文章编号: 1673-1689(2010)01-0128-06

酿酒酵母线粒体 NADH 激酶功能相关表型研究

李志君[1,2], 史锋*[1,2], 廖祥儒[2]
(1. 食品科学与技术国家重点实验室, 江南大学, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122)

摘 要: NADH 激酶是辅酶NADP(H)从头合成的关键途径。酿酒酵母中由 POS5 基因编码的线粒体 NADH 激酶是线粒体 NADPH 供应的重要来源之一。由 IDP1 基因编码的一种关键的 $NADP^+$ 依赖性脱氢酶也能够供应线粒体 NADPH。通过对 POS5 单缺失体、IDP1 单缺失体、POS5IDP1 双缺失体关键的表型研究, 包括它们的生长性能、温度敏感性、对非发酵性碳源的利用能力、线粒体及细胞质内代表性氨基酸的合成性能, 初步解析酿酒酵母线粒体中 NADPH 的主要供应方式及 NADH 激酶在线粒体中的功能。

关键词: NADH 激酶; NADPH; 表型; 酿酒酵母
中图分类号: Q 55 文献标识码: A

Function and Phenotype of Mitochondrial NADH Kinase in *Saccharomyces cerevisiae*

LI Zhi-jun[1,2], SHI Feng*[1,2], LIAO Xiang-ru[2]
(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214036, China; 2. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministy of Education, Jiangnan University, Wuxi 214036, China)

Abstract: NADH kinase is the critical pathway for NADP(H) biosynthesis in yeast. In *Saccharomyces cerevisiae*, mitochondrial NADPH is mainly supplied by a mitochondrial NADH kinase encoded by POS5 gene. However, a mitochondrial $NADP^+$-specific isocitrate dehydrogenase encoded by IDP1 gene could also supply mitochondrial NADPH. Here, through the phenotypic study of POS5 single mutant, IDP1 single mutant, POS5IDP1 double mutant, including their growth ability, temperature sensitivity, non-fermentable carbon sources usage ability, amino acid synthetic ability and anti-oxidation, supplying mode of mitochondrial NADPH and function of NADH kinase in mitochondria were investigated.

Key words: NADH kinase, NADPH, phenotype, *Saccharomyces cerevisiae*

NAD(H)和 NADP(H)作为两种重要的辅酶, 参与细胞内多种氧化还原反应, 是生物体最重要的递氢体。前者主要涉及一些氧化性生物降解反应, 后者主要参与还原性生物合成反应。除此之外, 近年来的研究表明, 它们还涉及多种不同的生化过程。NAD 参与蛋白质的 ADP 核糖基化修饰, 从而

收稿日期: 2009-03-10
基金项目: 国家自然科学基金项目(30770019, 30870056)。
* 通讯作者: 史锋(1970-), 女, 江苏丹阳人, 工学博士, 副教授, 硕士生导师, 主要从事微生物与生物化学方面的研究。Email: shifeng@jiangnan.edu.cn

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

调控多种生化过程[1],而 NADPH 则参与细胞内的抗氧化防御系统,它在细胞抵抗活性氧分子(ROS)攻击的过程中处于核心地位[2-3]。基于 NAD(H)和 NADP(H)截然不同的生理功能,它们在细胞内的水平必然会受到严格的控制,NADH 激酶就是控制它们相互转变的一种关键酶。

NADH 激酶利用 ATP 作为磷酸供体,催化 NAD^+ 和 NADH 发生磷酸化,生成 $NADP^+$ 和 NADPH。这构成了 NADP(H)从头生物合成的最后一步,也是目前已知的惟一一个催化 NAD(H)生成 NADP(H)的反应[4]。除此之外,NADPH 还可以通过细胞内多种 $NADP^+$ 依赖性脱氢酶循环再生。

在酿酒酵母细胞中,线粒体和细胞质存在不同的 NADH 激酶和 $NADP^+$ 依赖性脱氢酶体系。线粒体中的 NADH 激酶由 POS5 基因编码[3,5];而关键的一种 $NADP^+$ 依赖性脱氢酶由 IDP1 基因编码,即 $NADP^+$ 依赖性异柠檬酸脱氢酶[6]。细胞质中存在两种 NADH 激酶,分别由 UTR1 和 YEF1 基因编码[7];而细胞质中关键的 $NADP^+$ 依赖性脱氢酶由 ZWF1 基因编码,即葡萄糖-6-磷酸脱氢酶,它催化戊糖磷酸途径的第一步反应。

另外,有研究发现,酿酒酵母细胞质中的 NADH 可通过外膜复合体借助离子通道转运至线粒体,NAD^+ 可通过 YIA6(NDT1)和 YEA6(NDT2)基因产物转运至线粒体。但是迄今为止还未发现任何机制能够将酿酒酵母细胞质中的 $NADP^+$/NADPH 转运至线粒体。因此,酵母线粒体中 NADPH 的供应完全依赖于线粒体内的 NADH 激酶或 $NADP^+$ 依赖性脱氢酶[8-10]。

鉴于 NADPH 具有不同于 NADH 的重要生理功能,以及它在酿酒酵母线粒体内独立的供应方式,作者拟通过表型研究探讨线粒体内 NADH 激酶的功能,关键是它对线粒体 NADPH 库的供应能力及对线粒体功能的维持能力。通过构建酿酒酵母线粒体 NADH 激酶及 $NADP^+$ 依赖性脱氢酶基因缺失株,包括单基因缺失株 *pos5*Δ、*idp1*Δ,以及双基因缺失株 *pos5idp1*Δ,研究它们在不同培养条件下 NADPH 依赖性表型及线粒体功能相关表型,从而初步解析酿酒酵母线粒体中 NADPH 的主要供应方式及 NADH 激酶在线粒体中的功能。

1　材料与方法

1.1　培养基

预培养基(YPD):酵母膏 1 g/dL,蛋白胨 2 g/dL,葡萄糖 2 g/dL,pH 5.0,G418 0.2 mg/mL。固体培养基中加入 2 g/dL 琼脂。

SD 培养基:氨基酸酵母氮基础 0.67 g/dL,葡萄糖 2 g/dL,所需氨基酸和抗生素,pH 5.0。固体培养基中加入 2 g/dL 琼脂。

1.2　酿酒酵母菌株的筛选及培养

实验中所使用的酿酒酵母菌株列于表 1。突变株的初步筛选采用 SD 选择性平板。构建好的各酵母菌株在 YPD 培养基中 30 ℃预培养,用超纯水洗涤后,以终密度 OD_{600} = 0.05 转移至不同碳源的培养基中培养,并监测其在不同培养时间的生长密度,直至达到饱和期[11]。为了验证野生型和突变型酵母菌株在固体培养基中的生长表型,各酵母菌株在 YPD 培养基中以 30 ℃预培养,收集并洗涤 3 次后,分别稀释至 OD_{600} 为 2.0、0.2、0.02。稀释后的细胞悬液各取 5 μL 点在合适的固体培养基上,30 ℃培养 3~5 d 后拍照记录。

1.3　NADH 激酶和 $NADP^+$ 依赖性脱氢酶双基因缺失株的构建

对照细胞 BY4742,NADH 激酶单基因敲除株 *utr1*Δ、*pos5*Δ、*yef1*Δ 和 *ZWF1*、*IDP1* 基因敲除株 *zwf1*Δ、*idp1*Δ 来自 EUROSCARF,见表 1。NADH 激酶双基因缺失株 *utr1yef1*Δ、*pos5utr1*Δ、*pos5yef1*Δ 来自 Feng Shi[12]。NADH 激酶和脱氢酶双基因缺失株 *pos5idp1*Δ、*pos5zwf1*Δ 采用同源置换法构建[13]。以质粒 pFA6a-His3MX6(酿酒酵母基因敲除载体,HIS3,氨苄青霉素抗性)为模板,pos5hisf 和 pos5hisr 为嵌合引物,通过 PCR 扩增出两端各带有 POS5 基因上游和下游约 40 bp 的嵌合 HIS3 基因(pos5-HIS3),将此 PCR 扩增产物纯化后分别转化 *idp1*Δ 和 *zwf1*Δ 细胞,以使 HIS3 基因置换 *idp1*Δ 或 *zwf1*Δ 细胞染色体上的 POS5 基因,通过 His^- 平板筛选阳性转化体 *idp1pos5*::HIS3 或 *zwf1pos5*::*HIS3*,并经菌落 PCR 验证后得到双缺失体 *pos5idp1*Δ 或 *pos5zwf1*Δ,验证用引物为 *pos5upf*、*pfahis3r*、*pfahis3f* 和 *pos5dnr*,见表 2。

2　结果与讨论

为了研究酿酒酵母线粒体 NADH 激酶的功能,尤其是它对线粒体中 NADPH 的供应能力,及线粒体正常功能的维持能力、及其它关键 $NADP^+$ 依赖性脱氢酶对 NADPH 的供应能力,了解线粒体内 NADPH 的优势供应途径,作者比较了野生菌和不同突变菌在液体培养基中的生长状况,及它们在

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表 1 酿酒酵母菌株

Tab. 1 *S cerevisiae* strains used in this study

菌株	基因型	来源
BY4742	*MAT*α *leu*2Δ0 *lys*2Δ0 *ura*3Δ0 *his*3Δ0	EUROSCARF
*pos*5Δ	*MAT*α *leu*2Δ0 *lys*2Δ0 *ura*3Δ0 *his*3Δ0 *pos*5: : *kan*MX4	EUROSCARF
*utr*1Δ	*MAT*α *leu*2Δ0 *lys*2Δ0 *ura*3Δ0 *his*3Δ0 *utr*1: : *kan*MX4	EUROSCARF
*zwf*1Δ	*MAT*α *leu*2Δ0 *lys*2Δ0 *ura*3Δ0 *his*3Δ0 *zwf*1: : *kan*MX4	EUROSCARF
*idp*1Δ	*MAT*α *leu*2Δ0 *lys*2Δ0 *ura*3Δ0 *his*3Δ0 *idp*1: : *kan*MX4	EUROSCARF
*pos*5*utr*1Δ	*MAT*α *leu*2Δ0 *lys*2Δ0 *ura*3Δ0 *his*3Δ0 *utr*1: : *kan*MX4 *pos*5: :*HIS*3	Feng Shi [12]
*pos*5*yef*1Δ	*MAT*α *leu*2Δ0 *lys*2Δ0 *ura*3Δ0 *his*3Δ0 *yef*1: : *kan*MX4 *pos*5: :*HIS*3	Feng Shi [12]
*pos*5*zwf*1Δ	*MAT*α *leu*2Δ0 *lys*2Δ0 *ura*3Δ0 *his*3Δ0 *zwf*1: : *kan*MX4 *pos*5: :*HIS*3	This study
*pos*5*idp*1Δ	*MAT*α *leu*2Δ0 *lys*2Δ0 *ura*3Δ0 *his*3Δ0 *idp*1: : *kan*MX4 *pos*5: :*HIS*3	This study

表 2 引物

Tab. 2 Primers used in this study

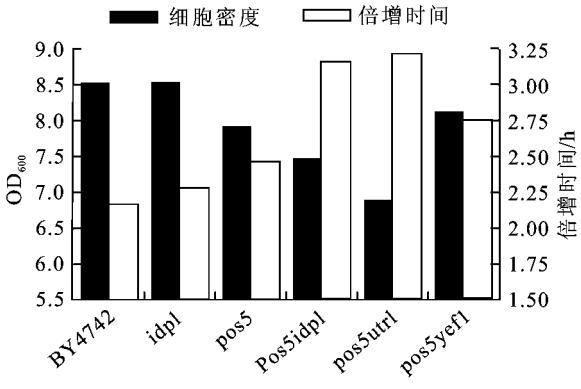
引物	寡核苷酸序列	描述
Pos5hisf	5′-CATAAATAAAAGGATAAAAAGGTTAAGGATA**ATG**CGTACGCTGCAGGTCGAC-3′	40 bp upstream of POS5 gene + ATG + 18 bp of 5′- MCS of pFA6a-his3MX6
Pos5hisr	5′-CTTAGAGAATCTCATTGAATCTTTGCATTCA**TTA**ATCGATGAATTCGAGCTCG-3′	37 bp downstream of POS5 gene + TTA + 19bp of 3′-MCS of pFA6a-his3MX6
pfahis3r	5′-CTGCAGCGAGGAGCCGTAATTTTTG-3′	Site of ~ 200 bp downstream of 5′-MCS of pFA6a-his3MX6
pfahis3f	5′-GATTCTTGTTTTCAAGAACTTGTG-3′	Site of ~ 200 bp upstream of 3′-MCS of pFA6a-his3MX6
Pos5upf	5′-CGAGCTTTGCCGTATTCTCATTTG-3′	Site of ~ 800 bp upstream of POS5 gene
Pos5dnr	5′-GGCTCACTTGAATATTATGTGTTTG-3′	Site of ~ 800 bp downstream of POS5 gene

黑体字为起始和终止序列。划线部分为酿酒酵母基因组 DNA 上相关序列。

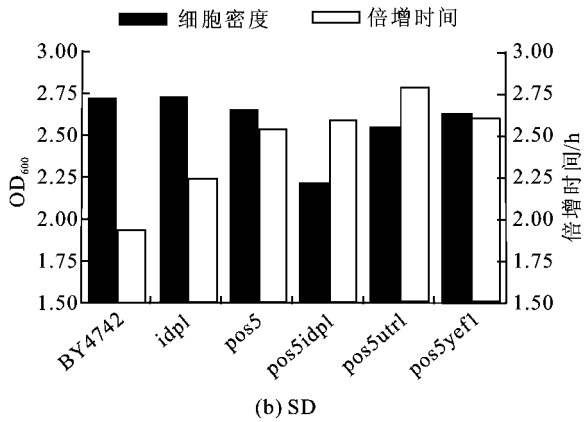
不同固体培养基中的生长表型, 包括对温度的敏感性、对非发酵碳源的利用能力、氨基酸合成能力以及抗氧化能力等。

2.1 基因缺失株在液体培养基中的生长情况

将酿酒酵母细胞中 POS5 和/或 IDP1 基因敲除后, 生长状况与野生菌 BY4742 相比, 在 YPD 和 SD 液体培养基中的生长表现出明显的不同, 见图 1。



(a) YPD



(b) SD

图 1 **BY4742** 和突变株生长至饱和态时的生长密度及生长倍增时间

Fig. 1 Cell density and doubling time of BY4742 and mutants growing in liquid medium

不管是在 YPD 培养基还是在 SD 培养基中, 突变株的生长倍增时间均高于野生型, 且双基因缺失株, 即 *pos*5*idp*1Δ、*pos*5*utr*1Δ、*pos*5*yef*1Δ 与野生型

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

或单基因缺失株相比, 所用的倍增时间更长。*pos5idp*1Δ与*pos5utr*1Δ在饱和态时细胞密度相对较低。从图 1 可以看出, *POS5* 和 *IDP1* 基因产物对于维持酿酒酵母正常生长(生长速度和细胞密度)均起到一定作用, 其中 *POS5* 的作用更大, 而双基因的敲除会减弱细胞的生长能力。

2 2　基因缺失株对温度的敏感性

当酿酒酵母在最适温度 30 ℃下培养时, 野生型和突变型酵母均能表现出正常的生长状态。而将温度提高至 37 ℃时, *pos5*Δ 突变株(*pos5*Δ, *pos5idp*1Δ) 表现出一定的生长缺陷, 其中, *pos5idp*1Δ双基因缺失株的生长缺陷更为明显。说明 *POS5* 基因的敲除会增加细胞对不适宜温度的敏感性, 当同时伴随 *IDP1* 基因缺失时, 这种敏感性会增加, 见图 2。

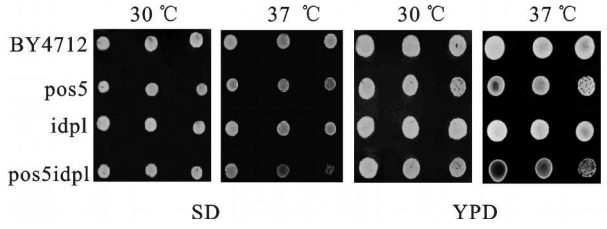


图 2　BY4742 和突变株对温度的敏感性

Fig. 2　Temperature sensitivity of BY4742 and mutants

2 3　基因缺失株对非发酵性碳源的利用能力

为了考察突变株对非发酵性碳源的利用能力, 作者改变了培养基中的碳源, 见图 3。之前已有报道称 *pos5*Δ突变株在以甘油作为惟一碳源的培养基中存在生长缺陷[14]。由于呼吸缺陷型酵母不能利用非发酵性碳源如乳酸、甘油、乙酸等, 因此 *pos5*Δ突变株很可能存在一定程度的呼吸障碍。于是, 作者对比了 *pos5*Δ、*idp5*Δ、*pos5idp*1Δ对甘油、乙酸的利用能力, 结果表明, *idp*1Δ对非发酵性碳源的利用能力明显强于 *pos5*Δ, 而 *pos5idp*1Δ表现出非常严重的缺陷。从表型观察的结果可以推断, 在酿酒酵母线粒体中, *POS5* 基因编码的 NADH 激酶对线粒体正常功能的维持, 尤其是呼吸链上电子传递过程的正常进行起到一定作用。

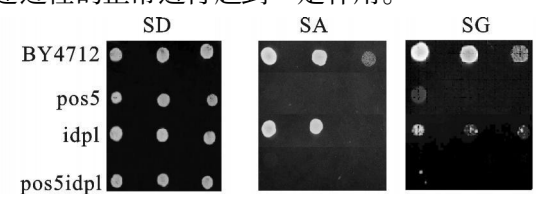


图 3　BY4742 和突变株在不同碳源中的生长情况

Fig. 3　Growth of BY4742 and mutants in different media with indicated carbon sources

2 4　基因缺失株的细胞质和线粒体氨基酸合成能力

*pos5*Δ突变株表现出精氨酸营养缺陷[2]。这是由于线粒体 NADPH 是精氨酸合成所必需的, 它为谷氨酸生成精氨酸的第三步反应提供还原力, 见图 4[15]。而细胞质中NADPH 则是甲硫氨酸合成所必需的[16, 17]。

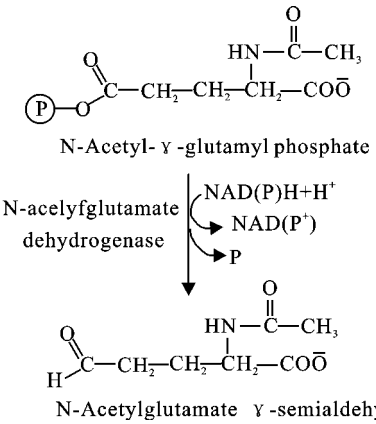


图 4　谷氨酸生成精氨酸过程的第三步反应

Fig. 4　The third step in the conversion of glutamate to arginine

另有报道称, 在哺乳动物细胞中, 线粒体 $NADP^+$ 依赖性异柠檬酸脱氢酶(NADP-IDH m) 是线粒体中 NADPH 的重要供应源[18]。然而酿酒酵母的 *idp*1Δ突变株并不存在显著的精氨酸合成缺陷。*pos5*Δ存在明显的精氨酸合成缺陷, 且 *pos5idp*1Δ未表现出比 *pos5*Δ更强烈的精氨酸合成缺陷, 见图 5。

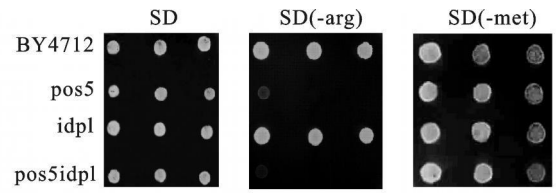


图 5　BY4742 和突变株对精氨酸和甲硫氨酸的合成能力

Fig. 5　Arginine and methionine biosynthesis of BY4742 and mutants

*pos5*Δ在精氨酸合成上的缺陷, 也说明细胞质中 NADPH 的正常供应不能缓解线粒体中 NADPH 的缺陷。另外由于 *pos5*Δ突变株不存在甲硫氨酸合成上的缺陷, 说明供应线粒体 NADPH 的相关基因的敲除不影响细胞质中 NADPH 的供应, 再次证明了酿酒酵母线粒体 NADPH 库和细胞质 NADPH 库是相互独立。*zwf*1Δ的精氨酸原养型和甲硫氨酸异养型也证明了这一点, 见图 6。*pos5zwf*1Δ既存在精氨酸营养缺陷, 又存在甲硫氨酸营养缺陷, 说明其线粒体 NADPH 和细胞质 NAD-

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

PH 的供应均存在障碍。而 *pos5utr*1Δ 仅为精氨酸营养缺陷型, 说明它的线粒体 NADPH 供应有明显障碍, 而细胞质 NADPH 的供应未受显著影响。

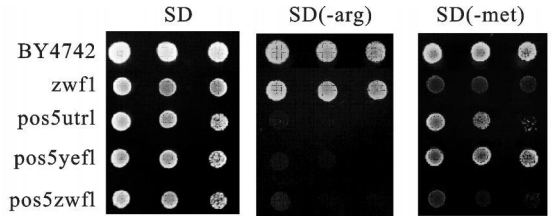


图 6 **BY4742** 和突变株在精氨酸和甲硫氨酸合成上的缺陷

Fig. 6 Arginine and methionine biosynthesis defect of BY4742 and mutants

2.5 基因缺失株的抗氧化能力

生物有机体抵抗活性氧分子的能力取决于它们抗氧化系统的正常运行。NADPH 对于维持细胞氧化还原体系平衡, 保障细胞抗氧化能力非常重要。因此, NADPH 的缺乏往往会引起细胞对氧化压力的敏感。从图 7, 8 可见, *pos*5Δ 突变株(包含 *pos*5Δ、*pos*5*idp*1Δ、*pos*5*utr*1Δ、*pos*5*zwf*1Δ) 对 $CuSO_4$和 H_2O_2 都很敏感, 双突变株(*pos*5*idp*1Δ、*pos*5*utr*1Δ、*pos*5*zwf*1Δ) 对于$CuSO_4$的敏感性更高于单突变株(*pos*5Δ、*idp*1Δ、*utr*1Δ、*zwf*1Δ)。对于线粒体内的一种代表性 $NADP^+$ 依赖性脱氢酶 Idp1p, 其基因突变株 *idp*1Δ 可以同野生菌一样正常抵御这两种氧化压力, 这说明它对于酿酒酵母抵抗氧化压力没有贡献。细胞质 NADH 激酶突变株 *utr*1Δ 和细胞质葡萄糖-6-磷酸脱氢酶突变株 *zwf*1Δ 对这两种氧化压力也比较敏感, 说明它们对于对抗氧化压力(很可能是细胞质内的活性氧) 具有一定的功能。

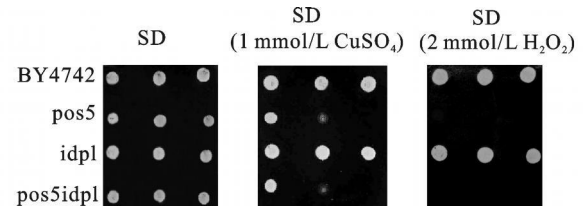


图 7 **BY4742** 和突变株的抗氧化能力

Fig. 7 The anti-oxidation ability of BY4742 and mutants

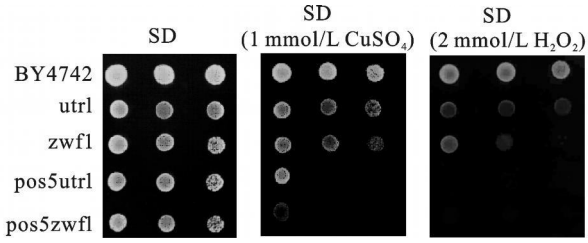


图 8 **BY4742**、**zwf1**Δ、**utr1**Δ、及其与 **POS5** 基因的双突变株的抗氧化能力

Fig. 8 The anti-oxidation ability of BY4742 and mutants

3 结 语

对酿酒酵母的表型研究表明, 在最优培养基、最适培养温度的条件下, 野生型和突变型都能生长, 但 *pos*5Δ, 尤其是 *pos*5*idp*1Δ 双基因缺失株在 YPD 和 SD 液体培养基中的生长速率变慢, 细胞密度降低。当改变培养温度, 或培养基成分时, 突变株尤其是 *pos*5Δ 表现出明显的温度敏感性, 对非发酵性碳源的利用能力出现障碍, 氨基酸合成能力以及抗氧化能力也存在缺陷, 而 *pos*5*idp*1Δ 在特定情况下会加剧。

从表型比较的结果中还发现, *POS*5 基因编码的 NADH 激酶是线粒体 NADPH 的主要供应来源; *IDP*1 基因编码的异柠檬酸脱氢酶对于线粒体中 NADPH 的供应也能起到一定作用, 但其贡献不如 Pos5p。*pos*5*idp*1Δ 双基因缺失株在一些特定条件下的生命表征弱于 *pos*5Δ 单基因缺失株。线粒体和细胞质中 NADPH 存在于两个相互独立的体系中。

参考文献(References):

[1] Ziegler M. New functions of a long-known molecule. Emerging roles of NAD in cellular signaling[J]. **Eur J Biochem,** 2000, 267: 1550-1564.

[2] Foster J W, Moat A G. Nicotinamide adenine dinucleotide biosynthesis and pyridine nucleotide cycle metabolism in microbial systems[J]. **Microbial Rev,** 1980, 44: 83-105.

[3] Outten C E, Culotta V C. A novel NADH kinase is the mitochondrial source of NADPH in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. **EMBO J,** 2003, 22: 2015-2024.

[4] Mcguinness E T, Butler J R. NAD^+ kinase-a review[J]. **INT J Biochem,** 1985, 17(1): 1-17.

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[5] Strand M K, Stuart G R, Longley M J, et al. POS5 gene of *Saccharomyces cerevisiae* encodes a mitochondrial NADH kinase required for stability of mitochondrial DNA[J]. **Eukaryot Cell,** 2003, 2: 809–820.

[6] Robert J, Haselbeck, Lee McAlister-Henn. Isolation, nucleotide sequencea, and disruption of the *Saccharomyces cereuisiae* gene encoding mitochondrial NADP(H)-specific isocitrate dehydrogenase[J]. **J Biol Chem,** 1991, 266: 2339–2345.

[7] Kawai S, Mori S, Suzuki S, et al. Molecular cloning and identification of UTRl of a yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a gene encoding an NAD kinase[J]. **FEMs Microbiol Let,** 2001, 200: 181–184.

[8] Benz R. Permeation of hydrophilic solutes through mitochondrial outer membranes: review on mitochondrial porins[J]. **Biochim Biophys Acta,** 1994, 1197: 167–196.

[9] Kmita H, Budzinska M. Involvement of the TOM complex in external NADH transport into yeast mitochondria depleted of mitochondrial porin1[J]. **Biochim Biophys Acta,** 2000, 1509: 86–94.

[10] Todisco S, Agrimi G, Castegna A, et al. Identification of the mitochondrial NAD^+ transporter in *Saccharomycescerevisiae*[J]. **J Biol Chem,** 2006, 281: 1524–1531.

[11] Van Roermund C W T, Hettema E H, Kal A J, et al. Peroxisomal β-oxidation of polyunsaturated fatty acids in *Saccharomyces cerevisiae*: isocitrate dehydrogenase provides NADPH for reduction of double bonds at even positions[J]. **EMBO J,** 1998, 17: 677–687.

[12] Feng Shi, Shigeyuki Kawai, Shigetarou Mori, et al. Identification of ATP-NADH kinase isozymes and their contribution to supply of NADP(H) in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. **FEBS Journal,** 2005, 272: 3337–3349.

[13] Wach A, Brachat A, Alberti-Segui C, et al. Heterologous HIS3 marker and GFP reporter modules for PCR-targeting in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. **Yeast,** 1997, 13: 1065–1075.

[14] Dimmer K S, Fritz S, Fuchs F, et al. Genetic basis of mitochondrial function and morphology in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. **Mol Biol Cell,** 2002, 13: 847–853.

[15] Jauniaux J C, Urrestarazu L A, Wiame J M. Arginine metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*: subcellular localization of the enzymes[J]. **J Bacteriol,** 1978, 133: 1096–1107.

[16] Thomas D, Cherest H, Surdin-Kerjan Y. Identifcation of the structural gene for glucose-6-phosphate dehydrogenase in yeast. Inactivation leads to a nutritional requirement for organic sulfur[J]. **EMBO J,** 1991, 10: 547–553.

[17] Slekar K H, Kosman D J, Culotta V C. The yeast copper/zinc superoxide dismutase and the pentose phosphate pathway play overlapping roles in oxidative stress protection[J]. **J Biol Chem,** 1996, 271: 28831–28836.

[18] Jo S H. Control of mitochondrial redox balance and cellular defense against oxidative damage by mitochondrial NADP+-dependent isocitrate dehydrogenase[J]. **J Biol Chem,** 2001, 276: 16168–16176.

(责任编辑:李春丽)

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net