. M. (1999) Interorganelle signaling is a determinant of longevity in *Saccharomyces cerevisiae*, *Genetics*, **152**, 179-190, doi: 10.1093/genetics/152.1.179.
 54. Borghouts, C., Benguria, A., Wawryn, J., and Jazwinski, S. M. (2004) Rtg2 protein links metabolism and genome stability in yeast longevity, *Genetics*, **166**, 765-777, doi: 10.1093/genetics/166.2.765.
 55. Woo, D. K., and Poyton, R. O. (2009) The absence of a mitochondrial genome in rho0 yeast cells extends lifespan independently of retrograde regulation, *Exp. Gerontol.*, **44**, 390-397, doi: 10.1016/j.exger.2009.03.001.
 56. Miceli, M. V., Jiang, J. C., Tiwari, A., Rodriguez-Quinones, J. F., and Jazwinski, S. M. (2011) Loss of mitochondrial membrane potential triggers the retrograde response extending yeast replicative lifespan, *Front. Genet.*, **2**, 102, doi: 10.3389/fgene.2011.00102.
 57. Jiang, J. C., Stumpferl, S. W., Tiwari, A., Qin, Q., Rodriguez-Quinones, J. F., and Jazwinski, S. M. (2016) Identification of the target of the retrograde response that mediates replicative lifespan extension in *Saccharomyces cerevisiae*, *Genetics*, **204**, 659-673, doi: 10.1534/genetics.116.188086.
 58. Heeren, G., Jarolim, S., Laun, P., Rinnerthaler, M., Stolze, K., Perrone, G. G., Kohlwein, S. D., Nohl, H., Dawes, I. W., and Breitenbach, M. (2004) The role of respiration, reactive oxygen species and oxidative stress in mother cell-specific ageing of yeast strains defective in the RAS signalling pathway, *FEMS Yeast Res.*, **5**, 157-167, doi: 10.1016/j.femsyr.2004.05.008.
 59. Kaerberlein, M., Hu, D., Kerr, E. O., Tsuchiya, M., Westman, E. A., Dang, N., Fields, S., and Kennedy, B. K. (2005) Increased life span due to calorie restriction in respiratory-deficient yeast, *PLoS Genet.*, **1**, e69, doi: 10.1371/journal.pgen.0010069.
 60. Kaerberlein, M., Kirkland, K. T., Fields, S., and Kennedy, B. K. (2005) Genes determining yeast replicative life span in a long-lived genetic background, *Mech. Ageing Dev.*, **126**, 491-504, doi: 10.1016/j.mad.2004.10.007.
 61. Traven, A., Wong, J. M., Xu, D., Sopta, M., and Ingles, C. J. (2001) Interorganellar communication. Altered nuclear gene expression profiles in a yeast mitochondrial DNA mutant, *J. Biol. Chem.*, **276**, 4020-4027, doi: 10.1074/jbc.M006807200.

62. Epstein, C. B., Waddle, J. A., Hale, W., Davé, V., Thornton, J., Macatee, T. L., Garner, H. R., and Butow, R. A. (2001) Genome-wide responses to mitochondrial dysfunction, *Mol. Biol. Cell*, **12**, 297-308, doi: 10.1091/mbc.12.2.297.
63. Liu, S., Liu, S., He, B., Li, L., Li, L., Wang, J., Cai, T., Chen, S., and Jiang, H. (2021) OXPHOS deficiency activates global adaptation pathways to maintain mitochondrial membrane potential, *EMBO Rep.*, **22**, e51606, doi: 10.15252/embr.202051606.
64. Liu, Z., and Butow, R. A. (1999) A transcriptional switch in the expression of yeast tricarboxylic acid cycle genes in response to a reduction or loss of respiratory function, *Mol. Cell. Biol.*, **19**, 6720-6728, doi: 10.1128/MCB.19.10.6720.
65. Starovoytova, A. N., Sorokin, M. I., Sokolov, S. S., Severin, F. F., and Knorre, D. A. (2013) Mitochondrial signaling in *Saccharomyces cerevisiae* pseudohyphae formation induced by butanol, *FEMS Yeast Res.*, **13**, 367-374, doi: 10.1111/1567-1364.12039.
66. Kwan, E. X., Wang, X. S., Amemiya, H. M., Brewer, B. J., and Raghuraman, M. K. (2016) rDNA copy number variants are frequent passenger mutations in *Saccharomyces cerevisiae* deletion collections and *de novo* transformants, *G3*, **6**, 2829-2838, doi: 10.1534/g3.116.030296.
67. Hotz, M., Thayer, N. H., Hendrickson, D. G., Schinski, E. L., Xu, J., and Gottschling, D. E. (2022) rDNA array length is a major determinant of replicative lifespan in budding yeast, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **119**, e2119593119, doi: 10.1073/pnas.2119593119.
68. Garcia, E. J., de Jonge, J. J., Liao, P.-C., Stivison, E., Sing, C. N., Higuchi-Sanabria, R., Boldogh, I. R., and Pon, L. A. (2019) Reciprocal interactions between mtDNA and lifespan control in budding yeast, *Mol. Biol. Cell*, **30**, 2943-2952, doi: 10.1091/mbc.E18-06-0356.
69. Morgenstern, M., Stiller, S. B., Lübbert, P., Peikert, C. D., Dannenmaier, S., Drepper, F., Weill, U., Höß, P., Feuerstein, R., Gebert, M., Bohnert, M., van der Laan, M., Schuldiner, M., Schütze, C., Oeljeklaus, S., Pfanner, N., Wiedemann, N., and Warscheid, B. (2017) Definition of a high-confidence mitochondrial Proteome at quantitative scale, *Cell Rep.*, **19**, 2836-2852, doi: 10.1016/j.celrep.2017.06.014.
70. Puddu, F., Herzog, M., Selivanova, A., Wang, S., Zhu, J., Klein-Lavi, S., Gordon, M., Meirman, R., Millan-Zambrano, G., Ayestaran, I., Salguero, I., Sharan, R., Li, R., Kupiec, M., and Jackson, S. P. (2019) Genome architecture and stability in the *Saccharomyces cerevisiae* knockout collection, *Nature*, **573**, 416-420, doi: 10.1038/s41586-019-1549-9.
71. Heeren, G., Rinnerthaler, M., Laun, P., von Seyerl, P., Kössler, S., Klinger, H., Hager, M., Bogengruber, E., Jarolim, S., Simon-Nobbe, B., Schüller, C., Carmona-Gutierrez, D., Breitenbach-Koller, L., Mück, C., Jansen-Dürr, P., Criollo, A., Kroemer, G., Madeo, F., and Breitenbach, M. (2009) The mitochondrial ribosomal protein of the large subunit, Afo1p, determines cellular longevity through mitochondrial back-signaling via TOR1, *Aging*, **1**, 622-636, doi: 10.18632/aging.100065.
72. Caballero, A., Ugidos, A., Liu, B., Öling, D., Kvint, K., Hao, X., Mignat, C., Nachin, L., Molin, M., and Nyström, T. (2011) Absence of mitochondrial translation control proteins extends life span by activating sirtuin-dependent silencing, *Mol. Cell*, **42**, 390-400, doi: 10.1016/j.molcel.2011.03.021.
73. Foury, F., Roganti, T., Lecrenier, N., and Purnelle, B. (1998) The complete sequence of the mitochondrial genome of *Saccharomyces cerevisiae*, *FEBS Lett.*, **440**, 325-331, doi: 10.1016/S0014-5793(98)01467-7.
74. Bykov, Y. S., Flohr, T., Boos, F., Zung, N., Herrmann, J. M., and Schuldiner, M. (2022) Widespread use of unconventional targeting signals in mitochondrial ribosome proteins, *EMBO J.*, **41**, e109519, doi: 10.15252/embj.2021109519.
75. Piper, P. W., Jones, G. W., Bringloe, D., Harris, N., MacLean, M., and Mollapour, M. (2002) The shortened replicative life span of prohibitin mutants of yeast appears to be due to defective mitochondrial segregation in old mother cells, *Aging Cell*, **1**, 149-157, doi: 10.1046/j.1474-9728.2002.00018.x.
76. Yi, D.-G., Hong, S., and Huh, W.-K. (2018) Mitochondrial dysfunction reduces yeast replicative lifespan by elevating RAS-dependent ROS production by the ER-localized NADPH oxidase Yno1, *PLoS One*, **13**, e0198619, doi: 10.1371/journal.pone.0198619.
77. Stenger, M., Le, D. T., Klecker, T., and Westermann, B. (2020) Systematic analysis of nuclear gene function in respiratory growth and expression of the mitochondrial genome in *S. cerevisiae*, *Microb. Cell*, **7**, 234-249, doi: 10.15698/mic2020.09.729.
78. Erjavec, N., Bayot, A., Gareil, M., Camougrand, N., Nystrom, T., Friguet, B., and Bulteau, A.-L. (2013) Deletion of the mitochondrial Pim1/Lon protease in yeast results in accelerated aging and impairment of the proteasome, *Free Radic. Biol. Med.*, **56**, 9-16, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.11.019.
79. Barros, M. H., Bandy, B., Tahara, E. B., and Kowaltowski, A. J. (2004) Higher respiratory activity decreases mitochondrial reactive oxygen release and increases life span in *Saccharomyces cerevisiae*, *J. Biol. Chem.*, **279**, 49883-49888, doi: 10.1074/jbc.M408918200.
80. Galkina, K. V., Finkelberg, J. M., Markova, O. V., Azbarova, A. V., Banerjee, A., Kumari, S., Sokolov, S. S., Severin, F. F., Prasad, R., and Knorre, D. A. (2020) Protonophore FCCP provides fitness advantage to PDR-deficient yeast cells, *J. Bioenerg. Biomembr.*, **52**, 383-395, doi: 10.1007/s10863-020-09849-1.
81. Jiang, J. C., Jaruga, E., Repnevskaya, M. V., and Jazwinski, S. M. (2000) An intervention resembling caloric restriction prolongs life span and retards aging

- in yeast, *FASEB J.*, **14**, 2135-2137, doi: 10.1096/fj.00-0242fje.
82. Stöckl, P., Zankl, C., Hütter, E., Unterluggauer, H., Laun, P., Heeren, G., Bogengruber, E., Herndler-Brandstetter, D., Breitenbach, M., and Jansen-Dürr, P. (2007) Partial uncoupling of oxidative phosphorylation induces premature senescence in human fibroblasts and yeast mother cells, *Free Radic. Biol. Med.*, **43**, 947-958, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.06.005.
 83. Dupont, C.-H., Mazat, J. P., and Guerin, B. (1985) The role of adenine nucleotide translocation in the energization of the inner membrane of mitochondria isolated from q^+ and q^o strains of *Saccharomyces cerevisiae*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **132**, 1116-1123, doi: 10.1016/0006-291X(85)91922-9.
 84. Antonenko, Y. N., Avetisyan, A. V., Cherepanov, D. A., Knorre, D. A., Korshunova, G. A., Markova, O. V., Ojovan, S. M., Perevoshchikova, I. V., Pustovidko, A. V., Rokitskaya, T. I., Severina, I. I., Simonyan, R. A., Smirnova, E. A., Sobko, A. A., Sumbatyan, N. V., Severin, F. F., and Skulachev, V. P. (2011) Derivatives of rhodamine 19 as mild mitochondria-targeted cationic uncouplers, *J. Biol. Chem.*, **286**, 17831-17840, doi: 10.1074/jbc.M110.212837.
 85. Leupold, S., Hubmann, G., Litsios, A., Meinema, A. C., Takhaviev, V., Papagiannakis, A., Niebel, B., Janssens, G., Siegel, D., and Heinemann, M. (2019) *Saccharomyces cerevisiae* goes through distinct metabolic phases during its replicative lifespan, *Elife*, **8**, e41046, doi: 10.7554/eLife.41046.

ROLE OF MITOCHONDRIAL DNA IN YEAST REPLICATIVE AGING

Review

A. V. Azbarova^{1,2} and D. A. Knorre^{1*}

¹ Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russia; e-mail: knorre@belozersky.msu.ru

² Faculty of Bioengineering and Bioinformatics, Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russia

Despite the variety of manifestations of aging, there are some common features and underlying mechanisms. In particular, mitochondria appears to be one of the most vulnerable systems in both metazoa and fungi. In this review, we discuss how mitochondrial dysfunction is related to replicative aging in the simplest eukaryotic model, the baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae*. We discuss a chain of events that starts from asymmetric inheritance of mitochondria by mother and daughter cells. With age, yeast mother cells start to experience a decrease in mitochondrial transmembrane potential and, consequently, a decrease in mitochondrial protein import efficiency. This induces mitochondrial protein precursors accumulation in the cytoplasm, the loss of mitochondrial DNA, and at the later stages – cell death. Interestingly, yeast strains without mitochondrial DNA can have both increased and increased lifespan compared to their counterparts with mtDNA. The direction of the effect depends on their ability to activate compensatory mechanisms preventing or mitigating negative consequences of mitochondrial dysfunction. The central role of mitochondria in yeast aging and death indicates that it is one of the most complex and, therefore, deregulation-prone systems in eukaryotic cells.

Keywords: yeast, development, aging, mitochondrial DNA, mitochondrial dysfunction