

文章编号: 1004-0374(2009)02-0303-04

酿酒酵母衰老机制研究进展

张爱利

(天津大学化工学院, 天津 300072)

摘要: 酿酒酵母衰老机制的研究对解析高等真核生物衰老的分子机制具有重要意义。酿酒酵母有两种衰老形式: 时序衰老(chronological aging)和复制衰老(replicative aging)。酿酒酵母衰老研究中通常使用的寿命定义有两种: 世代寿命和时序寿命。前者是指单个酿酒酵母细胞在死亡之前的分裂次数; 后者是指一定数量的酵母细胞在后二次生长和稳定期的存活时间。本文分别综述了这两种衰老形式的分子机制及两者的相同点和不同点。

关键词: 酿酒酵母; 衰老; 时序寿命; 世代寿命

中图分类号: Q255 **文献标识码:** A

Advances on mechanisms of aging in *Saccharomyces cerevisiae*

ZHANG Ai-li

(School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract: Studies on mechanisms of aging in *Saccharomyces cerevisiae* have important reference meaning to uncover molecular mechanisms of aging in higher eukaryotes. Two forms of aging have been described in yeast, i. e. replicative aging and chronological aging. There are also two forms of life span in yeast, i. e. replicative life span and chronological life span. Yeast replicative life span is defined as the number of divisions an individual cell undergoes before dying. Yeast chronological life span is the length of time a population remains viable in the post-diauxic and stationary phases. Here, we review molecular mechanisms of two different aging models of yeast. And their similarities and differences of the two aging models were also discussed.

Key words: *Saccharomyces cerevisiae*; aging; replicative life span; chronological life span

细胞衰老机制的研究是生命科学领域的前沿课题。由于细胞衰老过程受到各种外界因素的影响, 并涉及很多其他的过程, 比如新陈代谢、压力响应、能量限制等, 所以衰老机制的研究非常复杂。酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)作为衰老的研究模型具有很多优点: 作为单细胞真核生物, 酿酒酵母生活周期较短, 遗传背景简单, 基因组已完全测序, 有丰富的实验手段进行遗传操作, 可方便地通过调节各种外部因素来控制酿酒酵母细胞的衰老进程; 与衰老相关的新陈代谢及信号转导通路在酵母和人类之间具有高度的保守性; 此外, 很多人类基因都可以在酵母基因组中找到相应的同源物, 其中还包括一些致病基因, 这些基因编码的蛋白能够替代酿酒酵母相应的蛋白, 这更突出了酿酒酵母作为

研究多细胞生物衰老机制模式生物的优越性。几十年来, 酿酒酵母衰老机制的研究取得了较大的进展。现就酿酒酵母的衰老机制进行简要综述。

随着衰老, 酿酒酵母细胞会发生一些形态和生化性质的改变, 如细胞体积变大、细胞形状改变、细胞表面褶皱增加、细胞表面芽痕数增加、细胞壁角质素增多、细胞液泡变大、细胞周期延长、单倍体细胞杂交能力减弱、出现核仁碎片。酿酒酵母细胞和哺乳动物细胞一样有两种衰老形式, 即复制衰老(replicative aging)和时序衰老(chronological aging)。与此相对应, 酿酒酵母衰老研究中通常使

收稿日期: 2008-11-19; 修回日期: 2008-12-22

通讯作者 zhangaili@tju.edu.cn

用的寿命定义有两种,即世代寿命和时序寿命。前者是指单个酿酒酵母细胞在死亡之前的分裂次数;后者是指在特定营养条件下一定数量的酵母细胞的存活时间。

1 酿酒酵母复制衰老机制的研究

世代寿命的测定方法是用显微操作仪将酿酒酵母细胞所出的芽移走,计算母细胞在死亡之前的出芽次数。

目前,研究者们认为核仁内,特别是控制rDNA转录和核糖体组装区域的变化是酵母复制衰老的真正原因,并提出了相应的分子机制:rDNA的不稳定性。酵母rDNA位点中相邻的两个重复片段之间的同源重组会产生ERCs。ERCs在S期复制,但在随后的M期内不能有效地分配到子细胞中,最终母细胞中ERCs的数量随着细胞分裂而急剧增加。研究表明:除那些老龄细胞所产生的子细胞以外,大部分刚从母细胞分裂的子细胞中都不含ERCs。这说明了酵母细胞衰老继承性的不对称性,同时也进一步解释了为什么老化的酵母细胞产生的子细胞会具有衰老的表型。酵母细胞中ERCs的复制受到组蛋白脱乙酰酶Sir2、Sir3、Sir4的调控。其中,依赖于NAD的Sir2能够抑制rDNA的重组和ERCs的积累^[1],Sir2的增加会延长酵母细胞的世代寿命,而*SIR2*的缺失则会导致细胞世代寿命缩短^[1]。在线虫中过量表达Sir2的同源类似物也会延长其寿命^[2]。

研究表明降低Tor1/2、PKA和Sch9的活性可延长酵母细胞的世代寿命^[3-5]。酵母世代寿命还受*LAG1*和*LAG2*基因的调控,它们的单个缺失分别能使酵母细胞世代寿命缩短40%和50%,但过量表达则会增加酵母细胞的世代寿命^[6],不过*LAG1*和*LAG2*对世代寿命的具体调控机制目前还不清楚。Guillas等^[7]研究表明*LAG1*介导神经酰胺的合成,而这一功能可能与衰老的调节密切相关。

能量限制(calorie restriction, CR)是指一种营养俱全,但是含能较低的营养条件。研究表明,CR能够减缓许多物种的衰老,比如酵母、线虫、果蝇和小鼠。CR能够增强它们的氧化抗性和修复DNA损伤的能力,同时促进它们体内葡萄糖的动态平衡并提高对胰岛素的敏感性等^[8-10]。尽管人们对CR如何实现对寿命以及抗性生理活动的调控很感兴趣,但其机制知之甚少。CR对这些生理活动的调控与营养感知信号通路和生长因子参与的信号通

路相关,如胰岛素、IGF-1、TOR、Akt、Ras-cAMP等信号通路。目前的研究主要集中于*SIR*基因在这一过程中的作用。能量限制对酵母的世代寿命的延长依赖于Sir2和呼吸速率的增加。但是,CR并不能够延长那些缺乏细胞色素的酵母细胞的寿命,电子传递链的删除对不同遗传背景酵母细胞世代寿命的影响也不相同。

2 酿酒酵母时序衰老机制的研究

除了世代寿命外,另一种测定酿酒酵母寿命的方法是观察未分裂酵母细胞的存活能力。以单个酵母细胞在YPD平板上3d之内形成单菌落(colony forming units, CFU)的能力作为衡量标准,CFUs的统计一直持续到99.9%的酵母细胞都凋亡才停止,一般是在SDC(synthetic dextrose complete)或者水中进行测定的。第三天的CFU数被认为是起始存活数,视为100%,因为通常酵母细胞的浓度在第三天之后便不再增长,表明此时绝大多数的酵母细胞都不再分裂。

超氧化物及其他毒性氧化物在细胞衰老过程中起着重要作用。具有未配对电子的氧化物可能导致细胞衰老。相关研究也表明,长寿的模式生物都具有高氧化抗性,并且过量表达抗氧化酶同样能够延长模式生物的寿命。同哺乳动物的细胞类似,酵母细胞中也存在细胞质超氧化物歧化酶Sod1、过氧化氢酶Ctt1,以及线粒体过氧化氢酶Sod2。同时过量表达Sod1和Sod2使菌株的时序寿命延长了近30%,而单独过量表达Sod1或Sod2对时序寿命只有小幅的延长。

Wei等^[11]利用热激抗性和氧化抗性筛选到了两株长寿的突变株*sch9Δ*和*cyr1Δ*。它们的时序寿命分别是野生型菌株的2-3倍,且具有较高的热激抗性和氧化抗性。同样,编码Cyr1的上调物Ras2的*RAS2*基因缺失后,突变株的时序寿命较野生型延长近1倍,同时热激抗性和氧化抗性都大大增加。另外,*ras2Δ*和*cyr1Δ*突变菌株时序寿命的延长依赖于涉及STRE(压力响应元件)模块CCCCT以及两个转录激活蛋白Msn2和Msn4,而*sch9Δ*突变菌株则依赖于蛋白激酶Rim15以及其下调物Gis1。

Kaeberlein等^[12]报道缺失基因*TOR1*可以延长酵母的世代寿命。Bonawitz等^[5]报道,降低TOR信号通路的活性也可以加强呼吸作用和激活线粒体基因的表达,进而延长酵母的时序寿命。

能量限制条件下,酵母细胞的时序寿命延长,

且抗性增加。另外,一些基因的缺失也可得到与能量限制相同的效果,比如 *HXX2*、*GPA2*、*GPR1*、*CDC35* 和 *RAS* 等。

3 酿酒酵母时序衰老和复制衰老的比较

酿酒酵母时序衰老和复制衰老有许多相同点,如活性氧(reactive oxygen species, ROS)的聚集、氧化压力的增加、产生细胞凋亡和细胞坏死的特征物质,这些都是两个衰老模型的共同特征。葡萄糖在寿命调节中起着关键作用。培养基中葡萄糖含量的降低(即热量限制)可延长世代寿命和时序寿命。因此,参与营养感知的激酶 *Tor1/2*、PKA 和 Sch9 可加速衰老过程。此外,Adh1 活性的增高也可以延缓时序衰老和复制衰老^[13]。

酿酒酵母时序衰老和复制衰老也有许多不同点。首先两个衰老模型所用的培养基不同,研究世代寿命所用的细胞在含有0.5%葡萄糖和其他所需营养的培养基中培养,而研究时序寿命所用的细胞先在含有葡萄糖或甘油的YP培养基中培养至对数生长期后将细胞转移至水中培养。其次,两个模型中细胞的表型不一样。复制衰老的细胞中表面布满了芽痕,时序衰老的细胞多数是没有出芽的细胞。时序衰老后期的细胞呈圆形,而复制衰老的细胞较大且褶皱较多。此外,两种衰老模型中细胞的细胞骨架、细胞壁结构和代谢都不相同。

除表型不同之外,两者的分子机制也不完全相同。增加 *Sir2* 的活性可延长世代寿命^[1],但在营养条件较差时降低 *Sir2* 的活性可延长时序寿命^[14]。在热量限制条件下;两个衰老模型的衰老机制不同。世代寿命的延长由 *Sir2* 介导,但时序寿命的延长不需要组蛋白脱乙酰酶(Sirtuins),且热量限制条件下,将细胞生长在非发酵碳源并不能进一步延长时序寿命^[15]。这说明热量限制可能是通过最大限度地提高细胞的呼吸来延长时序寿命。降低 Ras/cAMP/PKA 信号通路的活性可同时延长时序寿命和世代寿命,但受此信号通路负调控的压力抗性基因对时序寿命和世代寿命作用不同。此外,缺失 *MSN2/4*、*RIM15* 可延长世代寿命^[16],但可缩短时序寿命^[11]。过量表达 *SOD1/2* 可延长时序寿命,但可缩短世代寿命^[11,17]。增加压力抗性基因的表达可缩短世代寿命的原因可能是线粒体 Sod2 抑制母细胞的出芽。

4 酿酒酵母衰老机制的研究对人类及哺乳动物的借鉴意义

迄今为止,研究者们发现了很多对酵母和线虫

等高等真核生物的衰老有调节作用的信号通路。酵母中的 Ras/ cAMP/PKA 信号通路和 Sch9 信号通路与线虫中的胰岛素/类 IGF-1 信号通路以及哺乳动物的胰岛素 /IGF-1 信号通路有着惊人的相似性。

在酵母 *ras2Δ*、*cyr1Δ* 和 *sch9Δ* 突变菌株中,葡萄糖信号水平较低,其寿命增加,抗性增强。*cyr1Δ* 突变菌株时序寿命的延长依赖于抗性转录因子 Msn2/Msn4,它们能够诱发一些编码热激蛋白、过氧化氢酶基因和 Sod2 的表达。同样,在线虫中,通过激活抗性转录因子 DAF-16、胰岛素 /类 IGF-1/ daf-2 信号通路的失活能够增加线虫的寿命、热抗性和氧化抗性。酵母细胞时序寿命的延长与超氧化物减少和线粒体顺乌头酸酶的失活相关。另外,*SOD2* 是 *ras2Δ*、*cyr1Δ* 和 *sch9Δ* 突变菌株时序寿命延长的必要条件,并且其他过氧化物歧化酶的过量表达也能延长酵母细胞的寿命;在线虫中,线粒体 MnSOD 以及一些热激蛋白调节 daf-2 信号通路。酵母的 Ras/cAMP/PKA 信号通路涉及糖原的积累,以及酵母细胞从静止状态转向生孢状态;线虫 daf-2 同样也控制着营养物质的储存和向幼虫状态的转化。因此,除了酵母 *SCH9* 基因和线虫 *AKT-1/AKT-2* 基因序列上的高度保守性以外,这两种亲缘关系较远的生物似乎都是通过调节类似的蛋白和信号通路的活动来调节各自的压力抗性和寿命。在高等真核生物(比如果蝇和小鼠)中,它们寿命的调节似乎也和胰岛素/IGF-1 激活的信号通路相关。这些通路包括丝氨酸/苏氨酸激酶(Akt/PKB),并能调节一些压力抗性蛋白的功能,比如 Sods、Hsps 和过氧化氢酶。降低 TOR 信号通路的活性可以延长酵母^[12,13]、线虫(*Caenorhabditis elegans*)和果蝇(*Drosophila*)的寿命^[17,18]。

葡萄糖或荷尔蒙 / 生长因子信号对主要模式生物的压力抗性以及衰老的作用相似,这说明从单细胞真核生物酵母到高等真核生物的基本衰老机制是保守的。酿酒酵母两种衰老模型机制的研究对解析高等真核生物衰老分子机制具有重要意义,同时对研究人的衰老机制和癌症等相关疾病的治疗也有重要的借鉴意义。

[参 考 文 献]

- [1] Kaeberlein M, McVey M, Guarente L. The *SIR2/3/4* complex and *SIR2* alone promote longevity in *Saccharomyces cerevisiae* by two different mechanisms. *Genes Dev*, 1999, 13(19): 2570-80
- [2] Tissenbaum HA, Guarente L. Increased dosage of a sir-2

- gene extends lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 2001, 410(6825): 227-30
- [3] Fabrizio P, Pozza F, Pletcher SD, et al. Regulation of longevity and stress resistance by Sch9 in yeast. *Science*, 2001, 292(5515): 288-90
- [4] Longo VD. The Ras and Sch9 pathways regulate stress resistance and longevity. *Exp Gerontol*, 2003, 38(7): 807-11
- [5] Bonawitz ND, Chatenay-Lapointe M, Pan Y, et al. Reduced TOR signaling extends chronological life span via increased respiration and upregulation of mitochondrial gene expression. *Cell Metab*, 2007, 5(4): 265-77
- [6] D' Mello NP, Childress AM, Jazwinski SM, et al. Cloning and characterization of LAG1, a longevity-assurance gene in yeast. *J Biol Chem*, 1994, 269(22): 15451-9
- [7] Guillas I, Kirchman PA, Jazwinski SM, et al. Conzelmann A C26-CoA-dependent ceramide synthesis of *Saccharomyces cerevisiae* is operated by Lag1p and Lac1p. *EMBO J*, 2001, 20(11): 2655-5
- [8] Merry BJ. Oxidative stress and mitochondrial function with aging—the effects of calorie restriction. *Aging Cell*, 2004, 3(1): 7-12
- [9] De Cabo R, Cabello R, Ingram DK, et al. Calorie restriction attenuates age-related alterations in the plasma membrane antioxidant system in rat liver. *Exp Gerontol*, 2004, 39(3): 297-304
- [10] Rao KS. Dietary calorie restriction, DNA repair and brain aging. *Mol Cell Biochem*, 2003, 253(1-2): 313-18
- [11] Wei M, Fabrizio P, Hu J, et al. Life span extension by calorie restriction depends on rim15 and transcription factors downstream of Ras/PKA, Tor and Sch9. *PLoS Genet*, 2008, 4(1): 139-49
- [12] Kaerberlein M, Powers RW, Steffen KK, et al. Regulation of yeast replicative life span by TOR and Sch9 in response to nutrients. *Science*, 2005, 310(5751): 1193-6
- [13] Reverter-Branchat G, Cabisco E, Tamarit J, et al. Chronological and replicative life-span extension in *Saccharomyces cerevisiae* by increased dosage of alcohol dehydrogenase. *Microbiol*, 2007, 153(11): 3667-76
- [14] Fabrizio P, Gattazzo C, Battistella L, et al. Sir2 blocks extreme life-span extension. *Cell*, 2005, 123(4): 655-67
- [15] Smith DL, McClure Jr JM, Matecic M, et al. Calorie restriction extends the chronological lifespan of *Saccharomyces cerevisiae* independently of the sirtuins. *Aging Cell*, 2007, 6(5): 649-662
- [16] Fabrizio P, Pletcher SD, Minois N, et al. Chronological aging-independent replicative life span regulation by Msn2/Msn4 and Sod2 in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett*, 2004, 557(1-3): 136-42
- [17] Vellai T, Takacs-Vellai K, Zhang Y, et al. Genetics: influence of TOR kinase on lifespan in *C. elegans*. *Nature*, 2003, 426(6967): 620
- [18] Rohde JR, Cardenas ME. The tor pathway regulates gene expression by linking nutrient sensing to histone acetylation. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(2): 629-35