



## 酵母 Sirtuins 在细胞寿命中的作用

李明光<sup>1</sup>, 姜勇<sup>1</sup>, 蔡建辉<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>吉林医药学院检验学院, 吉林 吉林 132013

<sup>2</sup>吉林医药学院胸外科, 吉林 吉林 132013

**摘要:** 酿酒酵母(以下简略为酵母)作为寿命分析模型广泛应用于寿命研究领域。酵母寿命分析方法有两种, 分别是复制型酵母寿命分析法和时序型酵母寿命分析法。目前, 通过酵母寿命分析模型已识别出包括 SIR2 在内的多个寿命调节基因。SIR2 是目前较好的被确立起来的寿命调节基因, 具有 NAD 依赖型脱乙酰化酶的活性, 从原核生物到真核生物都有良好的保守性。Sirtuins (Sir2 蛋白家族的总称)在细胞内具有功能上的多样性, 其中包括对于压力耐受的调节、基因转录的调节、代谢通路的调节以及寿命调节作用等。Sir2 是 Sirtuins 家族最早发现的成员, 其功能是参与异染色质结构域转录的沉默调节, 同时还参与复制型酵母寿命的调节。已证明, SIR2 的缺失会缩短酵母的寿命, 基因表达的增高会延长寿命。Sir2 的高等真核生物的同源蛋白也被证实参与衰老相关疾病的调节。本文中, 我们将阐述 Sir2 以及 Sir2 的酵母同源蛋白 Hst1-Hst4 的功能, 以及由它们调节的酵母寿命。

**关键词:** 酵母, 寿命, NAD, 脱乙酰化, 沉默, 代谢

蛋白质的乙酰化是翻译后期的一种修饰过程, 参与众多细胞内的代谢反应。蛋白质的乙酰化和脱乙酰化作用, 分别由组蛋白乙酰基转移酶(Histone acetylases, HATs)和组蛋白脱乙酰酶(Histone deacetylases, HDACs)来调节。基于系统进化分析法, 目前收录的组蛋白脱乙酰酶共分为四类(HDACs I–IV)。Sirtuins 属于三类组蛋白脱乙酰酶(HDAC III)。Sirtuins 与其他组蛋白脱乙酰酶在功能上的主要区别在于, Sirtuins 催化的脱乙酰

化反应需要有 NAD 的参与<sup>[1]</sup>。Sir2 最初是因其参与调节酵母交配型基因座 HML 和 HMR 的沉默作用而得以发现<sup>[2]</sup>。后来又相继发现了多个 Sir2 酵母同源蛋白, 包括 Hst1、Hst2、Hst3 以及 Hst4。其中 Hst1 和 Sir2 结构上最为接近, 并且 HST1 的过量表达可以抑制 SIR2 的缺失引起的交配型基因座沉默作用的减弱<sup>[3]</sup>。然而, Hst1 参与的转录的调控作用有别于 Sir2。Hst1 通常和 DNA 结合蛋白 Sum1 以蛋白复合物的形式共同参与调节下游基

基金项目: 吉林医药学院科研启动基金(2017kyqd001); 吉林医药学院大学生创新创业训练计划项目国家级(201813743019); 吉林省教育厅“十三五”科学技术研究项目(JJKH20191056KJ)

\*通信作者。Tel: +86-432-64560004; E-mail: jlmpe.cjh@163.com

收稿日期: 2018-08-15; 修回日期: 2018-10-21; 网络出版日期: 2018-12-06

因的表达。Hst1 参与调控的基因包括中间抽穗基因<sup>[4]</sup>, 原始 NAD 合成通路基因<sup>[5]</sup>, 以及维生素 B1 合成通路基因等<sup>[6]</sup>。Hst2 是 Sirtuins 家族中表达量最高的蛋白, 其活性的调节同样需要有 NAD 的参与<sup>[7]</sup>。Hst2 与 Hst1 共同抑制端粒附近基因的表达<sup>[8]</sup>。Hst2 同样参与调节核糖体 DNA 的沉默作用, 这一过程能够有效地抑制这一区域基因重组的发生<sup>[9-10]</sup>。Hst2 细胞内存在的位置不固定, Hst2 可以来往穿梭于细胞质和细胞核之间, 但是这一调节机理目前还不清楚<sup>[11]</sup>。HST 单个基因的缺失不会引起染色质沉默作用的减弱, 然而 HST3 和 HST4 的共同缺失会引起端粒沉默作用的减弱, 同时会影响细胞周期的进程以及基因组不稳定性的增高<sup>[3]</sup>。这些影响有可能是因为组蛋白 H3 的 56 号位赖氨酸(H3K56)持续性乙酰化造成的。有报导指出, H3K56 的乙酰化有助于调节沉默作用以及细胞内异染色质的形成<sup>[12]</sup>。研究发现, 酵母由厌氧发酵向有氧呼吸生长期的过渡阶段(酵母的二次生长过渡期), Sir2 与 Hst1 调节的糖酵解通路基因、核糖体蛋白编码基因与高等真核生物 SIRT6 调节的小鼠代谢调控基因有着大量的重叠<sup>[13-15]</sup>。与之对应, 高等真核生物 Sirtuins 调节的与衰老相关的代谢反应有, SIRT1 在脂类的代谢以及肿瘤的发生发展过程中起着重要的调节作用<sup>[16]</sup>。SIRT3 通过增加老化细胞的抗氧化能力, 从而提高人脐带间充质干细胞对于老年缺血性心脏病的治疗效果<sup>[17]</sup>。SIRT3 的过量表达也可以通过增加线粒体的合成来抑制肾脏肿瘤细胞的生长<sup>[18]</sup>。大部分 SIRT7 基因敲除小鼠胚胎细胞在胚胎发育的后期会死亡, 小部分出生后也会表现出老化加速的现象, 与之对应的表现型有体重的减轻、脂肪含量的减少、造血干细胞的损坏、胰岛素样生长因子(IGF-1)表达量的降低。SIRT7 基因敲除小鼠同时

表现出多器官功能的衰竭与失调<sup>[19]</sup>。SIRT6 基因缺陷型小鼠会通过诱导肿瘤的发生以及代谢的紊乱, 引起小鼠寿命的缩短<sup>[13]</sup>。这些研究预示着 Sirtuins 调节的代谢反应在酵母与高等真核生物之间存在着良好的保守性。此篇综述中我们将详细论述酵母 Sirtuins 的功能, 以及由它们调节的酵母寿命。

## 1 酵母寿命分析法

酵母寿命分析有两种方式: 复制型酵母寿命分析(Replicative lifespan, RLS)和时序型酵母寿命分析(Chronological lifespan, CLS)。复制型酵母寿命分析是通过母细胞一生当中产生的子细胞的数目, 也就是经历有丝分裂的次数来判断<sup>[20-21]</sup>。时序型酵母寿命分析是通过有丝分裂停止后细胞还能够继续存活的天数来定义。复制型酵母寿命分析的具体操作是, 在孢子四合体分离显微镜下从同一个母细胞上不断分离子细胞, 直到母细胞停止分裂为止。时序型酵母寿命分析是, 先将酵母培养至饱和状态, 之后每隔 2 d 取少量滴定在富含营养成分的酵母琼脂培养基皿上, 观察酵母重新进入有丝分裂的能力。酵母寿命分析被广泛应用于寿命调节基因的识别过程中, 其中包括我们下文详细叙述的 Sir2 调节的寿命。

## 2 Sir2 调节的酵母寿命

### 2.1 Sir2 催化的组蛋白脱乙酰化反应对于沉默作用的调节

SIR2 是目前为止较好的被确立起来的寿命调节基因。在酵母中, Sir2 以蛋白复合物的形式参与调节细胞内异染色质结构域的沉默作用。根据调节位置的不同, Sir2 形成的复合物有所不同。

Sir2、Sir3 以及 Sir4 形成的复合物参与调节交配型基因座 HML、HMR 以及端粒的沉默作用<sup>[22-24]</sup>。Sir2、Net1 以及 Cdc14 形成的复合物参与调节核糖体 DNA 的沉默作用<sup>[23-24]</sup>。在不同的蛋白复合物中，Sir2 催化的组蛋白脱乙酰化反应对于维持特定染色质结构域的沉默起着重要的作用。Sir2 催化的组蛋白脱乙酰化反应需要有 NAD 的参与。NAD 通过水解释放出烟碱(Nicotinamide, NAM)与 ADP 核糖，二者参与到脱乙酰化反应当中，最终生成 3 个代谢产物，其中包括脱去乙酰基的组蛋白、烟碱以及乙酰化的核糖(图 1)。Sir2 催化组蛋白脱乙酰化反应,其中的代谢产物烟碱对于 Sir2 的活性起着负反馈抑制作用。在酵母培养液中，加入烟碱(5 mmol/L)可以有效地抑制内源性 Sir2 的活性，从而缓解核糖体 DNA、交配型基因座以及端粒的沉默作用<sup>[25]</sup>。

## 2.2 Sir2 调节的沉默作用与酵母寿命的关系

### 2.2.1 Sir2 调节的酵母交配型基因座以及端粒的沉默作用：在交配型基因座 HML 和 HMR、Sir2、

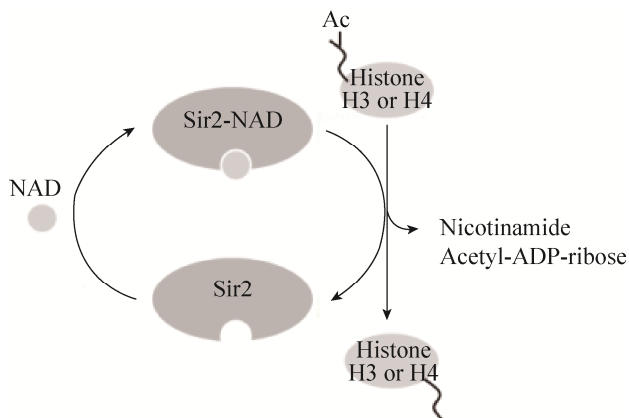


图 1. Sir2 催化的组蛋白脱乙酰化反应

Figure 1. Sir2 mediated histone deacetylation. Sir2 requires NAD to perform deacetylation reactions. After reaction, it produces three metabolites, deacetylated histone, nicotinamide and O-acetyl-ADP-ribose.

Sir3 以及 Sir4 形成的蛋白复合物(Sir 蛋白复合物)被招募到含有沉默子 E 和 I 的顺式反应序列里。沉默子内部含有 Rap1、ORC 以及 Abf1 蛋白的结合位点。这些蛋白负责招募 Sir 蛋白复合物结合到沉默子上<sup>[26-27]</sup>。结合后的 Sir 蛋白复合物对邻近的组蛋白 H3 和 H4 脱乙酰化，这一过程有助于 Sir 蛋白复合物在沉默子间的移动传播<sup>[28-29]</sup>，从而对于整个交配型基因座起到了沉默作用。

端粒沉默作用的调节需要有 Sir 蛋白复合物和 Rap1 蛋白的共同参与。Sir2 和 Sir4 首先结合，形成的蛋白复合物被 Rap1 蛋白招募到端粒。Sir2 对于邻近组蛋白有脱乙酰化作用,进一步招募 Sir3 加入到这一蛋白复合物中,形成的 Sir 蛋白复合物向端粒的远端移动<sup>[28]</sup>，从而沉默整个端粒结构域。组蛋白末端多个赖氨酸残基的脱乙酰化作用，被认为是维持特定染色质结构域沉默状态的必要机制<sup>[30]</sup>，其中以组蛋白 H4 的 16 号位赖氨酸残基(H4K16)的脱乙酰化作用尤为重要。

### 2.2.2 Sir2 调节的酵母核糖体 DNA 的沉默作用：

核糖体 DNA 的沉默调节同样需要有 Sir2 的参与<sup>[31]</sup>。研究显示,Sir 蛋白复合物中的 Sir3 或 Sir4 基因的去除有助于缓解端粒以及交配型基因座的沉默作用，却会引起核糖体 DNA 沉默作用的增强。这一结果预示了，核糖体 DNA 的沉默调节有别于其他位置。酵母核糖体 DNA 由 150–200 个重复序列构成，每个重复序列由 RNA 聚合酶 I 转录的 35S 核糖体 DNA 和基因间隔区(Intergenic spacer, IGS)组成。每个基因间隔区又被 RNA 聚合酶 III 调节的 5S 核糖体 DNA 分为 IGS1 和 IGS2 两个部分<sup>[31]</sup>。后来的研究显示，核糖体 DNA 的沉默作用是由 Sir2、Net1 以及 Cdc14 构成的 RENT 蛋白复合物来调解的<sup>[31]</sup>。

**2.2.3 Sir2 调节的酵母寿命:** Sir2 调节的复制型酵母寿命是通过间接的方式发现的。1995 年, 美国马萨诸塞大学的肯尼迪博士筛选了一批压力耐受型酵母菌株, 分析发现这些菌株都不同程度延长了酵母的复制型寿命<sup>[32]</sup>。基因组测序结果显示, 其中的某些菌株带有末端缺失型 SIR4 基因。Sir4 的 C 端缺失阻碍了 Sir 蛋白复合物招募到端粒以及交配型基因座 HML 和 HMR<sup>[33]</sup>。细胞内大量游离的 Sir2 转移至核糖体 DNA, 并且加强了核糖体 DNA 的沉默作用, 从而抑制了这一区域基因重组的发生, 导致了酵母寿命的延长<sup>[32-33]</sup>。

目前学者普遍认为, 核糖体 DNA 的稳定性与酵母复制型寿命有着密切的关系。核糖体同源基因重组率的提高以及不对称染色单体互换的增多会引起核糖体 DNA 片段的游离, 游离出的单个或多个核糖体 DNA 通过自行封闭形成环状结构 (extra chromosomal circles, ERCs)。进一步研究显示, 每一个核糖体 DNA 片段含有自主复制序列 (ARS element), 因此 ERCs 结构可以自行复制。然而, ERCs 不含有着丝粒, 所以只能作为含有自主复制序列的质粒, 在有丝分裂过程中不对称地分布到母细胞和子细胞当中<sup>[34]</sup>。ERCs 在 S 期复制, 大量聚集在母细胞中<sup>[34]</sup>, 酵母细胞内 SIR2 基因的去除了会导致核糖体 DNA 重组率的提高, 从而增加了核糖体 DNA 的不稳定性以及 ERCs 的形成<sup>[31]</sup>。与之相对, SIR2 的表达抑制了核糖体 DNA 的重组率, 降低了 ERCs 的形成, 从而延长了酵母的复制型寿命<sup>[31]</sup>。也有学者认为, 核糖体 DNA 的不稳定性足以影响复制型酵母寿命, 这一过程与细胞内 ERCs 的含量无关<sup>[35]</sup>。因为学者发现, 细胞内 ERCs 水平降低状态下, 同样会伴有酵母寿命的缩短<sup>[35]</sup>。由此可以看出, ERCs 的含量与酵母寿命的关系目前尚无定论, 但是可以明确

的是, 核糖体 DNA 的不稳定性导致的基因重组率的提高, 是影响复制型酵母寿命的重要因素。

在调节酵母时序型寿命过程中, SIR2 表现出与调节复制型寿命相反的结果。根据选用菌株的不同, 有些 SIR2 缺失变异菌株表现出轻微的时序型寿命的延长, 而有些则没有变化<sup>[36-38]</sup>。如果培养酵母至饱和状态, 然后将其转移至水中继续培养, 酵母寿命明显延长, 而 SIR2 的缺失会在此基础上进一步延长酵母的时序型寿命<sup>[36]</sup>。Sir2 调节的复制型寿命和时序型寿命的不同, 有可能是由于两种寿命分析法反映的细胞内代谢途径不同而造成的。复制型寿命分析反映的是有丝分裂过程中酵母的代谢状况, 而时序型寿命分析表述的是有丝分裂停止后的酵母代谢状况。

### 2.3 其他 Sirtuins 参与调节的酵母寿命

除了 Sir2 之外, 酵母内还有其他四个 Sir2 蛋白家族成员, 分别是 Hst1、Hst2、Hst3 以及 Hst4。这些 Sirtuins 保留 Sir2 的核心结构域, 因此具备了 NAD 依赖型脱乙酰酶的活性。它们的区别在于各自拥有不同的末端结构域。Sirtuins 末端的差异, 导致了这些蛋白质功能上的不同, 细胞内存在位置的不同, 以及结合蛋白的不同<sup>[3]</sup>。

Hst1 通常和 Sum1 或是 Rfm1 以蛋白复合物的形式参与对某些特定基因的抑制作用。这一过程是通过蛋白复合物与下游基因的启动子结合, 脱去组蛋白上的乙酰基来完成的<sup>[4,39]</sup>。其中, Hst1 和 Sum1 参与调控的基因有某些中间抽穗基因<sup>[4]</sup>、NAD 合成通路基因<sup>[39]</sup>以及维生素 B1 合成通路基因<sup>[6]</sup>。免疫染色质沉淀测序结果显示, Hst1、Sum1、Sir2 与糖酵解通路主要基因的可读框结合, 调节酵母由厌氧发酵向有氧呼吸生长期的过渡(酵母的二次生长过渡期)<sup>[15]</sup>。HST1 缺失型酵母菌株无

法在二次生长过渡期有效的抑制糖酵解通路基因的表达,这可能是导致 HST1 缺失菌株时序型寿命缩短的原因<sup>[37]</sup>。HST1 在特定的条件下也会影响酵母的复制型寿命,在 SIR2 与 PDE2 双基因突变体菌株内,HST1 基因的缺失会缩短酵母复制型寿命<sup>[40]</sup>。HST1 或 SUM1 的缺失会引起 NAD 合成基因表达量的提高,这一结果会直接导致酵母内 NAD 浓度的提高<sup>[5]</sup>。因此,酵母内 NAD 动态平衡的改变也有可能是影响复制型与时序型寿命的原因。

Hst2 是唯一存在于细胞质的 Sirtuin<sup>[10]</sup>。Hst2 拥有富含亮氨酸的核外输出序列,因此能够有效地从细胞核内转移至细胞质中<sup>[11]</sup>。有学者发现,HST2 的过量表达在削弱端粒沉默作用的同时,增强了核糖体 DNA 的沉默作用<sup>[9-10]</sup>。造成这一结果的原因可能是,在端粒附近 Hst2 与 Sir2 竞争与某一未知蛋白的结合,游离的 Sir2 转移至核糖体 DNA,加强了这一位置的沉默作用<sup>[10]</sup>。据报道,HST2 同样参与调节卡路里限量引起的酵母寿命延长。HST2 基因的缺失可以阻止卡路里限量诱导的复制型寿命延长<sup>[9]</sup>。

Hst3 与 Hst4 共同调节组蛋白 H3 的 56 号位赖氨酸(H3K56)的脱乙酰化反应<sup>[12,41]</sup>,因此二者在调节基因组稳定性上存在着功能上的互补关系。虽然 Hst3 与 Hst4 的作用靶点都是 H3K56,但是 Hst3 的脱乙酰化作用占据了主导地位<sup>[42-43]</sup>。HST3 与 HST4 双基因突变体菌株表现出了基因组的不稳定性,主要体现在对于端粒沉默作用的减弱,以及核糖体 DNA 重组率的提高等方面<sup>[3,44]</sup>。HST4 基因删除菌株对于复制型寿命几乎没有影响,然而 HST3 与 HST4 双重突变体菌株表现出寿命的严重缩短,这是由于菌株内部基因组不稳定性显著增高引起的<sup>[42]</sup>。HST3 和 HST4 的缺失对于时序型

酵母寿命的影响与复制型酵母寿命相似。HST3 缺失菌株缩短时序型寿命,而 HST4 缺失菌株仅有轻微的影响<sup>[37]</sup>。有趣的是,通过去除乙酰化组蛋白的伴侣蛋白编码基因 ASF1,或者去除 H3K56 的乙酰基转移酶编码基因 RTT109 来削弱 H3K56 的乙酰化水平,这些作用对于时序型酵母寿命没有影响<sup>[45]</sup>,因此预示了酵母内 H3K56 的乙酰化水平与时序型寿命无关。研究发现,TDH2 基因的去除了可以挽救 HST3 和 HST4 双重突变体菌株引起的时序型寿命缩短<sup>[45]</sup>。TDH2 编码甘油醛-3-磷酸脱氢酶,参与调节糖酵解通路,因此预示了 HST3 和 HST4 双基因突变体菌株引起的时序型寿命缩短与酵母的糖代谢有关。综上所述,到目前为止我们可以明确的是,所有酵母 Sirtuins 家族成员都以各自不同的方式影响着酵母的寿命。我们未来的工作在于,识别更多 Sirtuins 的靶向基因或蛋白,这有助于深入了解 Sirtuins 调节的酵母寿命作用机理。

### 3 展望

SIR2 是目前较好的被确立起来的寿命调节基因。SIR2 的寿命调节功能除了上述的酿酒酵母之外,同样体现在其他的物种。有报导指出,Sir2 作用于叉头框转录因子 daf16 的上游,通过干预胰岛素样生长因子通路来调控秀丽线虫的寿命<sup>[46]</sup>。对这一结果起支持作用的研究还有,PAR-5 和 FTT2(二者属于秀丽线虫的 14-3-3 蛋白)的表达同样可以延长秀丽线虫的寿命。秀丽线虫的两个 14-3-3 蛋白与 daf16,还有 Sir2 以蛋白复合物的形式相互作用,共同参与秀丽线虫的寿命调节<sup>[47]</sup>。Sir2 同样参与另一生物模型果蝇的寿命调节。果蝇的寿命在一定区间内呈现出对于 Sir2 的计量依

赖性增长, 但 Sir2 的过量表达会造成细胞毒性作用<sup>[48-49]</sup>, 同样的结果在以酵母为模型生物的实验同样被观察到<sup>[50]</sup>。由此可见, SIR2 作为寿命调节基因, 参与的生物体寿命调节过程具有广泛性和普遍性, 而不是仅仅局限于某一特定的物种。今后的研究重点应着眼于不断揭示 Sir2 的寿命调节机理。与此目的相符, 我们之前通过免疫染色质沉淀测序技术识别与描述了酵母 Sirtuins 在染色体内的分布状况。研究发现, Sir2 蛋白广泛结合于酵母的端粒、转运核糖核酸(tRNA)以及多个糖代谢通路调节基因的 readable 框内。当酵母生长由厌氧发酵向有氧呼吸转化过程中, Sir2 与糖代谢通路基因 readable 框的结合有助于酵母顺利过渡到有氧呼吸生长期。Sir2 与端粒的结合, 参与调控端粒的长度。Sir2 与染色质构象调节蛋白(如凝缩蛋白以及黏连蛋白)分享某些染色质上特定的结合位点, 而 Sir2 蛋白有助于吸引凝缩蛋白结合到这些 DNA 位点上<sup>[15]</sup>, 这些结果都将为今后深入探讨 Sirtuins 调节的寿命机理提供有利的线索。

## 参 考 文 献

- [1] Sauve AA, Celic I, Avalos J, Deng HT, Boeke JD, Schramm VL. Chemistry of gene silencing: the mechanism of NAD<sup>+</sup>-dependent deacetylation reactions. *Biochemistry*, 2001, 40(51): 15456-15463.
- [2] Rine J, Herskowitz I. Four genes responsible for a position effect on expression from *HML* and *HMR* in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, 1987, 116(1): 9-22.
- [3] Brachmann CB, Sherman JM, Devine SE, Cameron EE, Pillus L, Boeke JD. The *SIR2* gene family, conserved from bacteria to humans, functions in silencing, cell cycle progression, and chromosome stability. *Genes & Development*, 1995, 9(23): 2888-2902.
- [4] Xie JX, Pierce M, Gailus-Durner V, Wagner M, Winter E, Vershon AK. Sum1 and Hst1 repress middle sporulation-specific gene expression during mitosis in *Saccharomyces cerevisiae*. *The EMBO Journal*, 1999, 18(22): 6448-6454.
- [5] Bedalov A, Hirao M, Posakony J, Nelson M, Simon JA. NAD<sup>+</sup>-dependent deacetylase Hst1p controls biosynthesis and cellular NAD<sup>+</sup> levels in *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular and Cellular Biology*, 2003, 23(19): 7044-7054.
- [6] Li MG, Petteys BJ, McClure JM, Valsakumar V, Bekiranov S, Frank EL, Smith JS. Thiamine biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae* is regulated by the NAD<sup>+</sup>-dependent histone deacetylase Hst1. *Molecular and Cellular Biology*, 2010, 30(13): 3329-3341.
- [7] Smith JS, Brachmann CB, Celic I, Kenna MA, Muhammad S, Starai VJ, Avalos JL, Escalante-Semerena JC, Grubmeyer C, Wolberger C, Boeke JD. A phylogenetically conserved NAD<sup>+</sup>-dependent protein deacetylase activity in the Sir2 protein family. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, 97(12): 6658-6663.
- [8] Halme A, Bumgarner S, Styles C, Fink GR. Genetic and epigenetic regulation of the *FLO* gene family generates cell-surface variation in yeast. *Cell*, 2004, 116(3): 405-415.
- [9] Lamming DW, Latorre-Esteves M, Medvedik O, Wong SN, Tsang FA, Wang C, Lin SJ, Sinclair DA. *HST2* mediates *SIR2*-independent life-span extension by calorie restriction. *Science*, 2005, 309(5742): 1861-1864.
- [10] Perrod S, Cockell MM, Laroche T, Renauld H, Ducrest AL, Bonnard C, Gasser SM. A cytosolic NAD-dependent deacetylase, Hst2p, can modulate nucleolar and telomeric silencing in yeast. *The EMBO Journal*, 2001, 20(1-2): 197-209.
- [11] Wilson JM, Le VQ, Zimmerman C, Marmorstein R, Pillus L. Nuclear export modulates the cytoplasmic Sir2 homologue Hst2. *EMBO Reports*, 2006, 7(12): 1247-1251.
- [12] Celic I, Masumoto H, Griffith WP, Meluh P, Cotter RJ, Boeke JD, Verreault A. The sirtuins Hst3 and Hst4p preserve genome integrity by controlling histone H3 lysine 56 deacetylation. *Current Biology*, 2006, 16(13): 1280-1289.
- [13] Tasselli L, Zheng W, Chua KF. SIRT6: novel mechanisms and links to aging and disease. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 2017, 28(3): 168-185.

- [14] Zhong L, Mostoslavsky R. SIRT6: a master epigenetic gatekeeper of glucose metabolism. *Transcription*, 2010, 1(1): 17–21.
- [15] Li MG, Valsakumar V, Poorey K, Bekiranov S, Smith JS. Genome-wide analysis of functional sirtuin chromatin targets in yeast. *Genome Biology*, 2013, 14(5): R48.
- [16] Simmons GE Jr, Pruitt WM, Pruitt K. Diverse roles of SIRT1 in cancer biology and lipid metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, 16(1): 950–965.
- [17] Zhang DY, Zhang CF, Fu BC, Sun L, Wang XQ, Chen W, Liu W, Liu KY, Du GQ, Ma CY, Jiang SL, Li RK, Tian H. Sirtuin3 protects aged human mesenchymal stem cells against oxidative stress and enhances efficacy of cell therapy for ischaemic heart diseases. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2018, 22(11): 5504–5517.
- [18] Liu H, Li SY, Liu XH, Chen YL, Deng HT. SIRT3 overexpression inhibits growth of kidney tumor cells and enhances mitochondrial biogenesis. *Journal of Proteome Research*, 2018, 17(9): 3143–3152.
- [19] Vazquez BN, Thackray JK, Serrano L. Sirtuins and DNA damage repair: SIRT7 comes to play. *Nucleus*, 2017, 8(2): 107–115.
- [20] Sutphin GL, Delaney JR, Kaerberlein M. Replicative lifespan analysis in budding yeast//Smith JS, Burke DJ. *Yeast Genetics: Methods and Protocols*. New York, NY: Humana Press, 2014: 341–357.
- [21] Postnikoff SDL, Harkness TAA. Replicative and chronological life-span assays//Xiao W. *Yeast Protocols*. New York, NY: Humana Press, 2014: 223–227.
- [22] Moretti P, Freeman K, Coodly L, Shore D. Evidence that a complex of SIR proteins interacts with the silencer and telomere-binding protein RAP1. *Genes & Development*, 1994, 8(19): 2257–2269.
- [23] Ghidelli S, Donze D, Dhillon N, Kamakaka RT. Sir2p exists in two nucleosome-binding complexes with distinct deacetylase activities. *The EMBO Journal*, 2001, 20(16): 4522–4535.
- [24] Wierman MB, Smith JS. Yeast sirtuins and the regulation of aging. *FEMS Yeast Research*, 2014, 14(1): 73–88.
- [25] Gallo CM, Smith DL Jr, Smith JS. Nicotinamide clearance by Pnc1 directly regulates Sir2-mediated silencing and longevity. *Molecular and Cellular Biology*, 2004, 24(3): 1301–1312.
- [26] Dodson AE, Rine J. Heritable capture of heterochromatin dynamics in *Saccharomyces cerevisiae*. *eLife*, 2015, 4: e05007.
- [27] Rusche LN, Kirchmaier AL, Rine J. The establishment, inheritance, and function of silenced chromatin in *Saccharomyces cerevisiae*. *Annual Review of Biochemistry*, 2003, 72: 481–516.
- [28] Hoppe GJ, Tanny JC, Rudner AD, Gerber SA, Danaie S, Gygi SP, Moazed D. Steps in assembly of silent chromatin in yeast: Sir3-independent binding of a Sir2/Sir4 complex to silencers and role for Sir2-dependent deacetylation. *Molecular and Cellular Biology*, 2002, 22(12): 4167–4180.
- [29] Rusché LN, Kirchmaier AL, Rine J. Ordered nucleation and spreading of silenced chromatin in *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular Biology of the Cell*, 2002, 13(7): 2207–2222.
- [30] Suka N, Suka Y, Carmen AA, Wu JS, Grunstein M. Highly specific antibodies determine histone acetylation site usage in yeast heterochromatin and euchromatin. *Molecular Cell*, 2001, 8(2): 473–479.
- [31] Gartenberg MR, Smith JS. The nuts and bolts of transcriptionally silent chromatin in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, 2016, 203(4): 1563–1599.
- [32] Kennedy BK, Austriaco NR Jr, Zhang JS, Guarente L. Mutation in the silencing gene *S/R4* can delay aging in *S. cerevisiae*. *Cell*, 1995, 80(3): 485–496.
- [33] Kennedy BK, Gotta M, Sinclair DA, Mills K, McNabb DS, Murthy M, Pak SM, Laroche T, Gasser SM, Guarente L. Redistribution of silencing proteins from telomeres to the nucleolus is associated with extension of life span in *S. cerevisiae*. *Cell*, 1997, 89(3): 381–391.
- [34] Sinclair DA, Guarente L. Extrachromosomal rDNA circles—a cause of aging in yeast. *Cell*, 1997, 91(7): 1033–1042.
- [35] Ganley ARD, Ide S, Saka K, Kobayashi T. The effect of replication initiation on gene amplification in the rDNA and its relationship to aging. *Molecular Cell*, 2009, 35(5): 683–693.
- [36] Fabrizio P, Gattazzo C, Battistella L, Wei M, Cheng C, McGrew K, Longo VD. Sir2 blocks extreme life-span extension. *Cell*, 2005, 123(4): 655–667.

- [37] Smith DL Jr, McClure JM, Matecic M, Smith JS. Calorie restriction extends the chronological lifespan of *Saccharomyces cerevisiae* independently of the Sirtuins. *Aging Cell*, 2007, 6(5): 649–662.
- [38] Wu ZY, Song LX, Liu SQ, Huang DJ. A high throughput screening assay for determination of chronological lifespan of yeast. *Experimental Gerontology*, 2011, 46(11): 915–922.
- [39] McCord R, Pierce M, Xie JX, Wonkatal S, Mickel C, Vershon AK. Rfm1, a novel tethering factor required to recruit the Hst1 histone deacetylase for repression of middle sporulation genes. *Molecular and Cellular Biology*, 2003, 23(6): 2009–2016.
- [40] Kang WK, Devare M, Kim JY. *HST1* increases replicative lifespan of a *sir2Δ* mutant in the absence of *PDE2* in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Microbiology*, 2017, 55(2): 123–129.
- [41] Maas NL, Miller KM, DeFazio LG, Toczyski DP. Cell cycle and checkpoint regulation of histone H3 K56 acetylation by Hst3 and Hst4. *Molecular Cell*, 2006, 23(1): 109–119.
- [42] Tsuchiya M, Dang N, Kerr EO, Hu D, Steffen KK, Oakes JA, Kennedy BK, Kaerberlein M. Sirtuin-independent effects of nicotinamide on lifespan extension from calorie restriction in yeast. *Aging Cell*, 2006, 5(6): 505–514.
- [43] Dahlin JL, Chen XY, Walters MA, Zhang ZG. Histone-modifying enzymes, histone modifications and histone chaperones in nucleosome assembly: lessons learned from Rtt109 histone acetyltransferases. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 2015, 50(1): 31–53.
- [44] Ide S, Saka K, Kobayashi T. Rtt109 prevents hyper-amplification of ribosomal RNA genes through histone modification in budding yeast. *PLoS Genetics*, 2013, 9(4): e1003410.
- [45] Hachinohe M, Yamane M, Akazawa D, Ohsawa K, Ohno M, Terashita Y, Masumoto H. A reduction in age-enhanced gluconeogenesis extends lifespan. *PLoS One*, 2013, 8(1): e54011.
- [46] Tissenbaum HA, Guarente L. Increased dosage of a *sir-2* gene extends lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 2001, 410(6825): 227–230.
- [47] Berdichevsky A, Viswanathan M, Horvitz HR, Guarente L. *C. elegans* SIR-2.1 interacts with 14-3-3 proteins to activate DAF-16 and extend life span. *Cell*, 2006, 125(6): 1165–1177.
- [48] Rogina B, Helfand SL. Sir2 mediates longevity in the fly through a pathway related to calorie restriction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(45): 15998–16003.
- [49] Whitaker R, Faulkner S, Miyokawa R, Burhenn L, Henriksen M, Wood JG, Helfand SL. Increased expression of *Drosophila* Sir2 extends life span in a dose-dependent manner. *Aging (Albany NY)*, 2013, 5(9): 682–691.
- [50] Matecic M, Stuart S, Holmes SG. *SIR2*-induced inviability is suppressed by histone H4 overexpression. *Genetics*, 2002, 162(2): 973–976.



## Sirtuins mediated lifespan regulation in *Saccharomyces cerevisiae*

Mingguang Li<sup>1</sup>, Yong Jiang<sup>1</sup>, Jianhui Cai<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Laboratory Medicine, Jilin Medical University, Jilin 132013, Jilin Province, China

<sup>2</sup> Department of Surgery, Jilin Medical University, Jilin 132013, Jilin Province, China

**Abstract:** *Saccharomyces cerevisiae* is a commonly used aging model. Aging in yeast is assayed primarily by measuring replicative lifespan (RLS) or chronological lifespan (CLS). Several longevity factors have been identified through RLS and CLS studies, including Sirtuins (Sir2 protein family members). Sirtuins are well-known aging factors and a class of NAD dependent protein deacetylases that are evolutionarily conserved from prokaryotes to higher eukaryotes. Sirtuins exhibit multiple intracellular functions, including stress response, gene transcription, cellular metabolism, and longevity. The Sir2 protein is the founding sirtuin family member that functions in transcriptional silencing of heterochromatin domains and as a pro longevity factor for replicative lifespan. Deleting SIR2 shortens replicative lifespan, while increased gene dosage causes extension. Furthermore, Sir2 homologs in higher eukaryotes have been implicated in mediating age related diseases as well. In this review, we summarize the role of Sir2 and its yeast homologs, Hst1 through Hst4, in replicative aging and chronological aging.

**Keywords:** *Saccharomyces cerevisiae*, lifespan, NAD, deacetylation, silencing, metabolism

(本文责编: 张晓丽)

---

Supported by the Start Funding of Jilin Medical University (2017kyqd001), by the Jilin Medical University Student Innovation and Entrepreneurship Training Project (201813743019) and by the Jilin Provincial Department of Education, "13th Five-Year" Scientific and Technological Research Project (JJKH20191056KJ)

\*Corresponding author. Tel: +86-432-64560004; E-mail: jlmpe.cjh@163.com

Received: 15 August 2018; Revised: 21 October 2018; Published online: 6 December 2018