

酿酒酵母耐受单萜类化合物的机理研究进展

刘继栋, 周景文*, 陈坚

江南大学工业生物技术教育部重点实验室, 生物工程学院, 无锡 214122

摘要: 增强酿酒酵母对单萜的耐受性对于利用其生产单萜和利用含有单萜的生物物质均具有重要意义。深入了解酿酒酵母应对单萜胁迫机理有助于构建一株较高单萜耐受性的酵母菌株, 该菌株将有助于更高效率的单萜生产效率。研究表明, 单萜会破坏酿酒酵母体内的氧化还原平衡, 造成活性氧积累并进而导致菌体死亡。为了应对单萜诱发氧胁迫造成的损伤, 酿酒酵母需要系统提升其抗氧化能力。本文归纳了酿酒酵母耐受多种典型单萜化合物胁迫机制的研究进展, 并从酿酒酵母自身抗氧化机制方面, 介绍了酿酒酵母应对氧胁迫的策略, 并提出了进一步研究的方向。

关键词: 酿酒酵母, 单萜, 细胞膜, 氧胁迫, 活性氧

中图分类号: Q935 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2013) 06-0531-07

单萜是一系列由两分子异戊二烯组成的 C_{10} 结构的化合物的总称, 广泛应用于香料、医药、化工及食品等领域中。作为植物精油的主要组成成分, 单萜目前主要从天然芳香植物中萃取得到^[1]。然而, 此方法受到原料季节性限制、农药残留及成分复杂等因素影响。在微生物中引入来源于植物的单萜合成途径利用廉价的生物基质用以生产单萜, 因其原料来源广泛、产物单一且生产周期较快, 日益得到研究者的关注。酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 因其遗传背景清晰, 且植物来源的萜类合成基因更易于在真核酿酒酵母中进行表达等因素, 得到研究者的重视并被较多的用于单萜生产的宿主。此外, 由于酿酒酵母细胞质中存在以乙酰 CoA (Acetyl-CoA) 起始的甲羟戊酸途径 (MVA pathway), 可以提供单萜生物合成的前体——牻牛儿基焦磷酸 (GPP)^[2], 为单萜化合物的异源合成提供了可能。迄今, 代谢工程改造生产单萜在酿酒酵母体内已经有成功的报

道^[3]。

酿酒酵母代谢工程改造生产单萜的研究起步较晚, 目前利用重组酿酒酵母生产单萜效率仍然较低, 尚停留在实验室基于分子操作构建菌株阶段。2007年 Oswald 等^[4] 在酿酒酵母中表达了源于罗勒 (*Ocimum basilicum*) 的香叶醇合成酶 (Geraniol synthase), 得到了 0.5 mg/L 的产物香叶醇 (geraniol)。2011年, 该科研团队通过共表达香叶醇合成酶与点突变后的 GPP 合成酶 (*ERG20*^{K197G}) 后, 香叶醇的产量提到高 5 mg/L^[3]。Igneia 等^[5] 通过在酿酒酵母中过量表达单萜合成途径中的 3 个关键基因 *HMG2*^{K6R}、*ID11* 及 *ERG20*, 使得单萜桉树脑 (Cineole) 的产量达到 1.2 g/L, 表明代谢工程改造酿酒酵母高效生产单萜化合物存在巨大的潜力。然而, 由于酿酒酵母对不同单萜类化合物的耐受性存在较大差异^[6] (表 1), 给代谢工程改造酿酒酵母高效生产这些化合物带来了严峻的挑战。

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (31000807); 江苏省自然科学基金项目 (BK2010150)

* 通信作者。Tel: +86-510-85329031; Fax: +86-510-85918309; E-mail: zhoujw1982@jiangnan.edu.cn

作者简介: 刘继栋 (1980-), 男, 山东梁山人, 2009 级博士研究生, 主要从事代谢工程改造酿酒酵母生产单萜方面的研究。E-mail: liuan6126@126.com

收稿日期: 2012-12-23; **修回日期:** 2013-02-12

表 1. 酿酒酵母最低耐受浓度
Table 1. Minimum inhibition concentration (MIC)
of monoterpenes to *S. cerevisiae*

Monoterpenes	MIC /%	References
β -pinene	0.02	[7]
Linalool	0.02	[7]
D-Limonene	0.015	[6, 8]
α -Terpinene	0.02	[9]
Geraniol	0.046	[10]
Essential oils	0.004 - 0.02	[11 - 13]

当前,由于酿酒酵母对单萜较低的耐受性,对利用含有单萜的生物质生产燃料乙醇也会造成较大影响。根据美国 2008 年的统计结果,2007 - 2008 年间全世界生产的柑橘废弃物(Citrus wastes)超过 150 万吨,这些废弃物一般可用来生产燃料乙醇,然而在这些生物质中,单萜 D-柠檬烯的含量可达 0.8% - 1.6% (W/V)^[14]。结合我们此前的研究^[6, 8],如此高的 D-柠檬烯残留会对酿酒酵母生长造成显著的抑制。因此,构建具有较强单萜耐受性的酵母菌株用于柑橘废液燃料基质的乙醇生产将有助于解决此类问题,同时也会为代谢工程改造酿酒酵母高效生产单萜化合物提供便利。迄今,国内外学者针对酿酒酵母单萜胁迫响应机制进行了一系列研究,逐步揭示了单萜对微生物的毒害机理及微生物应对单萜胁迫条件下的一系列应答机制。本文就近年来国内外在酿酒酵母单萜耐受性机理方面所取得的进展,进行简要的介绍和总结,为对构建一株较强单萜耐受性的酵母菌株用于单萜生产提供借鉴。

1 单萜对酿酒酵母的生理影响

单萜处理可以抑制微生物甲羟戊酸(Mevalonate)途径中的关键限速酶 3-羟基 3-甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶(HMGR)的活性^[15],造成细胞膜合成能力的缺失,这也是单萜常被作为抑菌物质而广泛应用于食品、医药领域的主要原因。然而,这个研究发现并不能很好的解释单萜是如何影响 HMGR 的表达,因为这涉及到单萜化合物能否自由进出细胞膜及怎样进出细胞膜,以及单萜进入细胞膜后是如何引发后续影响的问题。目前学者倾向于认为单萜物质能够自由出入细胞膜^[4],然而由于检测手段所限,尚未有明晰的证据直接论证单萜的进出细胞膜的方式。我们发现过量表达酿酒酵母常见的 ABC(ATP-Binding Cassette)转运蛋白并不能有效增加酿酒酵母对单萜柠檬烯(D-limonene)的耐受性^[6],表明单萜可能是基于自由扩散进出细胞膜。

以往的研究表明,单萜处理会造成酿酒酵母细

胞膜功能的缺失。Bakkali 等^[16]通过电镜观测发现,植物精油(通常含有较高浓度的单萜类化合物)处理破坏了酿酒酵母菌体的细胞膜,导致细胞膜功能缺失进而引起菌体凋亡,并推测线粒体内膜也受到损伤。我们的研究表明,柠檬烯处理会导致酿酒酵母的细胞膜通透性增高且其流动性降低,而添加适量的细胞膜合成前体麦角固醇,可以显著的提高酿酒酵母柠檬烯耐受能力^[8]。Parveen 等^[9]分析了酿酒酵母在单萜 α -蒎烯(α -terpinene)胁迫条件下的转录组学数据,发现酿酒酵母体内编码细胞膜、磷脂合成相关基因的转录水平在单萜胁迫条件下显著提高,表明细胞膜再生在酿酒酵母抵御单萜胁迫过程中具有重要意义。我们研究了酵母细胞在单萜柠檬烯胁迫前后基因在转录水平发生的变化(NCBI 转录组学数据,编号:GSE34665)。数据分析表明,在柠檬烯胁迫条件下,酿酒酵母内编码细胞膜合成的 ERG 系列基因明显上调。而这些正调控变化,有利于菌体修复单萜造成的细胞膜损伤,从而达到存活菌体的目的。

上述相关研究表明,单萜造成的细胞膜功能损伤是造成菌体死亡的主要因素,而细胞膜的再生能力在很大程度上决定了酿酒酵母细胞耐受单萜的能力。虽然以往的研究证实单萜能够抑制细胞膜合成,但并未有证据能够证实单萜能够直接损伤细胞膜。那么,单萜是如何造成细胞膜损伤进而导致菌体死亡的呢?

2 单萜引发的氧胁迫造成菌体死亡

在有氧代谢过程中,细胞线粒体会产生活性氧(ROS),包括过氧化氢(H_2O_2)、羟自由基($\cdot OH$)及超氧自由基($O_2^{\cdot -}$)等(图 1)^[17]。ROS 对细胞具有较强的毒害作用,可以对细胞膜脂、蛋白、碳水化合物及核酸的代谢造成损伤。正常情况下,ROS 在体内产生后随即能够被迅速降解,从而维持在较低的水平,不会对微生物体造成伤害。当环境发生变化时,ROS 的产生及降解平衡可能会被打破,造成 ROS 的积累,通常认为微生物受到了氧胁迫^[7]。Tian 等^[18]发现茴香(*Anethum graveolens* L.)精油处理可损伤黄曲霉(*Aspergillus flavus*)线粒体内膜,降低线粒体内氧化还原电势,进而诱发体内 ROS 的积累。他们还发现外源添加谷胱甘肽(Glutathione,

GSH) 等还原性物质能较好的保护细胞胁迫下的存活性, 表明 ROS 积累是造成菌体死亡的重要因素。Machida 等^[19] 研究发现法尼醇处理 (Farnesol) 能够影响酿酒酵母线粒体电子传递链的活性进而造成 ROS 的积累, 这种 ROS 积累也被认为是法尼醇处理导致酵母细胞周期阻滞的一个关键信号。在法尼醇处理后的白念珠菌 (*Candida albicans*) 中也存在类似现象^[20], 即 ROS 的积累也被认为是由法尼醇造成的线粒体损伤引起。同时, Bakkali 等^[21] 还发现, 不同的单萜成分所能影响的酿酒酵母的种类以及产生的 ROS 的种类都不尽相同。比如, 源于长叶女贞 (*Origanum compactum*) 的精油对对数期的二倍体酿酒酵母编号 D7 的毒害作用最强, 其在酵母体内诱发的 ROS 主要以超氧自由基 ($O_2^{\cdot-}$) 及超氧阴离子 ($\cdot OH$) 为主。而芫荽 (*Coriandrum sativum*) 精油诱导产生的 ROS 种类主要以过氧化氢 (H_2O_2) 及超氧阴离子 ($\cdot OH$) 为主。Verbelen 等^[22] 对比了在发酵过程预吸氧与正常发酵条件下, 酿酒酵母基因在转录水平上发生的变化, 发现预吸氧条件下酿酒酵母内除了编码反馈抑制的基因上调变化外, 编码海藻糖、麦角固醇及不饱和脂肪酸等抗氧化基因也发生了明显的上调变化。为了进一步研究 ROS 积累与细胞膜破损的关系, 他们在酿酒酵母内过量表达了 *OLE1* 及 *ERG* 系列编码细胞膜合成的基因, 有效的提升了工程菌的氧胁迫耐受能力。

上述研究表明, 单萜处理会影响微生物线粒体呼吸链的效率, 诱发 ROS 积累, 损伤包括细胞膜在内的多细胞器从而导致菌体死亡。

3 酿酒酵母抵御氧胁迫的机制

酿酒酵母有两套系统用来维持胞内的氧化还原平衡, 即非酶保护系统及抗氧化酶系保护系统。非酶保护系统通常由一些小分子化合物组成, 它们可以被胞内氧化物如 ROS 等所氧化从而达到消除氧化物的目的^[23]。谷胱甘肽是最常见水溶性的非酶系抗氧化物, 还原型谷胱甘肽 (GSH) 能够被氧化生成氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 来消除氧化物。GSH 在酿酒酵母内的合成是由 2 个同工酶编码的, 分别是 *GSH1* 及 *GSH2*^[24]。此外, 海藻糖也是一种有效的抗氧化物, 其含量与抗氧化能力被证实成正相关关系^[25]。在氧胁迫下, 维持微生物体内金属离子 (如

Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Fe^{2+} 及 Cu^{2+} 等) 的平衡也有利于提高菌体的耐受能力^[26]。一些富含半胱氨酸的含硫蛋白、富含硫的硫氧还蛋白及谷氧还蛋白在保护微生物抵御氧胁迫方面也发挥了积极作用^[27]。Bakkali 等^[16] 发现单萜处理条件下, 与 DNA 损伤与修复相关的基因 *RNR3* 及 *RAD51* 在转录水平发生上调变化。这种情况下 DNA 的损伤, 应归因于酿酒酵母体内 ROS 的积累, 这与添加外源抗氧化剂消除 ROS 能够保护细胞的结论相符。

酿酒酵母细胞体内还存在一套包括过氧化氢酶 (Catalase) 及超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutases, SOD) 等的酶系组成的防御机制, 用来清除体内积累的活性氧或对氧胁迫造成的损伤进行修复。过氧化氢酶在酿酒酵母体内由 *CTA1* 及 *CTT1* 编码, 敲除这 2 个基因的酿酒酵母对过氧化氢非常敏感^[28]。由 *SOD1* 及 *SOD2* 编码的超氧化物歧化酶也在酿酒酵母等真核生物清除胞内活性氧过程中起着重要作用。此外, 谷胱甘肽还原酶和谷胱甘肽过氧化物酶、硫氧还蛋白过氧化物酶和硫氧还蛋白还原酶及蛋氨酸还原酶等也对保护微生物抵御氧胁迫起积极作用^[29]。由于这些抗氧化酶的作用过程需要消耗大量的 NADPH, 维持较强的还原力再生机制有助于微生物耐受单萜的能力。酿酒酵母体内具有 3 条 NADPH 再生途径, 即磷酸戊糖途径、异柠檬酸脱氢酶途径及乙醛脱氢酶途径, 分别由 *GND1*、*GND2/ZWF1* 及 *IDP1, 2/ALD6* 编码^[30]。Parveen 等^[17] 通过基因芯片技术证实在单萜 α -蒎烯胁迫条件下, 编码 NADPH 合成的基因 *ZWF1* 及 *IDP2* 分别上调了 3.0 及 3.4 倍, 这些基因的上调将有助于合成更多的 NADPH。

在氧胁迫条件下, 协调酿酒酵母体内应对 ROS 等有害物质是在一系列调控转录因子调控下完成的。这些转录因子大多与基因的启动子区域绑定并高度保守, 负责调控相关基因的转录水平^[31]。其中, Yap1p 是最常见的应对氧胁迫的调控转录因子之一, 该调控因子除调控一些常见的抗氧化相关的基因如 *GSH1*、*TRX2*、*GLR1* 及 *ATR1* 等表达外, 一些与转运相关基因也被证实受该调控因子的调控^[32]。Gómez-Pastor 等^[33] 在酿酒酵母内过量表达了转录调控因子 *TRX2*, 显著的提高氧胁迫环境下的菌体生物量。在一些研究过程中, Yap1p 的酶活被认为与酿酒酵母体内的硫氧还蛋白的氧化还原平衡所决

定,这个过程需要消耗大量的 NADPH^[34]。因此,转录调控因子 Yap1p 的酶活在很大程度上取决于酿酒酵母体内的氧化还原状态及胞内的 NADPH 水平。除 Yap1p 外,酿酒酵母还配备有其他一些转录调控因子体系,用来调控体内抗氧化机制的运行,如 Msn2p/4p、Skn7p 及 Cup2p 等,这些转录调控因子在提高微生物氧化胁迫方面也具有重要作用^[22, 17]。通过对酿酒酵母响应柠檬烯胁迫的原始数据分析可以

发现,常见的转录调控因子如 Trx2p、Yap5p、Stb5p 及 Skn7p 等都发生了较为明显的上调变化。这些正调控变化证实了酿酒酵母在转录水平调节体内抗氧化机制用以抵御单萜诱发的氧化胁迫。

上述研究表明,酿酒酵母体内的抗氧化机制在单萜胁迫条件下被激活,从而提高酿酒酵母细胞单萜处理条件下的生存能力(图 1)^[35]。

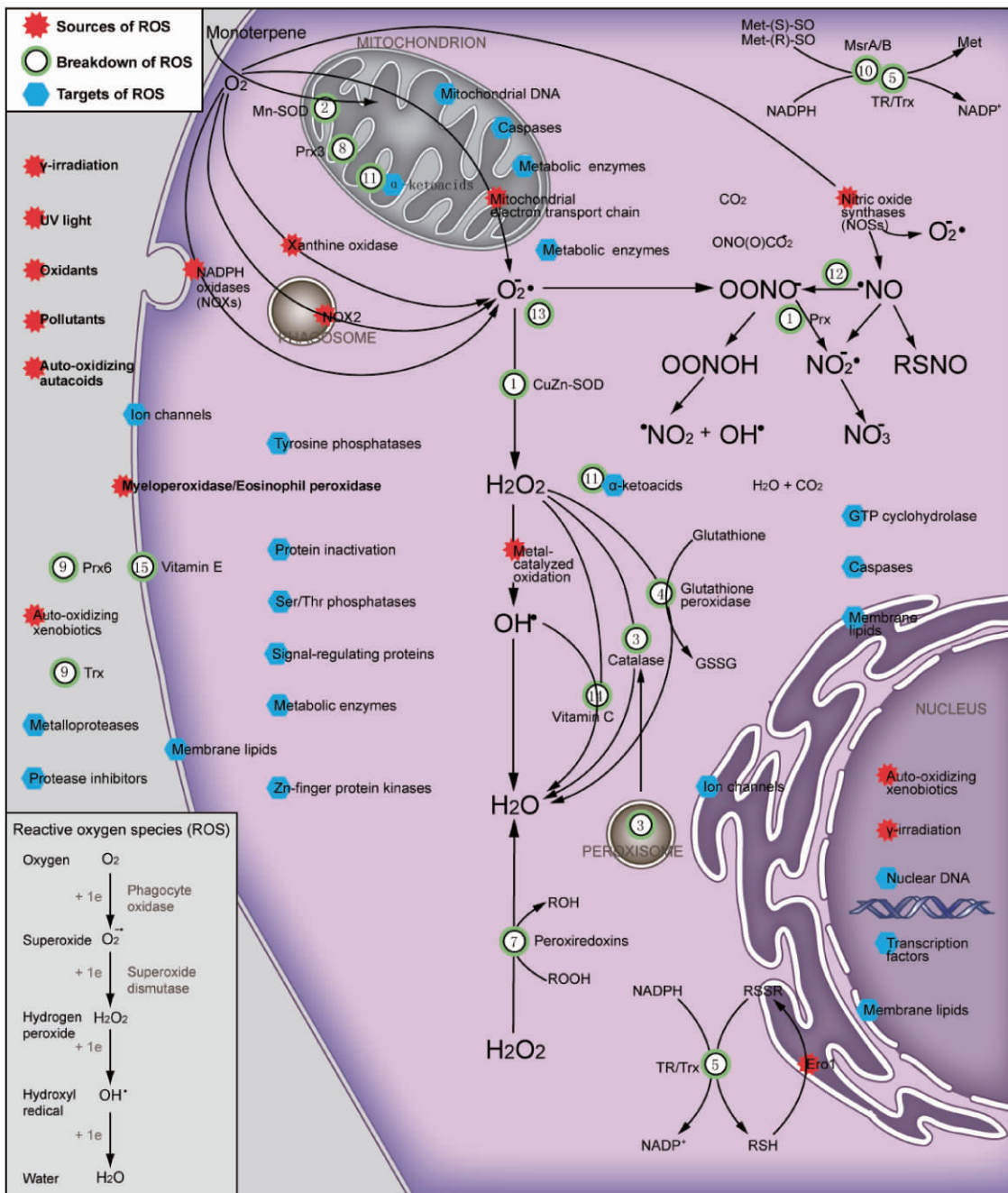


图 1. 酿酒酵母体内 ROS 产生与降解^[35]

Figure 1. Generation and degradation of ROS in *S. cerevisiae*^[35].

4 展望

随着研究的不断深入, 研究人员已经意识到单萜诱发的氧胁迫是造成酿酒酵母细胞死亡的重要因素。然而, 对于单萜如何诱发酿酒酵母的氧胁迫抵御机制的认知仍不完善。虽然目前酿酒酵母对单萜的耐受性仍较低, 但是这一问题的成功解决将为基于合成生物学和代谢工程技术改造酿酒酵母生产单萜化合物带来重要突破。回顾以往的研究, 我们认为在代谢工程改造酿酒酵母过量生产单萜化合物时, 更应注重对酿酒酵母耐受单萜化合物的作用机制这一科学问题的研究, 并基于此提出新的改造策略, 构建具备更高单萜耐受性的酿酒酵母菌株。结合当前研究中遇到的困难, 需要着重加强以下几方面的研究: (1) 强化细胞膜合成能力。单萜处理造成的活性氧积累会对细胞膜造成损伤, 而膜功能的损伤会危及菌体存活。因此较强的细胞膜修复能力能够更好的维持细胞膜的完整性; (2) 较强的 ROS 消除能力。降低胞内 ROS 水平能够减轻其对菌体的伤害从而更好的保护细胞; (3) 较强的 NADPH 再生能力。抗氧化物质(酶)的合成大多伴随着 NADPH 的消耗, 因此需要工程菌具有较强的 NADPH 再生能力。值得注意的是, 如果仅单独过量表达某一个关键基因, 可能反而导致菌体生长受限, 因此更需要考虑如何从全局角度设计更为合理的代谢工程方案。

参考文献

- [1] Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils—a review. *Food and Chemical Toxicology*, 2008, 46 (2) :446-475.
- [2] Cordoba E, Salmi M, León P. Unravelling the regulatory mechanisms that modulate the MEP pathway in higher plants. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60 (10) : 2933-2943.
- [3] Fischer MJC, Meyer S, Claudel P, Bergdoll M, Karst F. Metabolic engineering of monoterpene synthesis in yeast. *Biotechnology and Bioengineering*, 2011, 108 (8) :1883-1892.
- [4] Oswald M, Fischer M, Dirninger N, Karst F. Monoterpenoid biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Yeast Research*, 2007, 7 (3) :413-421.
- [5] Ignea C, Cvetkovic I, Loupassaki S, Kefalas P, Johnson CB, Kampranis SC, Makris AM. Improving yeast strains using recyclable integration cassettes, for the production of plant terpenoids. *Microbial Cell Factories*, 2011, 10 (1) :4-22.
- [6] Hu F, Liu J, Du G, Hua Z, Zhou J, Chen J. Key cytomembrane ABC transporters of *Saccharomyces cerevisiae* fail to improve the tolerance to D-limonene. *Biotechnology Letters*, 2012, 34 (8) :1505-1509.
- [7] Belletti N, Kamdem SS, Tabanelli G, Lanciotti R, Gardini F. Modeling of combined effects of citral, linalool and beta-pinene used against *Saccharomyces cerevisiae* in citrus-based beverages subjected to a mild heat treatment. *International Journal of Food Microbiology*, 2010, 136 (3) :283-289.
- [8] Liu J, Zhu Y, Du G, Zhou J, Chen J. Exogenous ergosterol protects *Saccharomyces cerevisiae* from D-limonene stress. *Journal of Applied Microbiology*, 2013, 114 (2) :482-491.
- [9] Parveen M, Hasan MK, Takahashi J, Murata Y, Kitagawa E, Kodama O, Iwahashi H. Response of *Saccharomyces cerevisiae* to a monoterpene: evaluation of antifungal potential by DNA microarray analysis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2004, 54 (1) :46-55.
- [10] Bard M, Albrecht MR, Gupta N, Guynn C. J., Stillwell W. Geraniol interferes with membrane functions in strains of *Candida* and *Saccharomyces*. *Lipids*, 1988, 23 (6) :534-538.
- [11] Schelz Z, Molnar J, Hohmann J. Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. *Fitoterapia*, 2006, 77 (4) :279-285.
- [12] Belletti N, Kamdem SS, Patrignani F, Lanciotti R, Covelli A, Gardini F. Antimicrobial activity of aroma compounds against *Saccharomyces cerevisiae* and improvement of microbiological stability of soft drinks as assessed by logistic regression. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73 (17) :5580-5586.
- [13] Tao N, Liu Y, Zhang M. Chemical composition and antimicrobial activities of essential oil from the peel of bingtang sweet orange (*Citrus sinensis* Osbeck). *International Journal of Food Science and Technology*, 2009, 44 (7) :1281-1285.
- [14] Boluda-Aguilar M, Garcia-Vidal L, Gonzalez-Castaneda FD, Lopez-Gomez A. Mandarin peel wastes pretreatment with steam explosion for bioethanol production. *Bioresource Technology*, 2010, 101 (10) :3506-3513.

- [15] Mo H, Elson CE. Studies of the isoprenoid-mediated inhibition of mevalonate synthesis applied to cancer chemotherapy and chemoprevention. *Experimental Biology and Medicine*, 2004, 229 (7) :567-585.
- [16] Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Zhiri A, Baudoux D, Idaomar M. Antigenotoxic effects of three essential oils in diploid yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) after treatments with UVC radiation, 8-MOP plus UVA and MMS. *Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 2006, 606 (1-2) :27-38.
- [17] Lushchak VI. Adaptive response to oxidative stress: Bacteria, fungi, plants and animals. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 2011, 153 (2) :175-190.
- [18] Tian J, Ban X, Zeng H, He J, Chen Y, Wang Y. The mechanism of antifungal action of essential oil from dill (*Anethum graveolens* L.) on *Aspergillus flavus*. *Plos One*, 2012, 7 (1) :e30147.
- [19] Machida K, Tanaka T, Fujita K, Taniguchi M. Farnesol-induced generation of reactive oxygen species via indirect inhibition of the mitochondrial electron transport chain in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Bacteriology*, 1998, 180 (17) :4460-4465.
- [20] Shirtliff ME, Krom BP, Meijering RAM, Peters BM, Zhu J, Scheper MA, Harris ML, Jabra-Rizk MA. Farnesol-induced apoptosis in *Candida albicans*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2009, 53 (6) :2392-2401.
- [21] Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Zhiri A, Idaomar M. Cytotoxicity and gene induction by some essential oils in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutation Research*, 2005, 585 (1) :1-13.
- [22] Verbelen PJ, Depraetere SA, Winderickx J, Delvaux FR, Delvaux F. The influence of yeast oxygenation prior to brewery fermentation on yeast metabolism and the oxidative stress response. *FEMS Yeast Research*, 2009, 9 (2) :226-239.
- [23] Jamieson DJ. Oxidative stress responses of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 1998, 14 (16) :1511-1527.
- [24] Saharan RK, Sharma SC. Effects of glutathione modulation on oxidative stress and enzymatic antioxidant defence in Yeast *Pachysolen tannophilus*. *Current Microbiology*, 2011, 62 (3) :944-949.
- [25] Herdeiro RS, Pereira MD, Panek AD, Eleutherio EC. Trehalose protects *Saccharomyces cerevisiae* from lipid peroxidation during oxidative stress. *Biochimica Et Biophysica Acta-General Subjects*, 2006, 1760 (3) :340-346.
- [26] Pagani MA, Casamayor A, Serrano R, Atrian S, Arino J. Disruption of iron homeostasis in *Saccharomyces cerevisiae* by high zinc levels: a genome-wide study. *Molecular Microbiology*, 2007, 65 (2) :521-537.
- [27] Malakar D, Dey A, Basu A, Ghosh AK. Antiapoptotic role of S-adenosyl-L-methionine against hydrochloric acid induced cell death in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochimica Et Biophysica Acta-General Subjects*, 2008, 1780 (7-8) :937-947.
- [28] Jamieson DJ. *Saccharomyces cerevisiae* has distinct adaptive responses to both hydrogen peroxide and menadione. *Journal of Bacteriology*, 1992, 174 (20) :6678-6681.
- [29] Reddi AR, Jensen LI, Naranuntarat A, Rosenfeld L, Leung E, Shah R, Culotta VC. The overlapping roles of manganese and Cu/Zn SOD in oxidative stress protection. *Free Radical Biology and Medicine*, 2009, 46 (2) :154-162.
- [30] Bro C, Regenber B, Nielsen J. Genome-wide transcriptional response of a *Saccharomyces cerevisiae* strain with an altered redox metabolism. *Biotechnology and Bioengineering*, 2004, 85 (3) :269-276.
- [31] Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*, 2003, 91 (2) :179-194.
- [32] Teixeira MC, Dias PJ, Simoes T, Sa-Correia I. Yeast adaptation to mancozeb involves the up-regulation of *FLR1* under the coordinate control of Yap1, Rpn4, Pdr3, and Yrr1. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2008, 367 (2) :249-255.
- [33] Gomez-Pastor R, Perez-Torrado R, Cabisco E, Ros J, Matallana E. Reduction of oxidative cellular damage by overexpression of the thioredoxin *TRX2* gene improves yield and quality of wine yeast dry active biomass. *Microbial cell factories*, 2010, 9:9.
- [34] Elsztein C, de Lucena RM, de Morais MA. The resistance of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* to the biocide polyhexamethylene biguanide: involvement of cell wall integrity pathway and emerging role for *YAP1*. *BMC Molecular Biology*, 2011, 12 (1) :38.
- [35] Carl N, Ding A. SnapShot: Reactive oxygen intermediates (ROI). *Cell*, 2010, 140 (6) :951.

Tolerance of *Saccharomyces cerevisiae* to monoterpenes

—A review

Jidong Liu, Jingwen Zhou^{*}, Jian Chen

School of Biotechnology, Key Laboratory of Industrial Biotechnology of Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China

Abstract: Tolerance of *Saccharomyces cerevisiae* to monoterpenes is important in both metabolic engineering of the yeast to produce these chemicals de novo and efficient use of biomass containing these chemicals. Understanding the mechanisms in the tolerance of *S. cerevisiae* to monoterpenes could facilitate the construction of yeast strains with enhanced monoterpenes resistance, and therefore improve related bioprocesses. Monoterpenes could disturb the redox balance in *S. cerevisiae*, therefore increase the accumulation of reactive oxygen species (ROS) and result in cell death. *S. cerevisiae* has to systematically improve its antioxidative ability to deal with the ROS induced damage. The current review summarized the recent developments in demonstration of the tolerance of *S. cerevisiae* to different typical monoterpenes mainly from the aspect of the antioxidative mechanisms. Based on the analysis of the previous works, further attempts to demonstrate the mechanisms were proposed.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*, monoterpenes, cell membrane, oxidative stress, reactive oxygen species

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31000807) and by the National Natural Science Foundation of Jiangsu Province, China (BK2010150)

^{*} Corresponding author. Tel: +86-510-85329031; Fax: +86-510-85918309; E-mail: zhoujw1982@jiangnan.edu.cn

Received: 23 December 2012/Revised: 12 February 2013

1953 年创刊以来所有文章全文上网

从 2008 年 1 月开始《微生物学报》的所有文章开始全文上网了。欢迎广大读者登陆本刊主页 (<http://journals.im.ac.cn/actamicron>) 浏览、查询、免费下载全文! 由于《微生物学报》历史久远, 为方便读者查阅, 将刊期变化作以下统计。

《微生物学报》刊、期统计表

2013 年 6 月统计

时间	刊期	卷号	期号
1953 - 1956	半年刊	1 - 4	1 - 2
1957 - 1958	季刊	5 - 6	1 - 4
1959	季刊	7	1 - 2
1959 - 1962	停刊 3 年		
1962	季刊	8	3 - 4
1963 - 1965	季刊	9 - 11	1 - 4
1966	季刊	12	1 - 2
1966 - 1972	停刊 6 年半		
1973 - 1988	季刊	13 - 28	1 - 4
1989 - 2007	双月刊	29 - 47	1 - 6
2008 - 2012	月刊	48 - 52	1 - 12
2013	月刊	53	1 - 6