

研究细胞凋亡的新模式生物——酵母*

姜 俏 林 琳 汪天虹**

(山东大学微生物技术国家重点实验室, 济南 250100)

摘要 细胞凋亡是受到严格调控的细胞自杀过程, 凋亡机制从酵母到动物细胞高度保守。酵母细胞的凋亡过程虽发现较晚, 但研究进展迅速。多个证据表明, 酵母确实能发生细胞凋亡且细胞凋亡机制具有较高的保守性。酵母已成功用于发现新的细胞凋亡因子。近来, 酵母还用作亨丁顿舞蹈症、帕金森氏病等凋亡相关疾病的细胞模型, 为治愈这些疾病提供思路和指导。综述了酵母作为凋亡研究模式生物的可行性和独特的优势, 其应用前景、存在的瓶颈问题及可能的解决方案。利用酵母为模式生物研究细胞凋亡和疾病发生, 将大大加快发现新凋亡因子的过程, 同时酵母作为凋亡相关疾病模式生物具有广阔的发展空间。

关键词 酵母, 细胞凋亡, 模式生物, 亨丁顿舞蹈症, 帕金森氏病, 脂凋亡

学科分类号 Q255, Q932

细胞凋亡(apoptosis)是指细胞为维持内环境稳定而主动有序的死亡。细胞凋亡过程与周期调控、衰老等生理过程密切相关。人类细胞凋亡紊乱可导致癌症、获得性免疫功能缺陷综合征(AIDS)、早衰、自体免疫(autoimmune)、神经退行性病变(neurodegenerative disorders)甚至肌肉萎缩等疾病^[1]。因此细胞凋亡研究一直是生命科学的前沿和热点。长时间以来, 细胞凋亡研究一直以动物细胞作为模式, 取得了很多成果。但由于动物细胞代谢通路复杂且具有种属和时空特异性, 给研究带来了困难。而酵母作为低等真核细胞, 能很好地简化研究过程。

酵母(yeast)是单胞子囊菌和担子菌的总称, 包含多种亲缘关系相对较远的真菌。根据繁殖方式不同可分为芽殖酵母(如酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae*)和裂殖酵母(如粟酒裂殖酵母 *Schizosaccharomyces pombe*)。自从酵母细胞凋亡现象被发现以来一直是学术热点问题。目前对于酵母细胞凋亡的诱因、核心分子、传导通路等已经有了较深入的了解, 酵母作为凋亡模式生物的条件已初步成熟。此外, 由于细胞凋亡与多种疾病密切相关, 研究者成功建立了疾病的酵母模型, 并取得初步进展。

1 酵母细胞凋亡——被隐藏的真相

细胞凋亡概念最早由 Kerr 等^[2]于 1972 年提出。其后在大多数动物细胞中都发现了这种细胞自

杀过程, 其生理意义在于部分细胞主动死亡使整个生命体存活得更好。而像酵母这样的单细胞生命, 单个细胞的死亡意味着整个生命体的完结。因此自杀似乎没有必要, 也不该在进化中被选择。另外, 酵母基因组中没有发现动物凋亡因子的同源物, 如 bax/bcl-2 家族, caspases, Apaf-1/CED-4, p53 等^[3]。因此酵母细胞凋亡现象一直未获认识。出人意料的是, 当人们利用酿酒酵母或裂殖酵母这些“空盒子”表达动物细胞凋亡因子时发现, Bax, caspases, Apaf-1/CED-4, p53 等很难得到酵母转化子, 但若同时表达动物抗凋亡蛋白 Bcl-2 或 Bcl-XL 则可得到转化子。显然这说明动物前凋亡因子在酵母中具有致死效应^[4]。针对这一性质 Reed 等利用 Bax 的细胞毒性鉴定酵母细胞突变体, 同时从人类基因库中挑选抗凋亡蛋白。研究发现表达人类 *BI-1* 或酵母细胞线粒体 F_0F_1 -ATPase 突变体均能抗 Bax 致死效应^[5,6]。与此同时研究证明, 多种单细胞真核生物也具有细胞凋亡的机制, 如原虫枯氏锥虫(*Trypanosoma cruzi*), 布氏罗得西亚锥虫(*T. brucei rhodesiense*), 盘基网柄菌(*Dictyostelium discoideum*), 四膜虫(*Tetrahymena thermophila*)等^[7]。这些研究为发

* 国家自然科学基金资助项目(30470052, 30670029)和国家基础研究发展规划资助项目(973)(2003CB716006, 2004CB719702)。

** 通讯联系人。

Tel: 0531-88366118, E-mail: wangtianhong@sdu.edu.cn

收稿日期: 2007-08-17, 接受日期: 2007-09-27

现并定义酵母细胞凋亡铺平了道路。

1997 年 Madeo 等^[8]发现, *CDC48* 基因(编码 AAA-ATPase, 在酵母细胞分裂和囊泡运输中起作用)突变体 *cdc*^{48S56G} 能够发生凋亡样的细胞死亡, 这是关于酵母细胞凋亡的最早报道。此后研究发现, 多种外源因素均能导致酵母细胞凋亡, 包括 UV 照射, 渗透压和温度变化等。而 H₂O₂, 次氯酸(HOCl), 阿司匹林(aspirin), 植物逆渗透蛋白(osmotin), 乙酸, NaCl, 葡萄糖等在一定剂量下也可诱导酵母细胞凋亡^[9]。此外, DNA 复制缺陷, 细胞骨架肌动蛋白 actin 活力变化以及 mRNA 稳定性提高等细胞内变化也能导致细胞凋亡^[10,11]。如 Hauptmann 等^[12]发现, 酵母缺失 Ost2p(动物细胞死亡防御因子 DAD1 的酵母同源物)会损伤 N-糖基化通路, 导致不依赖 caspase 的凋亡。而 Ren 等^[13]发现, *PDS5*(类 cohesin 基因)的突变可削弱姐妹染色体间的维持力, 并在减数分裂早期诱导凋亡。此外, 在复制衰老(replicative aging)和自然衰老细胞(chronological aging)的酵母细胞中都观察到了凋亡表型^[14~16]。有趣的是, 酵母细胞凋亡与大克隆(giant clony)的形成也有关系。酵母群落通过释放氨气控制分化, 而在氨气作用下, 大克隆内部的细胞呈现典型的凋亡表型, 外周的细胞生存良好^[17]。图 1 描述了酵母细胞凋亡的内外源诱导因素。

此外, 使用高级的序列同源检索——位点特异性反复 BLAST 的方法(PSI-BLAST), 在酵母细胞基因组中发现了多种动物凋亡因子的同源物。如 metacaspases(一种半胱氨酸蛋白酶, 其活化与细胞凋亡有直接关系), 凋亡诱导因子(apoptosis inducing factor, AIF), 线粒体促凋亡因子 HtrA2/Omi, 凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis, IAP)等^[18]。关于酵母细胞凋亡的意义目前也得到了很好的阐释。在有性生殖, 衰老以及形成多细胞群体等过程中单细胞的凋亡对整个群落而言有重要的价值, 最近 Büttner 等^[19]综述了酵母细胞凋亡的生理意义。

以上三点证据表明, 酵母确实能发生细胞凋亡。目前该领域已成为凋亡研究新的增长点, 有三个研究团队表现活跃。其领导者分别是美国 Burnham 研究所的 John C. Reed, 奥地利格拉茨大学(University of Graz)的 Frank madeo 和 Kai-Uwe Fröhlich, 以及英国设菲尔德大学(University of Sheffield)的 Ayscough R. Kathryn。最近我国科学家也积极投入到这一领域中, 如清华大学刘湘军教授及其团队报道高效抗癌剂砷(arsenic)能导致酵母细

胞凋亡并产生 ROS, 且该过程需要有功能的线粒体参与^[20]。武汉大学的蔡汝秀和沈萍教授等发现可以利用细胞内 NADH 自身荧光(autofluorescence)的不同时间效应(time courses)区分 H₂O₂ 和过氧亚硝基(ONOO⁻)导致的酵母细胞坏死/凋亡/可逆性损伤三种状态。在细胞凋亡过程中, 胞内 NADH 含量短暂提高后持续下降直至细胞死亡; 坏死过程中 NADH 含量变化比凋亡更剧烈, 而可逆性损伤过程中 NADH 含量下降到一定程度后恢复初始水平^[21]。此外, 北京大学翟中和教授和清华大学周兵教授也在酵母细胞凋亡领域取得了重要成果(详见下文)。最近周兵教授及其团队还揭示了铜和锰诱导酵母细胞凋亡的不同机制。证明铜诱导的细胞凋亡过程需要 ROS 参与, 而不依赖 Yca1p。相反锰介导的细胞凋亡不依赖 ROS, 但需要 Yca1p 参与^[22]。

2 新的模式物种

2.1 细胞凋亡过程的保守性

目前, 人们认为酵母细胞凋亡与动物细胞凋亡是同一古老过程的不同版本, 凋亡过程具有保守性。首先, 酵母与动物细胞凋亡具有非常相似的形态和生化特征, 包括细胞核染色质收缩, 细胞膜磷脂酰丝氨酸(phosphatidyl serine, PS)外翻, 染色质 DNA 片段化等。此外, 活性氧物质(reactive oxygen species, ROS)的产生和细胞色素 c 释放(cytochrome c, Cyto c)也是二者共有的凋亡标记^[9]。其次在分子水平上, 二者具有相同的核心元件和调控因子。其中最核心的是哺乳动物 caspase 蛋白酶垂直同源物 Metacaspase/YCA1p, 细胞凋亡核介导因子(nuclear mediator of apoptosis, Nma111p/Omi)以及人类 AIF 同源的细胞死亡线粒体相关诱导物(AIF-homologous mitochondrion-associated inducer of cell death, Ndi1p/AMID)。

Yca1p 是哺乳动物 caspase 的垂直同源物, 在酵母细胞凋亡中具有核心作用。氧化压力、衰老等多种因素导致的细胞凋亡过程中, 干扰 YCA1 均能避免形成凋亡表型^[23]。例如, Mazzoni 等^[24]报道 lsm4 蛋白质(参与 mRNA 脱帽反应)突变后可提高 mRNA 稳定性, 并导致细胞凋亡, 这一过程依赖于 Yca1p。在该突变体中删除 YCA1 可提高细胞对 H₂O₂ 和乙酸的抗性, 阻止衰老中的 ROS 积累、DNA 断裂及细胞死亡。Bettiga 等^[25]也发现, 敲除 *UBP10*(编码去泛醌化酶, 参与控制蛋白质的降解)可导致细胞亚群(subpopulation)出现典型的凋亡表

型, 而敲除 *YCA1* 可抑制该过程. 当然, 并非所有的凋亡过程都依赖 caspase, 如上述大克隆中的 PCD 以及铜诱导的细胞凋亡似乎均不依赖于 *Yca1p*, 而 AIF 介导的细胞死亡部分依赖于 *Yca1p*^[22, 26]. 目前科学界已广泛接受了 *Yca1p* 参与酵母细胞凋亡并在其中起重要作用的观点. Váchoá 和 Palkoá^[27] 详细综述了 *Yca1p* 在酵母细胞凋亡中的作用.

此外, 细胞凋亡核介导因子(Nma111p/Omi)也是凋亡的关键蛋白质. 在动物细胞凋亡过程中, Nma111p 的同源物 Htra2/Omi 是存在于线粒体内的丝氨酸蛋白酶, 具有前凋亡功能. Htra2/Omi 能够拮抗 XIAP (X 连锁凋亡抑制蛋白, X-linked inhibitor-of-apoptosis protein, XIAP), 而 XIAP 依次抑制下游 caspases. 生存蛋白(survivin)则对 XIAP 起稳定作用, 并以此加速抗凋亡效应^[28]. 与动物中的 Htra2/Omi 不同, Nma111p 只存在于酵母细胞核中. 当提高培养温度或使用 H_2O_2 诱导时, Nma111p 在酵母细胞核中聚集. 敲除 *NMA111* 的突变体在这些环境压力下存活良好, 不发生凋亡^[29]. Walter 等通过对 survivin 和 caspase-3 的晶体学结构分析表明, survivin 的酵母同源物 Bir1p 能被 Nma111p 降解而不与 *Yca1p* 直接作用^[30]. 在 *BIR1* 缺失的突变菌株中, 氧化压力可增强凋亡效应. 反之, 过表达 Bir1p 则减弱细胞凋亡, 而同时过表达 Nma111 又可重新恢复凋亡表型^[31].

NDE1 和 *NDI1* 是人类细胞 AMID(与凋亡诱导

因子 AIF 同源的线粒体相关蛋白, AIF homologous mitochondrion-associated inducer of cell death, AMID)的酵母同源物, 由我国科学家翟中和教授等发现^[32]. 而清华大学周兵教授发现 *NDE1* 和 *NDI1* 分别编码外部 external NADH 脱氢酶和内部 internal NADH 脱氢酶. 并且在葡萄糖培养基上过表达 *NDI1* 会导致细胞凋亡及部分细胞的细胞周期停滞, *NDE1* 无该效应. 在非发酵培养基(如甘油)或半发酵培养基(如半乳糖, 0.1%葡萄糖)中 *NDI1* 的致死效应能够得到回复. 敲除 *cox12*, *qcr8*, *cox8*, *cor1* 等电子传递链成员能增加 *NDI1* 过表达菌株的细胞存活率, 而干扰 *NDE1* 或 *NDI1* 能减小 ROS 产生并延长酵母生存周期^[33].

再次, 已知的核心凋亡通路在进化中也具有保守性. Cheung 等^[34]报道激酶 Mst1 磷酸化组蛋白 H2B 可导致人类 HL-60 细胞凋亡过程的染色质聚集. 而经 H_2O_2 处理后, 酵母也可发生 H2B 磷酸化. 人类 Mst1 激酶的酵母同源物 Ste20p 与该修饰有关. 通过菌株改造抑制 H2B 磷酸化可避免凋亡, 而在该菌株中表达磷酸化 H2B 则促进凋亡^[35]. 以上结果说明, 组蛋白 H2B 修饰是 H_2O_2 诱导的细胞凋亡通路的一部分, 且该通路从酵母到人都是保守的.

以上三点证据说明, 细胞凋亡机制具有较高的保守性. 以酵母作为细胞凋亡研究模式生物, 能在一定程度上重现或替代动物细胞. 图 1 反映了酵母细胞凋亡的保守调控因子及其相互作用.

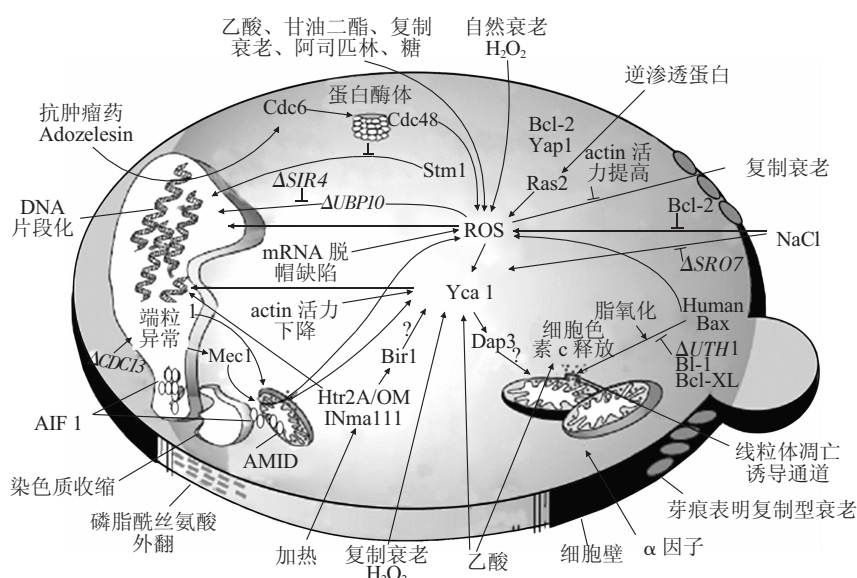


Fig. 1 The conserved molecules and inducers in yeast apoptosis^[9]

图 1 酵母细胞凋亡的保守分子和诱导因素^[9]

酵母细胞在乙酸、甘油二酯、糖、盐、阿司匹林、衰老、逆渗透蛋白等外源因素作用下可出现 DNA 片段化, 染色质收缩, 磷脂酰丝氨酸外翻等凋亡特征. 细胞内的变化, 如 mRNA 脱帽缺陷和细胞骨架肌动蛋白活力的下降等也会导致细胞凋亡. ROS、Yca1、Nma111p/Omi 是酵母细胞凋亡中的核心调节分子, 几乎所有凋亡事件都与 ROS 和 Yca1 有关.

2.2 酵母模式的独特优势

酵母是被认识最深入的真核生物,也是分子生物学的常用模式物种.其中最早完成基因组测序的酿酒酵母基因组小,适于基因组水平进行分子操作.目前已经可以获得单基因敲除突变体库.而粟酒裂殖酵母也已完成全基因组测序,是细胞周期研究常用的模式物种.在蛋白质水平上,酵母双杂交(2-hybrid),合成致死(synthetic lethality, SL),TAP 标签(TAP-tag)等技术均可用于研究蛋白质相互作用^[36].此外,酵母同源重组率高,能将外源基因准确插入基因组的指定位置,也为分子生物学操作带来了便利.

在遗传学性质上,野生型酿酒酵母是同宗配合双倍体(homothallic diploid),而绝大部分实验室菌株均能形成稳定的单倍体或异宗配合双倍体(heterothallic diploid),这对研究非常有利.因为隐性表型在单倍体中很容易被检测出来,而异源双倍体能够隐藏致死突变^[3].此外,酿酒酵母是一种兼性厌氧菌,能够在完全没有线粒体 DNA 的情况下存活(菌株 ρ^0),而绝大多数高等生物都是需氧生物,其细胞不能在线粒体完全丧失功能的情况下生存.由于线粒体在细胞凋亡中起到了非常核心的作用,因此酵母 ρ^0 菌株对细胞凋亡研究非常有利.

此外,不同的酵母物种差别很大,如酿酒酵母和粟酒裂殖酵母虽同属于子囊菌,但在进化上距离较远.至少 10 亿年前已在进化中分离,而随后不久真菌就与动物发生了分离^[37].不同酵母之间的区别使酵母作为模式生物更有代表性.正是由于这些独特的优势,酵母,尤其是酿酒酵母和裂殖酵母能够成为细胞凋亡研究的模式物种.

3 细胞凋亡相关疾病的酵母模型

3.1 细胞凋亡的酵母模型

在细胞凋亡研究的早期阶段,人们主要在酵母基因组中寻找动物细胞凋亡因子的同源物并验证其功能.随着酵母凋亡模型的建立,人们转而在酵母细胞中寻找新的凋亡因子,并在动物基因组搜索类似物.该研究虽然刚刚起步但已经取得了一定进展,如上文提到的 *CDC48* 基因人类细胞同源物 *VCP* 的发现^[8].需要指出的是,人类 *VCP* 基因是多聚谷氨酰胺(polyglutamine)导致的神经退行性病变的致病因子^[38].且 *VCP* 突变与帕哲病(Paget disease, 乳腺湿疹样癌症)内涵物形成有关^[39].此外, *VCP* 在人类细胞衰老过程中也起了重要的作

用.最近 Braun 等^[40]用蛋白质组学的方法研究了酵母 *CDC48/VCP* 突变体.通过双向电泳比较了野生型与 *cdc^{48SS65G}* 突变体细胞的亚细胞组分后发现,二者细胞质基质和细胞核组分只有极小的区别,而线粒体成分却有显著的变化.突变体中表达下调的 32 个点包含了细胞死亡相关的蛋白质,比如亲环蛋白 C(cyclophilin, CyP-C)和亲环蛋白 D,肌动蛋白结合蛋白等.这些研究将为神经退行性病变和帕哲病的治疗提供依据.此外, Zhang 等^[41]研究了抗肿瘤药物依地福新(ET-18-OCH₃, edelfosine)对酵母和人类肿瘤细胞具有类似的作用模式.说明酵母有望成为研究药物抗肿瘤机制的细胞模型.可以预见,酵母细胞简单清晰的遗传背景和快速便捷的实验操作将大大加快发现新凋亡因子的过程,同时,酵母作为凋亡相关疾病模式生物,具有广阔的发展空间.

3.2 亨廷顿舞蹈症与帕金森病的酵母模型

亨廷顿舞蹈症(Huntington's disease)和帕金森氏病(Parkinson's disease)均与内质网压力(ER stress)和未折叠蛋白质反应(UPR)有关.酵母中 UPR 缺陷可导致内质网压力,在此情况下线粒体呼吸作用可导致 ROS 产生及细胞死亡,而删除线粒体 DNA 可抑制凋亡表型.在帕金森氏症的酵母模型中,表达人类核突触蛋白(α -synuclein)能触发细胞凋亡和细胞色素 c 释放.而通过简单热激或过表达热休克蛋白 Hsp 70 (heat shock protein, Hsp) Ssa3p 能够避免 α -synuclein 的细胞毒性^[42],因此热激反应在神经退行性病变(neurodegenerative disorders)治疗中应该有重要作用.最近, Chen 等^[43]证实 α -synuclein 可改变蛋白酶体组成并削弱蛋白酶体介导的蛋白质合成、降解及酵母静止期生存力.因此, α -synuclein 的细胞毒性与蛋白酶体、CDC48、线粒体凋亡轴之间的关系是很吸引人的课题.此外,在亨丁顿舞蹈症的酵母模型中,表达多聚谷氨酸区域可导致核聚集,并发生细胞凋亡^[44].有趣的是,在鼠类脑黑质(substantia nigra)中表达酵母 Ndi1p 可避免由药物 MPTP(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine,可引起帕金森氏病)处理引起的神经元功能缺失和神经退行性病变^[45,46].这说明酵母和哺乳动物细胞凋亡因子在一定程度上能实现功能互换.

3.3 脂凋亡的裂殖酵母模型

目前肥胖已成为世界性的健康问题,因此有关脂凋亡(lipoapoptosis)和脂肪代谢细胞毒性(lipotoxicity)的研究成为医药领域的热点.脂凋亡

是脂类物质代谢导致的细胞凋亡过程, 最早由 Rats 等报道^[47]. 而 Yang 及其研究小组发现, 粟酒裂殖酵母敲除 *phl1* 和 *dga1* 的突变体在甘油二酯(diacyl glycerol, DG)酯化为甘油三酯(triacyl glycerol)的过程中可发生细胞凋亡^[48]. 与哺乳动物不同的是, 该突变菌株中多种神经鞘脂类物质(sphingolipids), 如神经酰胺(ceramide), 二氢鞘氨醇(dihydrosphingosine, DHS)以及植物鞘氨醇(phytosphingosine, PHS)等均不能导致细胞凋亡. Low 等^[49]通过进一步研究认为, DG 可能是凋亡的主要诱导物, 而 ROS 则是该过程的下游效应因子. 由于脂凋亡可能导致胰岛素抵抗(insulin resistance, IR), II 型糖尿病和人类代谢综合征(metabolic syndrome, MS)^[50], 因此裂殖酵母模型可能为研究这些疾病机制带来希望. 值得一提的是, 除酵母外其他真菌中也观察到了脂凋亡现象. Cheng 等^[51]发现二氢鞘氨醇和植物鞘氨醇可导致构巢曲霉(*Aspergillus nidulans*)细胞凋亡, 说明除酵母外丝状真菌也能为脂凋亡研究提供指导.

此外, 在衰老和神经退行性病变领域, 酵母模型也获得很大成功. Mager 等^[52]综述了以酿酒酵母为疾病模型的研究进展. 可以预见, 酵母将为治疗凋亡相关疾病带来希望.

4 瓶颈问题

酵母细胞凋亡现象发现至今仅有 10 年时间, 而最近科学界才开始接受并使用酵母作为模式生物. 目前酵母模型还存在一些瓶颈问题, 在酵母细胞中尚未发现死亡受体和配体(death receptors/ligands)通路, 而该通路是动物细胞凋亡三大核心信号通路之一^[3]. 此外, 仍有部分动物细胞凋亡关键因子没有在酵母基因组中找到同源物, 如 Bcl-2, p53 等.

对于上述缺失有两种解释. 其一, 酵母细胞中存在这些因子, 只是由于检索方法或实验技术的限制目前暂时没有找到. 这种情况已有先例, 如 metacaspase 的发现. 最初人们认为 caspase 是动物细胞凋亡特有的执行因子, 植物和真菌中没有 caspase 的同源物. 2000 年 Uren 等^[53]使用高级模式的序列同源检索法 PSI-BLAST 找到了 caspase 在真菌中的垂直同源物 metacaspases/Yca1p, 成为酵母细胞凋亡领域的革命性突破.

当然也有可能这些凋亡分子机器和信号通路出现在酵母和动物进化分离之后. 毕竟酵母是比较低

等的单细胞真核生物, 缺少细胞间的相互联络以及细胞和组织之间的相互作用. 果真如此, 我们还需要研究某种进化上介于动物和酵母之间的物种作为补充, 比如丝状真菌或某些低等植物. 丝状真菌(filamentous fungi)是以菌丝形态生长的真核微生物总称^[54]. 丝状真菌与酵母同属于真菌, 进化上比较接近. 但前者属于多细胞真核生物, 有了简单的细胞分化, 比后者高等. 目前丝状真菌细胞凋亡研究也有了很大成果, 作者也在丝状真菌细胞凋亡领域进行了一些研究工作, 包括诱导瑞氏木霉细胞凋亡并检测凋亡特征, 研究凋亡关键因子及信号通路等(结果另文报道).

5 总结与展望

细胞凋亡研究具有重要的理论和实际意义, 是目前生命科学领域的前沿和热点. 但是由于高等真核细胞信号通路复杂交织, 干扰因素较多, 长期以来基于动物细胞的凋亡研究相对困难. 因此, 寻找简单而有效的凋亡模式生物成为细胞生物学领域的迫切要求. 而酵母细胞由于凋亡过程的保守性及其作为分子生物学模式物种的先天优势, 成为凋亡研究新的模式. 目前该领域发展迅速, 酵母已被用于研究多种凋亡相关的重大疾病. 不可否认的是, 酵母并不是哺乳动物细胞凋亡的完整拷贝, 因此酵母细胞作为模式菌株仍存在一些瓶颈问题. 目前认为, 酵母缺乏某些动物细胞凋亡的重要调控因子. 解决这一问题需要加强对酵母细胞凋亡的研究, 同时寻找其他进化稍高等的物种作为补充.

酵母作为细胞凋亡模式生物还有很大空间. 酵母可用于解释不同凋亡途径间的复杂层次以及凋亡执行过程中尚未揭示的下游事件, 如染色质修饰、凝缩与细胞死亡三者之间的关系等. 酵母也可用于揭示细胞周期与凋亡之间的平衡与联系. 此外, 动物细胞凋亡相关的死亡形式自噬(autophagy)对于抑制细胞癌变非常重要. 因此随着酵母中发现自噬基因, 酵母对于研究自噬与凋亡通路之间的关系也应当有所贡献^[9]. 我们有理由相信, 细胞凋亡的酵母模型将在未来 10 年内取得更丰硕的成果.

参 考 文 献

- 1 Fröhlich K U, Madeo F. Apoptosis in yeast: a monocellular organism exhibits altruistic behaviour. FEBS Lett, 2000, 473(1): 6~9
- 2 Kerr J F, Wyllie A H, Currie A R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. Br J Cancer, 1972, 26(4): 239~257

- 3 Fröhlich K U, Heike F, Christoph R. Yeast apoptosis—From genes to pathways. *Seminars in Cancer Biology*, 2007, **17**(2): 112~121
- 4 Fleury C, Pampin M, Tarze A, *et al.* Yeast as a model to study apoptosis?. *Biosci Rep*, 2002, **22**(1): 59~79
- 5 Matsuyama S, Xu Q, Velours J, *et al.* The mitochondrial F_0F_1 -ATPase proton pump is required for function of the proapoptotic protein Bax in yeast and mammalian cells. *Mol Cell*, 1998, **1**(3): 327~336
- 6 Xu Q, Reed J C. Bax inhibitor-1, a mammalian apoptosis suppressor identified by functional screening in yeast. *Mol Cell*, 1998, **1**(3): 337~346
- 7 Ameisen J C. The origin of programmed cell death. *Science*, 1996, **272**(5266): 1278~1279
- 8 Madeo F, Frohlich E, Frohlich K U. A yeast mutant showing diagnostic markers of early and late apoptosis. *J Cell Biol*, 1997, **139**: 729~734
- 9 Madeo F, Herker E, Wissing S, *et al.* Apoptosis in yeast. *Curr Opin Microbiol*, 2004, **7**(6): 655~660
- 10 Weinberger M, Ramachandran L, Feng L, *et al.* Apoptosis in budding yeast caused by defects in initiation of DNA replication. *J Cell Sci*, 2005, **118**(Pt 15): 3543~3553
- 11 Mazzoni C, Herker E, Palermo V, *et al.* Yeast caspase 1 links messenger RNA stability to apoptosis in yeast. *EMBO Rep*, 2005, **6**(11): 1076~1081
- 12 Hauptmann P, Riel C, Kunz-Schughart L A, *et al.* Defects in N-glycosylation induce apoptosis in yeast. *Mol Microbiol*, 2006, **59**(3): 765~778
- 13 Ren Q, Yang H, Rosinski M, *et al.* Mutation of the cohesin related gene PDS5 causes cell death with predominant apoptotic features in *Saccharomyces cerevisiae* during early meiosis. *Mutat Res*, 2005, **570**(2): 163~173
- 14 Laun P, Pichova A, Madeo F, *et al.* Aged mother cells of *Saccharomyces cerevisiae* show markers of oxidative stress and apoptosis. *Mol Microbiol*, 2001, **39**(5): 1166~1173
- 15 Fabrizio P, Battistella L, Vardavas R, *et al.* Superoxide is a mediator of an altruistic aging program in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Cell Biol*, 2004, **166**(7): 1055~1067
- 16 Herker E, Jungwirth H, Lehmann K A, *et al.* Chronological aging leads to apoptosis in yeast. *J Cell Biol*, 2004, **164**(4): 501~507
- 17 Váchová L, Devaux F, KucEROVÁ H, *et al.* Sok2p transcription factor is involved in adaptive program relevant for long term survival of *Saccharomyces cerevisiae* colonies. *J Biol Chem*, 2004, **279**(36): 37973~37981
- 18 Eisenberg T, Buttner S, Kroemer G, *et al.* The mitochondrial pathway in yeast. *Apoptosis*, 2007, **12**(5): 1011~1023
- 19 Buttner S, Eisenberg T, Herker E, *et al.* Why yeast cells can undergo apoptosis: death in times of peace, love and war. *J Cell Biol*, 2006, **175**(4): 521~525
- 20 Du L, Yu Y, Chen J, *et al.* Arsenic induces caspase-and mitochondria-mediated apoptosis in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Yeast Res*, 2007, **7**(6): 860~865
- 21 Liang J, Wu W L, Liu Z H, *et al.* Study the oxidative injury of yeast cells by NADH autofluorescence. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2007, **67**(2): 355~359
- 22 Liang Q, Zhou B. Copper and manganese induce yeast apoptosis via different pathways. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, 2007-09-19
- 23 Madeo F, Herker E, Maldener C, *et al.* A caspase-related protease regulates apoptosis in yeast. *Mol Cell*, 2002, **9**(4): 911~917
- 24 Mazzoni C, Herker E, Palermo V, *et al.* Yeast caspase 1 links messenger RNA stability to apoptosis in yeast. *EMBO Rep*, 2005, **6**(11): 1076~1081
- 25 Bettiga M, Calzari L, Orlandi I, *et al.* Involvement of the yeast metacaspase Yca1 in ubp10Delta-programmed cell death. *FEMS Yeast Res*, 2004, **5**(2): 141~147
- 26 Váchová L, Palková Z. Physiological regulation of yeast cell death in multicellular colonies is triggered by ammonia. *J Cell Biol*, 2005, **169**(5): 711~717
- 27 Váchoá L, Palkoá Z. Caspases in yeast apoptosis-like death: facts and artefacts. *FEMS Yeast Res*, 2007, **7**(1): 12~21
- 28 Dohi T, Okada K, Xia F, *et al.* An IAP-IAP complex inhibits apoptosis. *J Biol Chem*, 2004, **279**(33): 34087~34090
- 29 Fahrenkrog B, Sauder U, Aebi U. The *S. cerevisiae* HtrA-like protein Nma111p is a nuclear serine protease that mediates yeast apoptosis. *J Cell Sci*, 2004, **117**: 115~126
- 30 Riedl S J, Renatus M, Schwarzenbacher R, *et al.* Structural basis for the inhibition of caspase-3 by XIAP. *Cell*, 2001, **104**(5): 791~800
- 31 Walter D, Wissing S, Madeo F, *et al.* The inhibitor-of-apoptosis protein Bir1p protects against apoptosis in *S. cerevisiae* and is a substrate for the yeast homologue of Omi/HtrA2. *J Cell Sci*, 2006, **119**: 1843~1851
- 32 Wu M, Xu L G, Li X, *et al.* AMID, an apoptosis-inducing factor-homologous mitochondrion-associated protein, induces caspase-independent apoptosis. *J Biol Chem*, 2002, **277** (28): 25617~25623
- 33 Li W, Sun L, Liang Q, *et al.* Yeast AMID homologue Ndi1p displays respiration-restricted apoptotic activity and is involved in chronological aging. *Mol Biol Cell*, 2006, **17**(4): 1802~1811
- 34 Cheung W L, Ajiro K, Samejima K, *et al.* Apoptotic phosphorylation of histone H2B is mediated by mammalian sterile twenty kinase. *Cell*, 2003, **113**(4): 507~517
- 35 Ahn S H, Cheung W L, Hsu J Y, *et al.* Sterile 20 kinase phosphorylates histone H2B at serine 10 during hydrogen peroxide-induced apoptosis in *S. cerevisiae*. *Cell*, 2005, **120** (1): 25~36
- 36 Rigaut G, Shevchenko A, Rutz B, *et al.* A generic protein purification method for protein complex characterization and proteome exploration. *Nat Biotechnol*, 1999, **17**(10): 1030~1032
- 37 Heckman D S, Geiser D M, Eidell B R, *et al.* Molecular evidence for the early colonization of land by fungi and plants. *Science*, 2001, **293**(5532): 1129~1133
- 38 Hirabayashi M, Inoue K, Tanaka K, *et al.* VCP/p97 in abnormal protein aggregates, cytoplasmic vacuoles, and cell death, phenotypes relevant to neurodegeneration. *Cell Death Differ*, 2001, **8** (10): 977~984

- 39 Watts G D, Wymer J, Kovach M J, *et al.* Inclusion body myopathy associated with Paget disease of bone and frontotemporal dementia is caused by mutant valosin-containing protein. *Nat Genet*, 2004, **36** (4): 377~381
- 40 Braun R J, Zischka H, Madeo F, *et al.* Crucial mitochondrial impairment upon CDC48 mutation in apoptotic yeast. *J Biol Chem*, 2006, **281**(35): 25757~25767
- 41 Zhang H, Gajate C, Yu L P, *et al.* Mitochondrial-derived ROS in edelfosine-induced apoptosis in yeasts and tumor cells. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2007, **28**(6): 888~894
- 42 Flower T R, Chesnokova L S, Froelich C A, *et al.* Heat shock prevents alpha-synuclein-induced apoptosis in a yeast model of Parkinson's disease. *J Mol Biol*, 2005, **351**(5): 1081~1100
- 43 Chen Q, Thorpe J, Keller J N. Alpha-synuclein alters proteasome function, protein synthesis, and stationary phase viability. *J Biol Chem*, 2005, **280**(34): 30009~30017
- 44 Sokolov S, Pozniakovsky A, Bocharova N, *et al.* Expression of an expanded polyglutamine domain in yeast causes death with apoptotic markers. *Biochim Biophys Acta*, 2006, **1757** (5~6): 660~666
- 45 Yagi T, Seo B B, Nakamaru-Ogiso E, *et al.* Can a single subunit yeast NADH dehydrogenase (Ndi1) remedy diseases caused by respiratory complex I defects?. *Rejuvenation Res*, 2006, **9**(2): 191~197
- 46 Seo B B, Nakamaru-Ogiso E, Flotte T R, *et al.* *In vivo* complementation of complex I by the yeast Ndi1 enzyme. Possible application for treatment of Parkinson disease. *J Biol Chem*, 2006, **281**(20): 14250~14255
- 47 Unger R H, Orci L. Lipoapoptosis: its mechanism and its diseases. *Biochim Biophys Acta*, 2002, **1585**(2~3): 202~212
- 48 Zhang Q, Chieu H K, Low C P, *et al.* Schizosaccharomyces pombe cells deficient in triacylglycerols synthesis undergo apoptosis upon entry into the stationary phase. *J Biol Chem*, 2003, **278** (47): 47145~47155
- 49 Low C P, Liew L P, Pervaiz S, *et al.* Apoptosis and lipoapoptosis in the fission yeast Schizosaccharomyces pombe. *FEMS Yeast Res*, 2005, **5**(12): 1199~1206
- 50 Unger R H. Lipotoxic diseases. *Annu Rev Med*, 2002, **53**: 319~336
- 51 Cheng J, Park T S, Chio L C, *et al.* Induction of apoptosis by sphingoid long-chain bases in *Aspergillus nidulans*. *Mol Cell Biol*, 2003, **23**: 163~177
- 52 Mager W H, Winderickx J. Yeast as a model for medical and medicinal research. *Trends Pharmacol Sci*, 2005, **26**(5): 265~273
- 53 Uren G A, O' Rourke K, Aravind L, *et al.* Identification of paracaspases and metacaspases: two ancient families of caspase-like proteins, one of which plays a key role in MALT lymphoma. *Mol Cell*, 2000, **6**(4): 961~967
- 54 Harris S D, Read N D, Roberson R W, *et al.* microscopy, genetics, and genomics converge. *Eukaryot Cell*, 2005, **4**(2): 225~229

A New Model for Apoptosis Research: Yeast*

JIANG Qiao, LIN Lin, WANG Tian-Hong**

(State Key Laboratory of Microbial Technology, Shandong University, Jinan 250100, China)

Abstract Apoptosis is an organized suicide program which is evolutionally conserved from yeast to mammals. Research on yeast apoptosis has made rapid progress, though it remained unrecognized until recent years. Initial observations show that yeast can be induced to undergo apoptosis and a number of conserved pro- and antiapoptotic proteins have been identified in *Saccharomyces cerevisiae*. Yeast has been validated as a model organism to investigate mechanisms of apoptosis. Recently, yeast has also been used as a model to study apoptosis-related disease, such as Huntington's disease and Parkinson's disease. The feasibility, the advantages and the perspectives of yeast model for apoptosis research are reviewed.

Key words yeast, apoptosis, model organism, Huntington's disease, Parkinson's disease, lipoapoptosis

*This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (30470052, 30670029) and National Basic Research Program of China (2003CB716006, 2004CB719702).

**Corresponding author.

Tel: 86-531-88366118, E-mail: wangtianhong@sdu.edu.cn

Received: August 17, 2007 Accepted: September 27, 2007