

doi: 10.3969/j.issn.0490-6756.2018.02.030

# SCH9 基因对酿酒酵母中 H<sub>2</sub>S 代谢的影响

高雪洁<sup>1</sup>, 刘冰花<sup>1,2</sup>, 吕舟<sup>1</sup>, 王为岩<sup>1</sup>, 曹莎莎<sup>1</sup>, 刘科<sup>1</sup>

(1. 四川大学生命科学学院生物资源与生物环境重点实验室, 成都 610065;

2. 成都大学医学院生物化学与分子生物学教研室, 成都 610106)

**摘要:** H<sub>2</sub>S 作为胞内气体信号分子, 在心血管和神经系统方面的治疗显著效果引起了人们的关注. 首先, 为了探究酿酒酵母中 SCH9 基因缺失对其 H<sub>2</sub>S 生成的影响, 我们以酿酒酵母 SCH9 基因缺失型菌株 RCD398、RCD399 和 TS120-2d 为研究对象, 用醋酸铅试纸检测反应体系中 H<sub>2</sub>S 含量. 非热量限制条件, WT (BY4741) 培养 48 h 产生了 4 (mm)/A<sub>600</sub> nm H<sub>2</sub>S, 而 Sch9Δ (RCD398) 只产生 0.4 (mm)/A<sub>600</sub> nm. 热量限制条件下, WT (BY4742) 培养 48 h 产生了 10 (mm)/A<sub>600</sub> nm 的 H<sub>2</sub>S, 而 Sch9Δ (RCD399) 未检测到 H<sub>2</sub>S. 其次, 为了探究 SCH9 基因缺失菌株对外源 H<sub>2</sub>S 分解的影响. 用 GYY4137 和 NaHS 作为 H<sub>2</sub>S 的供体, WT (BY4742) 培养 72 h 之后未检测到 H<sub>2</sub>S, 而 Sch9Δ (RCD399) 仍可检测大量 H<sub>2</sub>S. 结果表明 SCH9 缺失既可以下调酿酒酵母中 H<sub>2</sub>S 的生成, 也可以下调酿酒酵母对外源 H<sub>2</sub>S 的分解.

**关键词:** SCH9 基因; 硫化氢; BY4742; TB50

**中图分类号:** Q591      **文献标识码:** A      **文章编号:** 0490-6756(2018)02-0381-06

## Effect of SCH9 gene on H<sub>2</sub>S metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*

GAO Xue-Jie<sup>1</sup>, LIU Bing-Hua<sup>1,2</sup>, LV Zhou<sup>1</sup>, WANG Wei-Yan<sup>1</sup>, CAO Sha-Sha<sup>1</sup>, LIU Ke<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Bio-Resource and Eco-Environment, Ministry of Education,

College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610065, China;

2. Department of Biochemistry and molecular Biology, Medical College, Chengdu University, Chengdu 610106, China)

**Abstract:** Hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) is the endogenous signaling molecule and has attracted great attention for its significant role in curing cardiovascular nervous system diseases. Firstly, we surveyed the effect of SCH9 gene deletion on H<sub>2</sub>S production in SCH9 deletion yeast strains RCD398, RCD399 and TS120-2d by quantifying H<sub>2</sub>S levels using lead acetate paper. WT (BY4741) yeasts produced H<sub>2</sub>S of 4 (mm) / A<sub>600nm</sub> after cultured for 48 h. While Sch9Δ (RCD398) only produced H<sub>2</sub>S of 0.4 mm / A<sub>600nm</sub> without caloric restriction. Under caloric restriction, WT (BY4742) yeasts produced H<sub>2</sub>S of 10 (mm) / A<sub>600nm</sub> after cultured for 48 h, whereas H<sub>2</sub>S was not detected in Sch9Δ (RCD399) yeasts. Secondly, we studied the effect of SCH9 gene deletion on exogenous H<sub>2</sub>S degradation by substitute GYY4137 and NaHS as external H<sub>2</sub>S donors. H<sub>2</sub>S wasn't detected in WT (BY4742) strain after cultured for 72 h, while remained to be detected in Sch9Δ (RCD399) strain. These results suggest that SCH9 deletion decreases synthesis and catabolism of H<sub>2</sub>S in yeast.

**Keywords:** SCH9 gene; H<sub>2</sub>S; BY4742; TB50

收稿日期: 2017-03-16

基金项目: 国家自然科学基金(30671181)

作者简介: 高雪洁(1989-), 女, 甘肃庆阳人, 硕士研究生, 主要从事衰老相关蛋白的生物化学与分子生物学研究. E-mail: 307514298@qq.com

通讯作者: 刘科. E-mail: kliu@scu.edu.cn

# 1 引言

硫化氢(Hydrogen sulfide, H<sub>2</sub>S)是一种无色、剧毒、有臭鸡蛋气味的气体,但近几年发现 H<sub>2</sub>S 作为信号分子在细胞生理、病理方面发挥着重要的作用.如 H<sub>2</sub>S 含量与心血管疾病、神经退行性疾病、糖尿病和癌症的发生发展有着密切的关系<sup>[1-6]</sup>.同时,通过含硫氨基酸(Met, Cys)限制、热量限制(Caloric Restriction, CR)或增加 H<sub>2</sub>S 供体(GYY4137 和 NaHS)的方法在一定范围内增加细胞内 H<sub>2</sub>S 的浓度可以延长动物的寿命<sup>[7-10]</sup>.

酿酒酵母中 SCH9 基因编码一种蛋白激酶 Sch9,该激酶 PDK1 位于 Sch9 的激活环内可被 Pkh1 磷酸化激活,Sch9C 端包含的 6 个丝氨酸、苏氨酸残基(T723、S726、T737、S758、S765 和 S711)可被 TORC1 磷酸化激活<sup>[11-13]</sup>.Sch9 的 C 端的磷

酸化与 TORC1 抑制剂雷帕霉素的浓度成反比关系<sup>[14]</sup>.研究发现 SCH9 基因缺失或用药物处理使 Sch9 蛋白失活均可延长动物寿命<sup>[15-18]</sup>,Sch9 可能通过底物 Cdc34 调控氧化胁迫与衰老<sup>[19]</sup>.

酿酒酵母 SCH9 基因缺失是否会影响其 H<sub>2</sub>S 代谢还不得而知,本研究以 SCH9 基因缺失型酿酒酵母菌株为研究对象来研究 SCH9 基因缺失对其 H<sub>2</sub>S 代谢的作用.

## 2 材料与方法

### 2.1 材料

2.1.1 供试菌种 供试菌种均为酿酒酵母,其中菌种 RCD398、RCD399 和 TS120-2d 依次为野生型菌种 BY4741、BY4742 和 TB50a 的 SCH9 基因缺失型.各菌种的具体基因型及来源如表 1 所示.

表 1 供试菌种的基因型及其来源

Tab. 1 genotypes and sources of tested strains

菌种名称	基因型	菌种来源
BY4741	<i>MATa his3-Δ1 leu2-Δ0 ura3-Δ0 met15-Δ0</i>	文献[20]
RCD398	<i>BY4741 withsch9Δ;KAN</i>	Dr. Robert C. Dickson 赠送
BY4742	<i>MAT alpha his3-Δ1 leu2-Δ0 ura3-Δ0 lys2-Δ0</i>	本实验室储存
RCD399	<i>BY4742 withsch9Δ;KAN</i>	Dr. Robert C. Dickson 赠送
TB50a	<i>MATa trp1 his3 ura3 leu2 rme1</i>	文献[13]
TS120-2d	<i>TB50a with sch9Δ; KanMX</i>	文献[13]

2.1.2 培养基 用固体 YPD(1 % 酵母提取物、2 % 蛋白胨、2 % 葡萄糖、1.8 % 琼脂)培养基保藏菌种,用液体培养基 SDC-2 % Glucose(No Restriction, NR)<sup>[21]</sup>或 SDC-0.5 % Glucose(Caloric Restriction, CR)培养菌株.

2.1.3 试剂 NaHS(Sigma-Aldrich, 161527), GYY4137(Sigma-Aldrich, SML0100),醋酸铅试纸(四川生工),氨基酸(Biotopped),无水葡萄糖(Keshi),YNB(BD, 291930).

### 2.2 方法

2.2.1 酿酒酵母中 H<sub>2</sub>S 含量的检测 H<sub>2</sub>S 含量用醋酸铅试纸检测,培养液中释放的 H<sub>2</sub>S 气体与培养液上方试纸条上的醋酸铅反应生成黑色的硫化铅使试纸变黑,释放的 H<sub>2</sub>S 越多,产生的硫化铅越多,则试纸条越黑,所以可以通过试纸变黑的程度来判断培养液中酿酒酵母释放 H<sub>2</sub>S 的多少<sup>[22]</sup>.

2.2.2 SCH9 缺失对酿酒酵母 H<sub>2</sub>S 合成代谢的影响 用 YPD 平板活化菌种,然后挑取单菌落于

3 mL SDC 液体培养基中,30 °C 200 r/min 恒温培养 24 h.然后将菌液转接到 SDC-2 % Glucose 液体培养基,使其在波长 600 nm 处的吸光度为 0.005.同时在锥形瓶口插入一个醋酸铅试纸条(试纸条悬空,未接触培养基液面).在测定时间点,取出醋酸铅试纸条拍照,同时测量醋酸铅试纸条上黑色硫化铅的长度,并且检测菌液在波长 600 nm 处的吸光度.然后再将原试纸条放回锥形瓶中,继续检测硫化氢含量.检测结束后以试纸条上黑色硫化铅的长度(mm)与菌液在波长 600 nm 处的吸光度的比值来测定酿酒酵母释放的硫化氢的相对含量.

以同样的方法将菌液分别转接入 SDC-2 % Glucose 和 SDC-0.5 % Glucose 液体培养基中,在锥形瓶口插入醋酸铅试纸条,每隔 24 h 取出锥形瓶中的醋酸铅试纸条,同时插入新的醋酸铅试纸条,检测酿酒酵母每天释放的硫化氢含量.用同上方方法测定酿酒酵母释放的硫化氢的相对含量.

2.2.3 SCH9 缺失对酿酒酵母 H<sub>2</sub>S 分解代谢的影

响 为了探究酿酒酵母 *Sch9* 是否影响其  $H_2S$  分解代谢,用 2.2.3 的方法将菌液分别转接入 SDC-2% Glucose 液体培养基中,接种时加入  $100 \mu M$  可缓慢、长期释放  $H_2S$  的 GYY4137,插入醋酸铅试纸条,  $30^\circ C$   $200 r/min$  恒温培养.于 6、24、48 h 时分别补充  $5 \mu M$  可快速、短暂释放  $H_2S$  的 NaHS,继续培养至 72 h 时取出醋酸铅试纸条,放入新的醋酸铅试纸条,之后每隔 2d 更换新的醋酸铅试纸条.用同上方法测定酿酒酵母释放的硫化氢的相对含量.

### 3 结果与分析

#### 3.1 *SCH9* 缺失引起酿酒酵母 $H_2S$ 生成下降

3.1.1 非热量限制条件下 *SCH9* 缺失引起酿酒酵母  $H_2S$  生成下降  $H_2S$  和 *Sch9* 在延长寿命的过

程中发挥着重要的作用<sup>[10, 16]</sup>,但是 *Sch9* 和  $H_2S$  在延长寿命的过程中是否有关联作用还不清楚.为此,将野生型菌株 BY4741、缺失型菌株 RCD398 接种于 SDC-2% Glucose 液体培养基中,利用醋酸铅试纸条检测其  $H_2S$  的量.发现缺失型菌 RCD398 产生  $H_2S$  的量远远少于野生型菌株 BY4741,如图 1 A、1 B 所示.发现 TB50a 菌株产生  $H_2S$  的量比 BY4741 菌株少很多不易检测,如图 1 C 所示.为了检测到足够量的  $H_2S$ ,将野生型菌株 TB50a 及其缺失型菌株 TS120-2d 的培养体积增加至 100 mL,发现突变型菌株 TS120-2d 产生  $H_2S$  的量明显比野生型菌株 TB50a 的少,如图 1 D、1 E 所示.表明非热量限制条件下 *Sch9* 缺失引起酿酒酵母  $H_2S$  的生成减少.

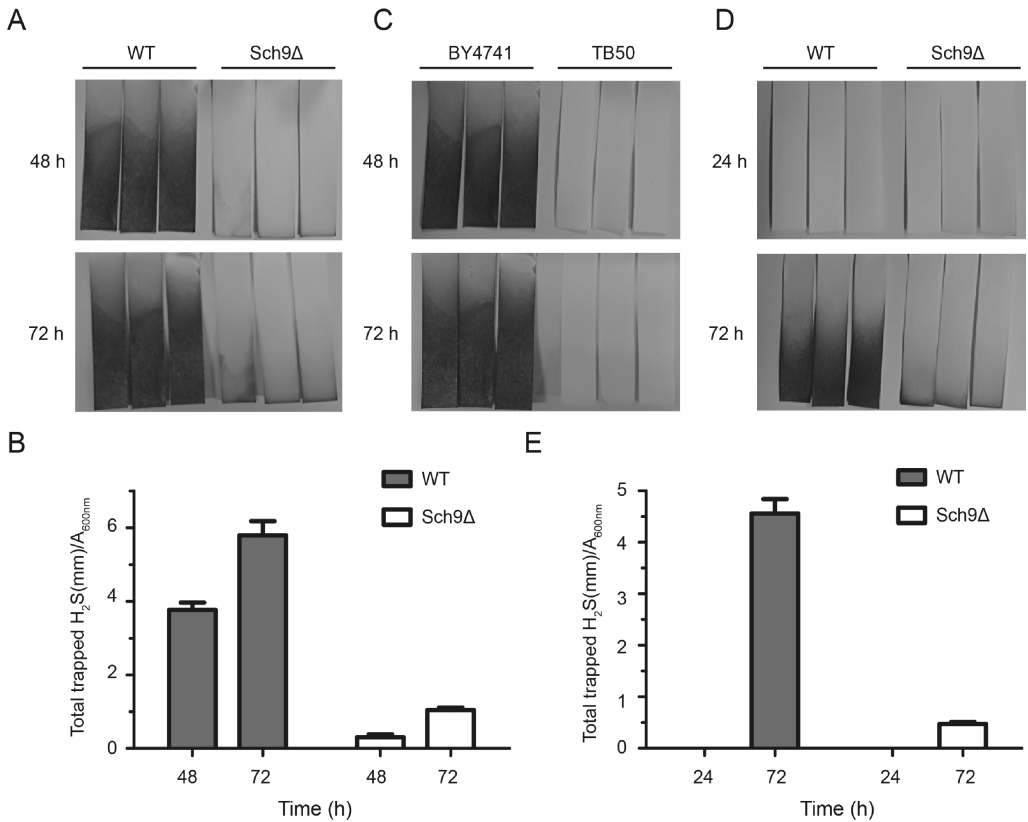


图 1 *Sch9* 缺失减少酿酒酵母  $H_2S$  的生成

A. WT(BY4741)、*Sch9* $\Delta$ (RCD398)分别培养于 20 mL 的 SDC-2% Glucose,用醋酸铅试纸检测其  $H_2S$  含量. B. 定量 A 中  $H_2S$  含量. C. 两种不同的野生型酿酒酵母 WT(BY4741)、WT(TB50)分别培养于 20 mL SDC-2% Glucose 培养基中,检测其  $H_2S$  含量. D. WT(TB50)、*Sch9* $\Delta$ (TS120-2d)分别培养于 100 mL SDC-2% Glucose 培养基中,检测其  $H_2S$  含量. E. 定量 D 中  $H_2S$  含量.

Fig. 1  $H_2S$  production is decreased in *Sch9* deletion *saccharomyces cerevisiae*

A. WT(BY4741) and *Sch9* $\Delta$ (RCD398) are cultured in 20 mL SDC-2% Glucose medium, respectively.  $H_2S$  contents are detected by lead acetate paper for the time indicated in figure legends. B. The quantifications of  $H_2S$  generation from A. C. Two different types of wild *saccharomyces cerevisiae* WT(BY4741) and WT(TB50) are cultured in 20 mL SDC-2% Glucose medium, respectively.  $H_2S$  is detected by lead acetate paper for the time indicated in figure legends. D. WT(TB50) and *Sch9* $\Delta$ (TS120-2d) are cultured in 100 mL SDC-2% Glucose medium, respectively.  $H_2S$  is tested by lead acetate paper for the time indicated in figure legends. E. The quantifications of  $H_2S$  generation from D.

3.1.2 热量限制条件下 *SCH9* 缺失引起酿酒酵母  $H_2S$  的生成下降 热量限制可延长酿酒酵母的寿命并伴随  $H_2S$  的增加<sup>[10]</sup>, TORC1-Sch9 信号通路抑制也可延长酿酒酵母的寿命<sup>[15-17]</sup>, 而酿酒酵母热量限制时 Sch9 与  $H_2S$  的增加是否有关不得而知. 为此, 将释放  $H_2S$  较少的野生型菌株 BY4742 及其 *SCH9* 基因缺失型菌株 RCD399 分别接种于 SDC-2% Glu-

cose 和 SDC-0.5% Glucose 液体培养基, 利用醋酸铅试纸条检测其  $H_2S$  产量. 发现野生型菌株 BY4742 热量限制时产生  $H_2S$  的量显著多于非能量限制时, 如图 2 A、2 B 所示, 而 *SCH9* 基因缺失型菌株 RCD399 热量限制时产生  $H_2S$  的量比非热量限制时明显减少, 如图 2 C、2 D 所示. 表明在热量限制条件下酿酒酵母 Sch9 缺失抑制其  $H_2S$  的生成.

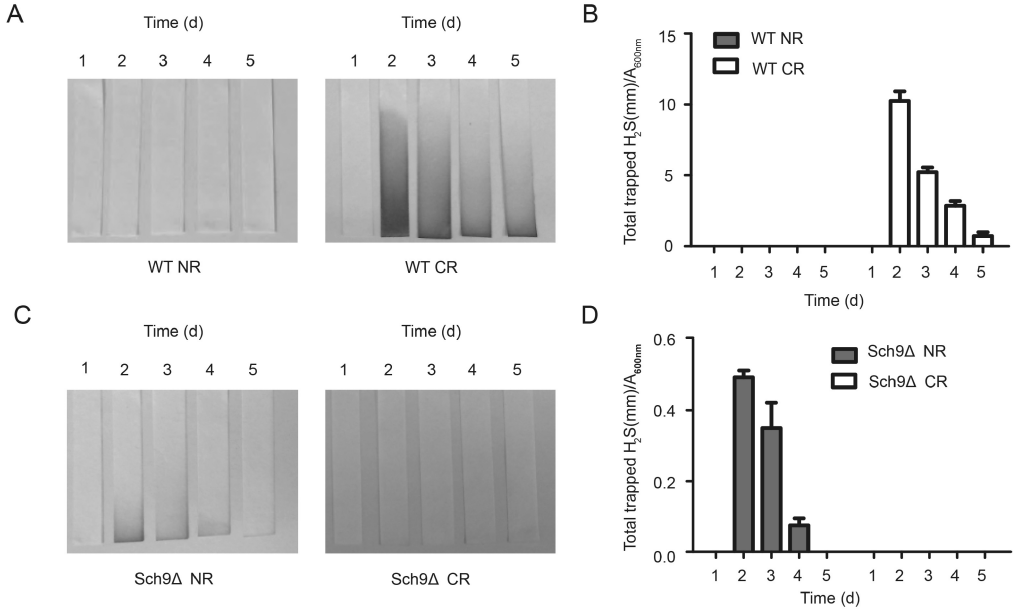


图 2 热量限制条件下 Sch9 缺失型酿酒酵母抑制  $H_2S$  的生成

A. WT(BY4742) 接于 20 mL 的 SDC-2% Glucose(No Restriction, NR)、SDC-0.5% Glucose(Caloric Restriction, CR) 培养基中, 用醋酸铅试纸检测  $H_2S$  含量, 每 24 hr 更换新的醋酸铅试纸条. B. 定量 A 中  $H_2S$  含量. C. 与 A 相同的方法检测 *Sch9Δ*(RCD399) 中  $H_2S$  含量. D. 定量 C 中  $H_2S$  含量.

Fig. 2  $H_2S$  production is inhibited in *Sch9Δ* cells under caloric restriction.

A. WT(BY4742) is cultured in 20mL SDC-2% Glucose(No Restriction, NR) or SDC-0.5% Glucose(Caloric Restriction, CR) medium, respectively.  $H_2S$  is detected by lead acetate paper that is replaced by fresh paper every 24h. B. The quantifications of  $H_2S$  generation from A. C.  $H_2S$  produced by *Sch9Δ*(RCD399) are detected by the same way as A. D. The quantifications of  $H_2S$  generation from C.

### 3.2 *SCH9* 缺失型酿酒酵母显著下调对外源 $H_2S$ 的代谢

在未加入  $H_2S$  供体的野生型菌株 BY4742 和 *SCH9* 基因缺失型菌株 RCD399 的培养体系中仅能检测到微量  $H_2S$  气体. 在加入  $H_2S$  供体 GYY4137 和 NaHS 后, 装有野生型菌株 BY4742 培养瓶中仅在前三天检测到较多量的  $H_2S$  气体, 在之后的第 4~11d 检测到的  $H_2S$  气体的量仅相当于对照组(如图 3 A、3 B 所示), 说明从第 4 天开始  $H_2S$  供体 GYY4137 和 NaHS 释放的  $H_2S$  几乎均被野生型菌株 BY4742 完全分解了. 而装有 *SCH9* 基因缺失型菌株 RCD399 的培养瓶中在第 3~11d 的培养过程中均可检测到较多量的  $H_2S$  气体(如图 3 C、3 D 所示), 说明 *SCH9* 基因缺失型菌株 RCD399 几乎不分解  $H_2S$  供体 GYY4137 和

NaHS 释放的  $H_2S$ . 表明 *SCH9* 缺失型酿酒酵母下调对外源  $H_2S$  的代谢.

## 4 讨论

酿酒酵母细胞中有着多条  $H_2S$  合成途径, 其中主要途径均由甲硫氨酸或半胱氨酸经过一系列酶的催化作用生成  $H_2S$ , 胱硫醚- $\beta$ -合成酶和胱硫醚- $\gamma$ -裂解酶为限速酶<sup>[10]</sup>. 我们这里发现在非热量限制和能量限制情况下, 酿酒酵母 Sch9 缺失均可下调其  $H_2S$  的合成代谢. 推测可能是由于 *SCH9* 基因缺失影响到了酿酒酵母中  $H_2S$  合成代谢中的两个限速酶胱硫醚- $\beta$ -合成酶和胱硫醚- $\gamma$ -裂解酶的表达, 也可能是影响到了酿酒酵母细胞内  $H_2S$  合成代谢的主要底物甲硫氨酸和半胱氨酸的代谢.

细胞内代谢  $H_2S$  的途径主要有三条, 第一条途

径是  $H_2S$  在线粒体中被硫醌还原酶 (sulfide-quinone reductase, SQR) 氧化成硫代硫酸盐, 最终转化为亚硫酸盐和硫酸盐<sup>[23]</sup>; 第二条途径是  $H_2S$  在胞浆中被硫醇-S-甲基转移酶 (thiol-S-methyltransferase, TMT) 甲基化修饰生成二甲基硫化物和甲硫醇<sup>[24]</sup>; 第三条途径是  $H_2S$  与血红蛋白上的  $Fe^{3+}$  结合形成

血红蛋白络合物, 最终被降解代谢掉<sup>[25]</sup>. 其中第一条途径为代谢  $H_2S$  的最主要途径<sup>[26]</sup>. 我们发现在加入  $H_2S$  供体时, 野生型菌株 BY4742 在第 4 d 到 11 d 几乎没有检测到  $H_2S$ , 而 *SCH9* 基因缺失菌株在第 4 天到 11 天可检测到较多量的  $H_2S$ , 说明酿酒酵母 *SCH9* 基因缺失抑制其对外源  $H_2S$  的代谢.

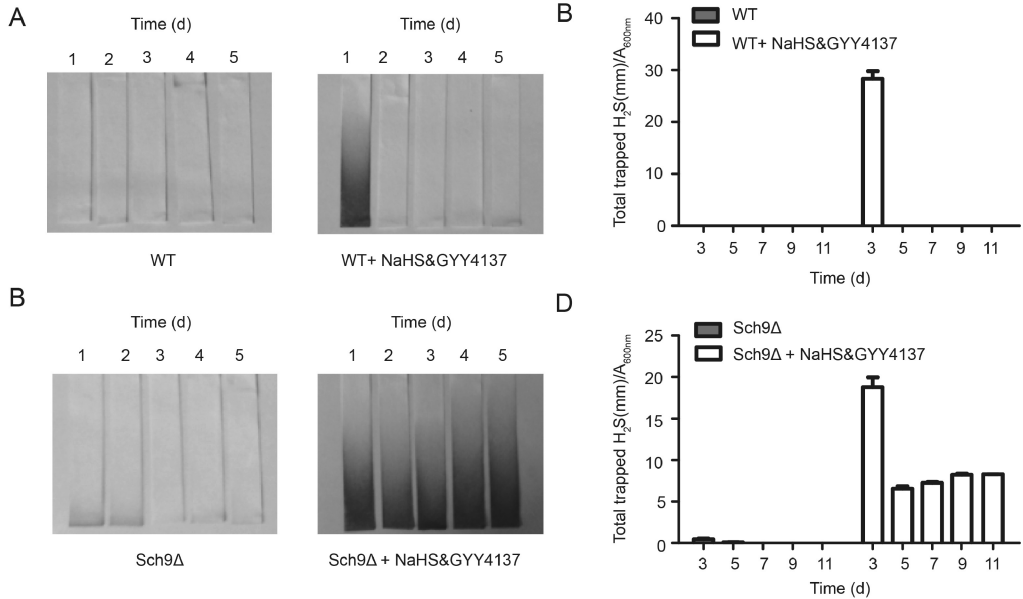


图 3 *SCH9* 缺失酿酒酵母抑制其对外源  $H_2S$  的分解代谢

A. WT (BY4742) 接于 20 mL 的 SDC-2% Glucose 培养基中, 加入 100  $\mu$ M GYY4137, 在孵育 6、24、48 hr 加入 5  $\mu$ M NaHS. DMSO 处理 WT (BY4742) 作为对照. B. 定量 A 中  $H_2S$  含量. C. 与 A 相同的方法检测 *Sch9* $\Delta$  (RCD399) 的  $H_2S$  含量. D. 定量 C 中  $H_2S$  含量.

Fig. 3 The catabolism of exogenous  $H_2S$  is inhibited by *SCH9* depletion

A.  $H_2S$  is generated by adding 100  $\mu$ M GYY4137 (DMSO) to WT (BY4742) cultures in 20 mL SDC-2% Glucose at the time of inoculation and 5  $\mu$ M NaHS at 6, 24 and 48 h after inoculation, with DMSO-treated WT (BY4742) as a control. B. The quantifications of  $H_2S$  generation from A. C.  $H_2S$  generation in *Sch9* $\Delta$  (RCD399) are detected by the same way as A. D. The quantifications of  $H_2S$  generation from C.

参考酿酒酵母 *SCH9* 基因抑制后的转录组结果<sup>[27]</sup>, 我们发现参与  $H_2S$  合成的基因中表达下调的有: *CYS3*、*MET10*、*MET6*、*MET8*、*MHT1*、*THR1*、*MEU1*、*SAM1*、*SAH1*; 表达上调的有 *MET17*、*MET16*、*ECM38*、*HOM3*、*HOM2*、*STR2*、*STR3*、*MET22*. 细胞内  $H_2S$  主要来源于含硫氨基酸的代谢, 其次来源于含硫化合物<sup>[28]</sup>. *CYS3* 编码的胱硫醚- $\gamma$ -裂解酶催化含硫氨基酸生成  $H_2S$  的限速酶, *MET10*、*MET6*、*MET8* 催化含硫化合物生成  $H_2S$ <sup>[29]</sup>. 这些  $H_2S$  代谢相关基因在 *SCH9* 缺失时转录表达的变化很可能与 *SCH9* 缺失下调  $H_2S$  的生成和分解有密切关系. 这些基因在蛋白水平的变化及对  $H_2S$  代谢的影响还有待进一步确认.

总的来说, 我们的初步研究发现酿酒酵母 *SCH9* 基因缺失不仅抑制其  $H_2S$  的生成, 也抑制其  $H_2S$  的代谢, 这对进一步研究真核生物  $H_2S$  的

代谢奠定了一定的理论基础.

#### 参考文献:

- [1] Lynn E G, Austin R C. Hydrogen sulfide in the pathogenesis of atherosclerosis and its therapeutic potential [J]. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 2011, 4: 97.
- [2] Xie X, Sun A, Zhu W, *et al.* Transplantation of mesenchymal stem cells preconditioned with hydrogen sulfide enhances repair of myocardial infarction in rats [J]. *Tohoku J Exp Med*, 2012, 226: 29.
- [3] Giuliani D, Ottani A, Zaffe D, *et al.* Hydrogen sulfide slows down progression of experimental Alzheimer's disease by targeting multiple pathophysiological mechanisms [J]. *Neurobiol Learn Mem*, 2013, 104: 82.
- [4] Xuan A, Long D, Li J, *et al.* Hydrogen sulfide at-

- tenuates spatial memory impairment and hippocampal neuroinflammation in beta-amyloid rat model of Alzheimer's disease [J]. *J Neuroinflammation*, 2012, 9: 202.
- [5] Wu L, Yang W, Jia X, *et al.* Pancreatic islet overproduction of H<sub>2</sub>S and suppressed insulin release in Zucker diabetic rats [J]. *Lab Invest*, 2009, 89: 59.
- [6] Lee Z W, Zhou J, Chen C S, *et al.* The slow-releasing hydrogen sulfide donor, GYY4137, exhibits novel anti-cancer effects in vitro and *in vivo* [J]. *PLoS One*, 2011, 6: e21077.
- [7] Ruckenstuhl C, Netzberger C, Entfellner I, *et al.* Lifespan extension by methionine restriction requires autophagy-dependent vacuolar acidification [J]. *PLoS Genet*, 2014, 10: e1004347.
- [8] Lee B C, Kaya A, Ma S, *et al.* Methionine restriction extends lifespan of *Drosophila melanogaster* under conditions of low amino-acid status [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 3592.
- [9] Kabil H, Kabil O, Banerjee R, *et al.* Increased transsulfuration mediates longevity and dietary restriction in *Drosophila* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 16831.
- [10] Hine C, Harputlugil E, Zhang Y, *et al.* Endogenous hydrogen sulfide production is essential for dietary restriction benefits [J]. *Cell*, 2015, 160: 132.
- [11] Biondi R M. Phosphoinositide-dependent protein kinase 1, a sensor of protein conformation [J]. *Trends Biochem Sci*, 2004, 29: 136.
- [12] Liu K, Zhang X, Sumanasekera C, *et al.* Signalling functions for sphingolipid long-chain bases in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Biochem Soc Trans*, 2005, 33: 1170.
- [13] Urban J, Soulard A, Huber A, *et al.* Sch9 is a major target of TORC1 in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Mol Cell*, 2007, 26: 663.
- [14] 吕舟, 郗蓓蓓, 闫磊, 等. 酿酒酵母蛋白激酶 Sch9 的 PDK1 位点调控 C 末端磷酸化状态 [J]. *四川大学学报:自然科学版*, 2016, 53: 639.
- [15] Cai Y, Wei Y H. Distinct regulation of Maf1 for lifespan extension by Protein kinase A and Sch9 [J]. *Aging (Albany NY)*, 2015, 7(2): 133.
- [16] Pan Y, Shadel G S. Extension of chronological life span by reduced TOR signaling requires down-regulation of Sch9p and involves increased mitochondrial OXPHOS complex density [J]. *Aging (Albany NY)*, 2009, 1: 131.
- [17] Huang X, Liu J, Withers B R, *et al.* Reducing signs of aging and increasing lifespan by drug synergy [J]. *Aging Cell*, 2013, 12: 652.
- [18] Selman C, Tullet J M, Wieser D, *et al.* Ribosomal protein S6 kinase 1 signaling regulates mammalian life span [J]. *Science*, 2009, 326: 140.
- [19] 郗蓓蓓, 闫磊, 吕舟, 等. Sch9 通过 Cdc34 调控酵母细胞的寿命和胁迫应答 [J]. *四川大学学报:自然科学版*, 2015, 52: 1145.
- [20] Blagosklonny M V. Validation of anti-aging drugs by treating age-related diseases [J]. *Aging (Albany NY)*, 2009, 1: 281.
- [21] Huang X, Liu J, Dickson R C. Down-regulating sphingolipid synthesis increases yeast lifespan [J]. *PLoS Genet*, 2012, 8: e1002493.
- [22] Linderholm A L, Findleton C L, Kumar G, *et al.* Identification of genes affecting hydrogen sulfide formation in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2008, 74: 1418.
- [23] Kabil O, Motl N, Banerjee R. H<sub>2</sub>S and its role in redox signaling [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1844: 1355.
- [24] Lowicka E, Beltowski J. Hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S)-the third gas of interest for pharmacologists [J]. *Pharmacol Rep*, 2006, 59: 4.
- [25] Suematsu M. Quartet signal transducers in gas biology [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2003, 5: 435.
- [26] Melideo S L, Jackson M R, Jorns M S. Biosynthesis of a central intermediate in hydrogen sulfide metabolism by a novel human sulfurtransferase and its yeast ortholog [J]. *Biochemistry*, 2014, 53: 4739.
- [27] Huber A, French S L, Tekotte H, *et al.* Sch9 regulates ribosome biogenesis via Stb3, Dot6 and Tod6 and the histone deacetylase complex RPD3L [J]. *EMBO J*, 2011, 30: 3052.
- [28] Beinert H, Holm R H, Münck E. Iron-sulfur clusters: nature's modular, multipurpose structures [J]. *Science*, 1997, 277: 653.
- [29] Hine C, Mitchell J R. Calorie restriction and methionine restriction in control of endogenous hydrogen sulfide production by the transsulfuration pathway [J]. *Exp Gerontol*, 2015, 68: 26.