

多球壳菌素延长裂殖酵母细胞寿命可能机制研究

高杰, 朱荣, 黄新河*

西南交通大学生命科学与工程学院, 成都 610031

摘要: 寻找抗衰老活性分子并研究其作用机制是衰老药物学的研究重点和热点。前期研究发现天然产物多球壳菌素(一种神经鞘脂合成特异性抑制剂)能够延长模式生物芽殖酵母的寿命,而裂殖酵母在进化上更接近哺乳动物,且在形态和遗传上与芽殖酵母有显著差异的另一种模式生物,本研究考察了多球壳菌素对裂殖酵母寿命的影响,并进一步研究了其调控细胞寿命的相关机制。结果显示,多球壳菌素延长裂殖酵母寿命具有保守性,其延长细胞寿命的机制包括:增强细胞压力抗性、促进糖原和海藻糖的积累、降低胞内活性氧的水平,且发现多球壳菌素介导的寿命延长依赖于压力应答类蛋白激酶 Sty1。综上,多球壳菌素是一种潜在的抗衰老药物分子,后期有望开发它用于延缓哺乳动物细胞(包括人类)衰老及预防和治疗衰老相关疾病。

关键词: 裂殖酵母;多球壳菌素;时序寿命;衰老;衰老相关疾病

中图分类号: R963

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.6.003

Possible Mechanism for Myriocin-mediated Chronological Lifespan Extension in Fission Yeast *Schizosaccharomyce pombe*

GAO Jie, ZHU Rong, HUANG Xin-he*

School of Life Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China

Abstract: Looking for anti-aging compounds and studying its action mechanism are the focus and hotspot of aging pharmacology. Previous studies had found that the natural product of myriocin (a sphingolipid synthesis inhibitor) can prolong the lifespan of model organism budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*, while the fission yeast *Schizosaccharomyce pombe* is another model organism evolutionarily closer to the mammals, and is significantly different from the budding yeast in morphology and genetics. The effect of myriocin on the lifespan of fission yeast *S. pombe* was investigated in this study, and the mechanism of myriocin-mediated lifespan regulation was further studied. The results showed that myriocin conservatively prolonged lifespan of fission yeast *S. pombe*, and mechanisms for myriocin-mediated lifespan extension included enhancing cell stress resistance, accumulation of glycogen and trehalose, reducing intracellular reactive oxygen species. Further studies showed that myriocin-mediated lifespan extension depends on the stress-responsive protein kinase Sty1. In summary, myriocin is a potential anti-aging drug molecule, in future it is expected to be developed into a new drug for the delay of mammalian cells (including humans) aging and prevention and treatment of aging-related diseases.

Key words: fission yeast; myriocin; chronological lifespan; aging; age-related diseases

衰老表现为细胞或生物体对各种压力和疾病抗性逐步下降的过程。近年研究显示,衰老是引起衰老相关疾病(包括心脑血管疾病、神经退行性疾病、II型糖尿病及部分癌症等)的主要风险因子^[1]。衰老研究的目标之一是发展一些干预措施或药物来延

缓衰老,减少衰老相关疾病的发生。近年来衰老研究取得前所未有的进展,部分衰老调控的信号通路逐步被揭开,如发现衰老进程被包括 IIS、TOR、PKA、MAPK 在内的进化上保守的营养和能量感应信号通路调控,但由于衰老调控的复杂性,其相关分子机制还有待深入研究。

从简单真核生物酵母中获得的衰老调控机制,可为包括人类在内的高等生物的衰老研究提供极具价值的参考。模式生物裂殖酵母是近年发展的用于衰老研究的新模型,在形态及遗传上与芽殖酵母有

收稿日期: 2017-01-23 接受日期: 2017-04-21

基金项目: 四川省科技厅应用基础研究项目(2016JY0113); 成都市科技局科技惠民计划(2015-HM01-00047-SF); 中央高校基本科研业务费科技创新项目(2682016 CX099); 中国大学生科研训练项目(201510613061)

* 通信作者 E-mail: xinhehuang@swjtu.edu.cn

很大不同^[2]。简言之,裂殖酵母不仅兼具芽殖酵母的优点(如便捷的基因组修改和大批量的生长分析^[3]),同时,裂殖酵母与哺乳动物共享着一些芽殖酵母中不具有的细胞过程(如 RNAi 干扰机制、核结构蛋白、染色质结合蛋白、着丝粒结合蛋白、mRNA 剪接机制等)。鉴于裂殖酵母与芽殖酵母亲缘关系较远,在进化上更接近于人类,拥有许多与人类同源的基因,所以,裂殖酵母为研究衰老的分子机制及人类衰老相关疾病提供了独特优势。

热量限制、基因操作和药物干预等被发现可延长多个物种的寿命,其中药物干预延缓衰老因其可控性较好成为当前研究热点。天然产物多球壳菌素是昆虫病原真菌冬虫夏草的代谢物,又名 ISP-1,能够抑制鞘脂合成第一步限速反应酶—丝氨酸棕榈转移酶(SPT)的酶活,降低鞘脂前体物鞘氨醇的生物合成^[4],我们前期研究显示多球壳菌素可延长芽殖酵母细胞寿命^[5]。本研究中发现多球壳菌素可保守性地延长裂殖酵母寿命,激活保守的压力响应信号通路 MAPK,调控一系列衰老相关的细胞过程(如压抗增加、ROS 水平降低、糖原和海藻糖积累等)。鉴于裂殖酵母与芽殖酵母亲缘关系较远,进化上更接近人类,以及神经鞘脂普遍存在于所有真核细胞

中,多球壳菌素或可作为一种潜在抗衰老药物,延长其他真核生物甚至人类寿命,延缓衰老及衰老相关疾病的发生。

1 材料与方法

1.1 菌株、培养基及生长条件

本研究所用菌株信息如表 1 所示。从 -80 °C 取出所需的裂殖酵母菌株,接种于 YES 平板上,30 °C 培养 2~3 d,YES 成分为:葡萄糖 30 g/L;酵母提取物 5 g/L;组氨酸、丝氨酸、亮氨酸、尿嘧啶、腺嘌呤各 225 mg/L。取新鲜平板菌落 3~5 个,接种于含有 2.5 mL YES 液体培养基的试管中,220 rpm,30 °C 培养过夜,得到过夜培养液,向盛有 25 mL YES 培养基的 150 mL 三角瓶中加入 400 μg/mL 的多球壳菌素储液 37.5 μL,使终浓度为 600 ng/mL,另一瓶加入相同体积的 95% 的乙醇,轻微振荡混匀,测定过夜培养液的 OD₆₀₀,加入一定体积(依据过夜培养液的 OD₆₀₀ 值可计算得到)的过夜培养液到盛有 25 mL 已灭菌的 YES 培养基中,保证起始浓度为 OD₆₀₀ = 0.01,置于恒温振荡培养箱中,30 °C,220 rpm 培养,于特定时间点测定其存活率,2 d 后(即 48 h)记为时序寿命第一天(即 CLS 1)。

表 1 本研究中使用到的菌株

Table 1 Genotypes of strains used in this study

菌株 Strain	基因型 Genotype	来源 Source
972 (WT)	h-	[26]
KS1366 (<i>Sty1Δ</i>)	h-spc1::ura4+	[27]
AZ103 (<i>Pyp1Δ</i>)	h-pyp1::kanMX6	[26]

1.2 时序寿命测定

采用了三种方法来测定细胞寿命:(1) Phloxin B 染色法:测定菌液 OD₆₀₀,取一定体积 OD₆₀₀ 为 0.5 的菌液(即测得的 OD₆₀₀ 如果为 1,则取 0.5 mL 的菌液),5000 rpm 离心 3 min,用无菌水洗一次后加入 1 ml 无菌水重悬浮细胞,加入 1 mg/mL 的 Phloxin B 储液,使其终浓度为 5 mg/L;于 30 °C 摇床避光温育 2 h,用 1 × PBS(137 mM NaCl;2.7 mM KCl;100 mM Na₂HPO₄;2 mM KH₂PO₄;pH 7.4)将细胞洗 3 次,置于荧光显微镜下,观察拍照,死细胞能被 Phloxin B 染色而活细胞不能,统计死活细胞比例,计算出存活率^[6];(2)点分析法(Spot Assay):取一定体积 OD₆₀₀ 为 0.5 的菌液,离心后加无菌水至 1 mL,10 倍稀释 5 个梯度,点 3.5 μL 于 YES 平板上,30 °C 培养 3 d,

观察细胞存活情况;(3)克隆计数法(Colony Forming Units, CFU):将细胞按不同时间点稀释不同的倍数,涂布于 YES 平板,30 °C 培养 3 d,统计菌落数,以 CLS1 存活率记为 100%,计算出细胞存活率^[7]。

1.3 压抗分析

取一定体积 OD₆₀₀ 为 0.5 的菌液离心,去上清液后将菌体悬浮于配好的各种浓度的试剂(0.5 M H₂O₂,0.1 M HAc,0.3 M KCl)中,处理到指定的时间(如 30 min,60 min,90 min)后离心,用无菌水洗一次,向菌体中加入 1 mL 无菌水悬浮,稀释 5 个梯度,点 3.5 μL 于 YES 平板上^[6];热抗分析^[6]:取一定体积 OD₆₀₀ 为 0.5 的菌液离心,去上清液后将菌体悬浮于 1 mL 无菌水中,稀释 5 个梯度,点 3.5 μL 于 YES 平板,将 4 个平板中的一个放在 30 °C 下培养,

另三个同时放入 55 °C 恒温箱,热击 30 min,60 min,90 min 后分别置于 30 °C 下培养 3 d;CdCl₂ 和 FeCl₃ 抗性分析^[8]:加入过液培养液于 10 mL YES 培养基中培养至 OD₆₀₀ 为 0.8 ~ 1.0,取 1 mL 菌液于 10 mL YES 中,加入或不加多球壳菌素,加入 CdCl₂ 和 FeCl₃,使终浓度分别为 1 mM 和 10 mM,处理 1 h,收集菌体,稀释 5 个梯度,点 3.5 μL 于 YES 平板,30 °C 培养 3 d。

1.4 ROS 的测定

取一定体积 OD₆₀₀ 为 0.5 的 CLS1,CLS3,CLS6 时间点(CLS1 为培养 48 h)的菌液,5000 rpm 离心 3 min,用无菌水洗一次后加入 1 mL 30 μM 的

DHR123,于 30 °C 避光温育 30 min,用 1 × PBS(137 mM NaCl;2.7 mM KCl;100 mM Na₂HPO₄;2 mM KH₂PO₄;pH 7.4)将细胞洗 3 次,置于荧光显微镜下,观察拍照,统计视野中被染色细胞的比例^[6]。

1.5 糖原及海藻糖检测方法

取一定体积 OD₆₀₀ 为 10 的菌液(即测得的 OD₆₀₀ 如果为 1,则取 10 mL 的菌液)于 15 mL 离心管中,4000 rpm 离心 5 min,用冷的无菌水洗一次后离心(4000 rpm,5 min,),将细胞悬浮于 0.3 mL 0.25 M Na₂CO₃ 中,转移至 2 mL EP 管中,98 °C 温育 4 h,于冰上冷却 1 min,加入 0.18 mL 1 M 乙酸和 0.72 mL 0.2 M 乙酸钠,将样品分成 3 份,每份 0.4 mL,其中

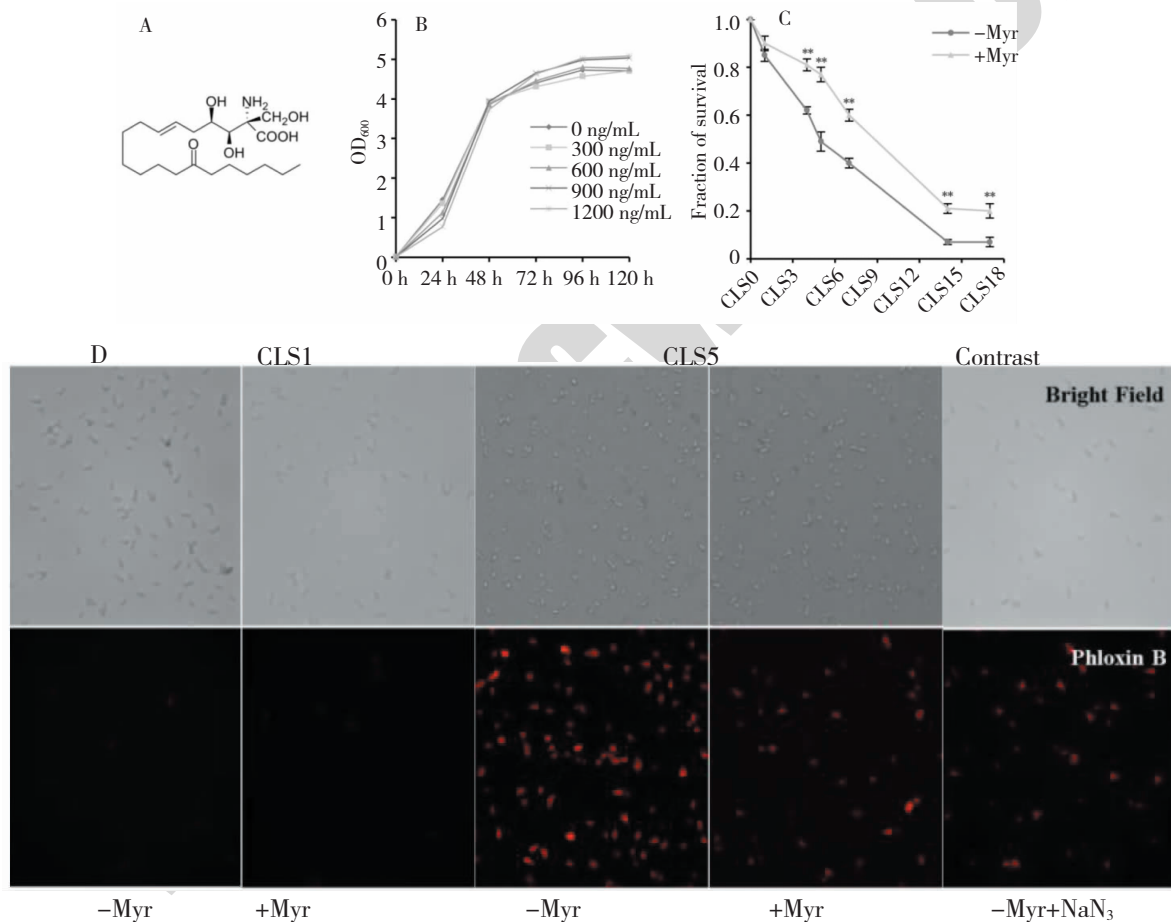


图 1 多球壳菌素延长野生型裂殖酵母细胞时序寿命

Fig. 1 Myriocin treatment extends chronological lifespan of wild type fission yeast cells

注:(A)多球壳菌素结构式;(B)多球壳菌素对野生型裂殖酵母生长的影响;(C)将 CLS1 及 CLS5 细胞通过荧光染料 Phloxin B 进行染色,荧光显微镜分析细胞存活率。其中取对数期的细胞加入 1% NaN₃ 处理 2 h 后染色作为实验对照。(D)通过 Phloxin B 染色后统计活细胞比例得到的存活曲线(* * $P < 0.01$)

Note:(A) The structural formula of myriocin;(B) Growth rate of WT cells treated with myriocin or not;(C) Cells from CLS1 and CLS5 cultures were stained with the fluorescent vital dye Phloxin B, and then analyzed by fluorescence microscopy. Nonstained cells under fluorescence microscope were considered as alive. Cells from exponentially growing cultures were treated by 1% NaN₃ and then were stained by Phloxin B. (D) Survival curves measured by vital staining with Phloxin B (* * $P < 0.01$, No Myr Vs Myr treatment)

0.4 mL 不做处理,室温放置,0.4 mL 用于海藻糖分析,加入 0.025 U/mL 海藻糖酶,37 °C 搅拌过夜,0.4 mL 用于糖原分析,加入 1.2 U/mL 淀粉酶,57 °C 搅拌过夜,最大速度离心样品 3 min,将上清液转移至新管中,采用葡萄糖测定试剂盒分析葡萄糖含量^[9]。

2 结果与分析

2.1 多球壳菌素处理延长裂殖酵母细胞时序寿命

前期发现多球壳菌素(其结构式如图 1A 所示)能够显著延长芽殖酵母的时序寿命^[5]。本研究也发现,接种后 48 h 内,多球壳菌素对野生型裂殖酵母细胞生长的影响呈剂量依赖性抑制关系(图 1B),这与文献报道的其他抗衰老药物(如雷帕霉素、咖啡因和白藜芦醇等)能够引起早期的生长抑制现象相一致^[10-12]。根据生长曲线,采用中等生长抑制剂量 600 ng/mL 的多球壳菌素来处理裂殖酵母细胞,

并通过荧光染料 Phloxin B 染色法来测定细胞的存活率,结果显示,600 ng/mL 的多球壳菌素能够显著延长野生型酵母细胞的时序寿命(图 1C、D)。

2.2 多球壳菌素处理增强裂殖酵母细胞的压力抗性

衰老的典型特征表现为细胞或生物体对各种压力和疾病的抗性逐步下降的过程,大量证据表明增强细胞对环境压力抗性能够延长多种生物的寿命^[13,14]。我们检测了多球壳菌素对裂殖酵母细胞多种压力抗性的影响,包括 H₂O₂ 诱导的氧化压力抗性、热抗、KCl 诱导的高盐离子抗性、HAc 诱导的酸性压力抗性以及 CdCl₂ 和 FeCl₃ 诱导的重金属离子压力抗性。结果显示,多球壳菌素处理能够增强裂殖酵母细胞的热压抗性(图 2A),氧化压力抗性(图 2B)、酸性压力抗性(图 2C)、盐离子抗性(图 2D)以及重金属离子抗性(图 2E)。换言之,多球壳菌素延长裂殖酵母细胞的寿命可能与其能够提高细胞的抗环境压力有关。

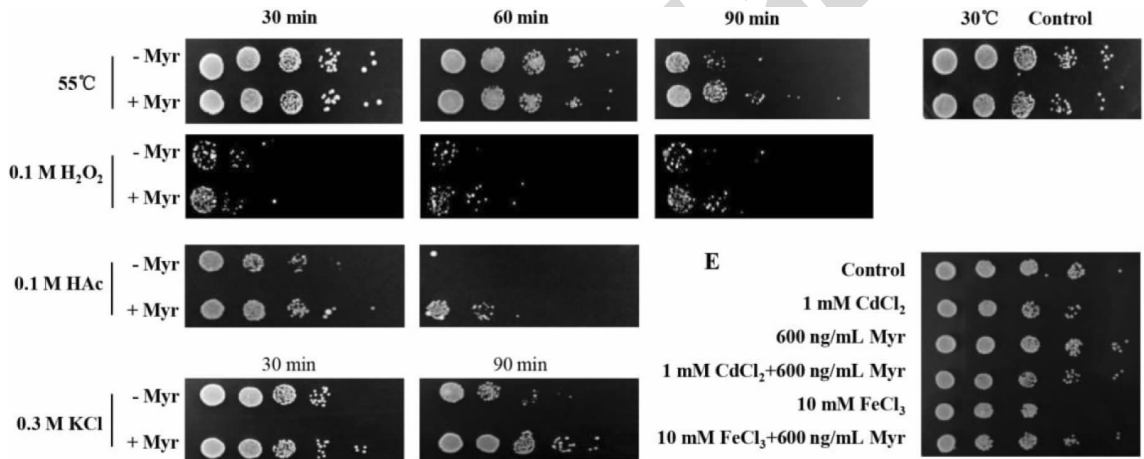


图 2 多球壳菌素处理对裂殖酵母细胞压力抗性的影响

Fig. 2 Stress resistance of myriocin-treated WT cells under various environmental stresses

注:(A)多球壳菌素对野生型裂殖酵母热压抗性的影响;(B)多球壳菌素对野生型裂殖酵母氧化压力抗性的影响;(C)多球壳菌素对野生型裂殖酵母乙酸抗性抗性的影响;(D)多球壳菌素对野生型裂殖酵母盐离子抗性的影响;(E)多球壳菌素对野生型裂殖酵母重金属离子抗性的影响

Note:(A) Resistance of myriocin-treated WT cells to heat shock (55 °C);(B) Resistance of myriocin-treated WT cells to H₂O₂ (100 mM);(C) Resistance of myriocin-treated WT cells to KCl (0.3 M);(D) Resistance of myriocin-treated WT cells to acetic acid (0.1 M);(E) Resistance of myriocin-treated WT cells to CdCl₂ (1 mM) and FeCl₃ (10 mM). A ten-fold dilution series of cells (from left to right) were spotted onto media to measure survival.

2.3 多球壳菌素处理降低胞内 ROS 水平

ROS 的产生是造成细胞氧化损伤的主要原因之一,伴随着衰老发生,ROS 的产生逐步增加,引起胞内脂质、蛋白和核酸等生物大分子的损伤积累,最终导致细胞功能损伤,引起细胞死亡。利用自由基荧光染料罗丹明 123 (dihydrorhodamine 123,

DHR123)检测 ROS 的在胞内的积累情况,结果显示,与未处理细胞相比,多球壳菌素处理能够显著降低胞内 ROS 的水平(图 3A、B)。

2.4 多球壳菌素处理增加胞内糖原及海藻糖含量

糖原和海藻糖作为胞内储存的主要的碳水化合物,是细胞进入稳定期的能量来源。研究表明积累

和有效的利用这些营养储备与酵母细胞寿命的延长密切相关^[15,16]。通过将胞内糖原和海藻糖用相应的酶分解为葡萄糖,进而测定葡萄糖含量,来检测多球壳菌素处理对细胞内糖原和海藻糖含量的影响。

结果显示,多球壳菌素能够显著增加胞内糖原与海藻糖的含量(图4),推测多球壳菌素可能通过增加胞内储备碳源来增强细胞应对外部不利的环境,延长细胞寿命。

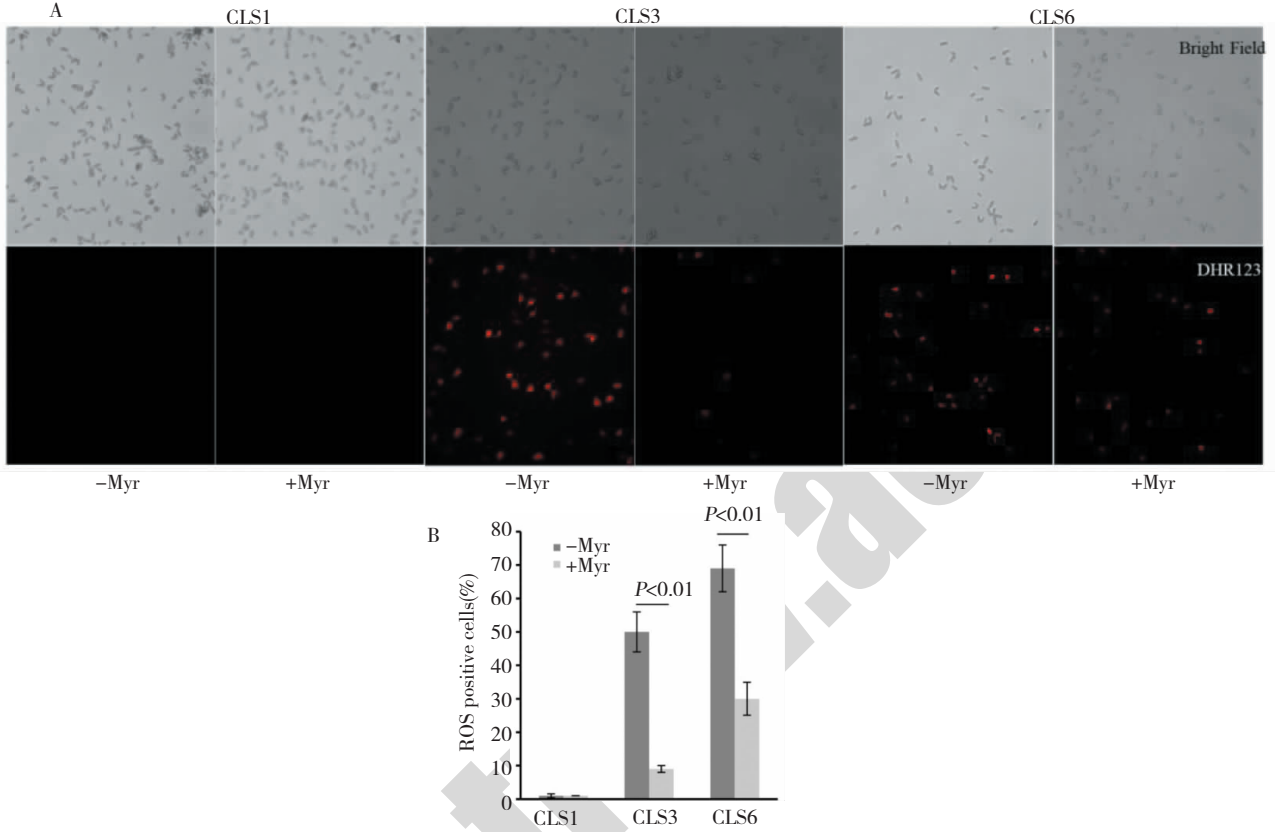


图3 多球壳菌素处理降低裂殖酵母胞内 ROS 水平

Fig. 3 Myriocin-treated WT cells show less accumulation of ROS

注:(A) ROS 荧光染料染色细胞在荧光显微镜下拍照的图片;(B)野生型裂殖酵母中 DHR123 染色的细胞占总细胞的百分比

Note:(A) Wild-type strains were incubated with the ROS probe DHR123 and cells were observed under fluorescence microscopy;(B) Percentages of ROS accumulation are displayed for wild-type strains. All data were presented as mean ± SD. P values were calculated by Student's t-test.

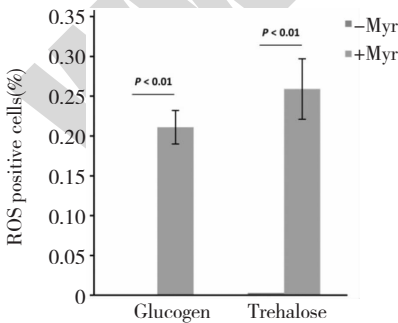


图4 多球壳菌素处理增加裂殖酵母胞内糖原和海藻糖含量

Fig. 4 Trehalose and glycogen contents was measured in WT cells treated with myriocin or not

Note: All data were presented as mean ± SD. P values were calculated by Student's t-test

2.5 多球壳菌素延长裂殖酵母寿命部分依赖于蛋白激酶 Sty1 信号通路

在裂殖酵母中,一种压力激活的蛋白激酶(stress-activated protein kinase, SAPK)为 MAP 蛋白激酶(Mitogen-activated protein kinases, MAPK) Spc1/Sty1,它在功能上同源于哺乳动物 p38 MAP 蛋白激酶,能够响应于各种环境压力,包括渗透压力,氧化压力,热激,营养限制和炎症细胞因子等^[17]。为探索 Sty1 在多球壳菌素介导的寿命延长中是否发挥作用,检测了 Sty1 缺失突变株(*Sty1Δ*)及相应野生型菌株(WT)在是否加药情况下的寿命和热抗。发现 *Sty1Δ* 相较于 WT 寿命更短,多球壳菌素能够延长 WT 的寿命,而不能延长 *Sty1Δ* 的寿命(图

5A)。增强热抗是寿命延长的重要表型,热抗结果显示多球壳菌素能够增强 WT 的热抗而不能增强 *Sty1Δ* 的热抗(图 5B),同时,多球壳菌素处理能增加胞内 *Sty1* 蛋白的含量(图 5C),这些结果表明,多球壳菌素延长裂殖酵母寿命部分依赖于蛋白激酶 *Sty1*。*Sty1* 能够被磷酸化而激活,而 *Pyp1* 作为 *Sty1* 的磷酸酶,能够导致 *Sty1* 的去磷酸化,我们进一步

检测多球壳菌素对 *Pyp1Δ* 的寿命和热抗的影响,结果显示,多球壳菌素能进一步延长 *Pyp1Δ* 细胞寿命(图 5D)并进一步增强 *Pyp1Δ* 细胞热抗(图 5B)。同时多球壳菌素处理并不能增强 *Sty1* 磷酸化水平(图 5C)。综上,多球壳菌素介导的细胞寿命延长虽依赖于 *Sty1*(主要通过增强 *Sty1* 蛋白表达实现),但并不依赖于 *Pyp1* 及其介导的 *Pyp1-Sty1* 磷酸化而实现。

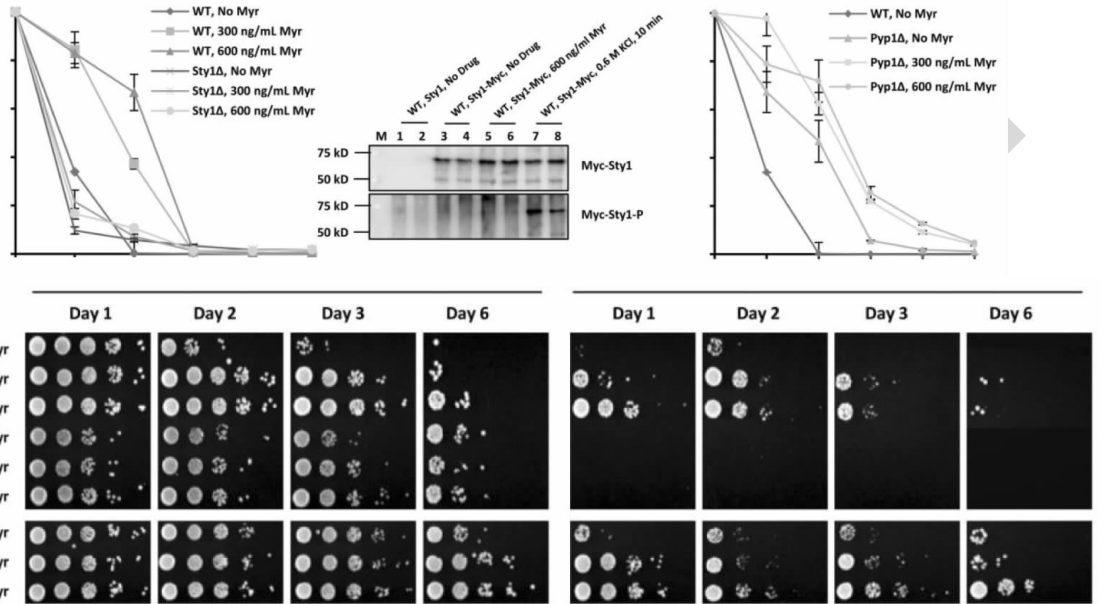


图 5 多球壳菌素介导的细胞寿命延长依赖于 *Sty1*

Fig. 5 Myriocin-mediated lifespan extension depends on *Sty1*

注:(A)多球壳菌素处理对 WT 及 *Sty1Δ* 寿命的影响;(B)多球壳菌素处理对 WT、*Sty1Δ* 及 *Pyp1Δ* 细胞热抗的影响;(C)多球壳菌素处理对 *Sty1* 蛋白表达及其磷酸化水平的影响;(D)多球壳菌素处理对 *Pyp1Δ* 细胞寿命的影响

Note:(A) Effects of myriocin treatment on lifespan of WT and *Sty1Δ* strains;(B) Effects of myriocin treatment on heat stress resistance of WT, *Sty1Δ* and *Pyp1Δ* strains;(C) Effects of myriocin treatment on abundance and phosphorylation of *Sty1*;(D) Effects of myriocin treatment on lifespan in *Pyp1Δ* strain

3 讨论与结论

衰老的细胞对环境压力抗性逐步降低,反之,较强的压力抗性是长寿细胞的普遍表型。采用 55 °C 热激和 100 mM 过氧化氢处理裂殖酵母细胞,显示多球壳菌素能够增强细胞的热抗及氧化压力抗性(图 2A、B)。进一步检测多球壳菌素处理对其他环境压力抗性的影响,包括 HAc 诱导的酸性压力, KCl 诱导的高盐离子压力,发现多球壳菌素能够增强细胞的酸抗和盐离子抗性(图 2C、D)。这与现有的大部分文献中报道的增强压力抗性延长寿命相一致^[13,20,21]。镉离子和三价铁离子作为重金属离子,与过氧化氢一样能导致胞内氧化压力,造成细胞氧

化损伤,引起细胞毒性^[22,23]。多球壳菌素能减轻镉离子毒性(图 2E),可能是通过增强细胞氧化压力抗性实现,这与前面多球壳菌素能够增强过氧化氢导致的氧化压力抗性结果一致。多球壳菌素还能够减轻三价铁离子毒性(图 2E),结果与 Lee 等^[23]在芽殖酵母中得到结果相一致。衰老的氧化自由基理论认为 ROS 是导致细胞氧化损伤进而引起细胞衰老的主要原因,多球壳菌素能降低胞内 ROS 的水平(图 3),这或许是其延长寿命的机制之一。糖原和海藻糖作为主要的碳水化合物为细胞提供能量,积累碳水化合物(糖原和海藻糖),是细胞对饥饿胁迫的保守性压力响应,用以保证细胞的长期最大化生存^[16]。多种研究表明积累和有效的利用这些营养储备是酵母长寿的标志之一,这和压力响应有着重

要关联,如海藻糖作为压力保护剂参与抵抗热、寒冷、干燥、低氧和氧化压力等不利生存的环境。同时,糖原和海藻糖介导的热压忍耐可通过稳定蛋白结构,改变蛋白周围水环境^[24],阻止蛋白热变性和错误折叠蛋白质的聚集^[25]。多球壳菌素处理增加胞内糖原和海藻糖含量(图4),这很可能也是其介导寿命延长的一个重要机制。

MAPK 作为一种压力激活的蛋白激酶,能够响应于各种环境压力。MAPK 信号通路的激活与寿命延长有着密切的联系。多球壳菌素处理能够导致 Sty1 蛋白表达的升高(图 5C),激活 Sty1 MAPK 信号通路,且多球壳菌素不能够延长 Sty1Δ 的寿命(图 5A 和图 5B),这些结果均表明球壳菌素延长寿命需要 Sty1 MAPK 的参与。如同 CR 作为一种环境压力同样能够在裂殖酵母中通过 Sty1 激活 SAPK 信号通路,延长其时序寿命^[26],多球壳菌素介导的寿命延长机制可能部分与 CR 相同。同时,多球壳菌素能进一步延长 Pyp1Δ 细胞寿命(图 5D),且不能增强 Sty1 磷酸化水平(图 5C),这些结果表明多球壳菌素介导的细胞寿命延长虽依赖于 Sty1(主要通过增强 Sty1 蛋白表达实现),但并不依赖于 Pyp1 及其介导的 Pyp1-Sty1 磷酸化而实现。关于多球壳菌素何如精确调控 Sty1 信号通路进而调控细胞寿命的分子机制还有待下一步深入研究。

综上,多球壳菌素能够通过激活 Sty1 MAPK 信号通路,提高裂殖酵母对多种环境压力的抗性,降低其胞内 ROS 的生成,积累胞内的糖原和海藻糖,最终导致寿命的延长。结合前期发现的多球壳菌素能够延长芽殖酵母的寿命,显示其或许能够延长其他真核生物(包括哺乳动物)寿命,延缓衰老及衰老相关疾病的发生。

参考文献

- 1 Lopez-Otin C, Blasco M A, Partridge L, *et al.* The hallmarks of aging. *Cell*, 2013, 153:1194-1217.
- 2 Roux AE, Chartrand P, Ferbeyre G, *et al.* Fission yeast and other yeasts as emergent models to unravel cellular aging in eukaryotes. *J Gerontol Series A, Biol Sci Med Sci*, 2010, 65(1):1-8.
- 3 Veal EA, Tomalin LE, Morgan BA, *et al.* The fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* as a model to understand how peroxiredoxins influence cell responses to hydrogen peroxide. *Biochem Soc Trans*, 2014, 42:909-916.
- 4 Wadsworth JM, Clarke DJ, McMahon SA, *et al.* The chemical

- basis of serine palmitoyltransferase inhibition by myriocin. *J Am Chem Soc*, 2013, 135:14276-14285.
- 5 Huang X, Liu J, Dickson RC. Down-regulating sphingolipid synthesis increases yeast lifespan. *PLoS Genetics*, 2012, 8(2):e1002493.
- 6 Roux AE, Quissac A, Chartrand P, *et al.* Regulation of chronological aging in *Schizosaccharomyces pombe* by the protein kinases Pka1 and Sck2. *Aging Cell*, 2006, 5:345-357.
- 7 Chen BR, Runge KW. A new *Schizosaccharomyces pombe* chronological lifespan assay reveals that caloric restriction promotes efficient cell cycle exit and extends longevity. *Experimental Gerontol*, 2009, 44:493-502.
- 8 Kerdsoomboon K, Tatip S, Kosasih S, *et al.* Soluble *Moringa oleifera* leaf extract reduces intracellular cadmium accumulation and oxidative stress in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biosci Bioeng*, 2016, 121:543-549.
- 9 Hu J, Wei M, Mirzaei H, *et al.* Tor-Sch9 deficiency activates catabolism of the ketone body-like acetic acid to promote trehalose accumulation and longevity. *Aging Cell*, 2014, 13:457-467.
- 10 Rallis C, Codlin S, Bahler J. TORC1 signaling inhibition by rapamycin and caffeine affect lifespan, global gene expression, and cell proliferation of fission yeast. *Aging Cell*, 2013, 12:563-573.
- 11 Wang Z, Gu Z, Shen Y, *et al.* The natural product resveratrol inhibits yeast cell separation by extensively modulating the transcriptional landscape and reprogramming the intracellular metabolome. *PLoS One*, 2016, 11(3):e0150156.
- 12 Liu Y, Wu Z, Feng S, *et al.* Hormesis of glyceollin I, an induced phytoalexin from soybean, on budding yeast chronological lifespan extension. *Molecules*, 2014, 19:568-580.
- 13 Benedetti MG, Foster AL, Vantipalli MC, *et al.* Compounds that confer thermal stress resistance and extended lifespan. *Exp Gerontol*, 2008, 43:882-891.
- 14 Epel ES, Lithgow GJ. Stress biology and aging mechanisms: toward understanding the deep connection between adaptation to stress and longevity. *J Gerontol Series A, Biol Sci Med Sci*, 2014, 69 Suppl 1:S10-16.
- 15 Kyrakov P, Beach A, Richard VR, *et al.* Caloric restriction extends yeast chronological lifespan by altering a pattern of age-related changes in trehalose concentration. *Frontiers Physiol*, 2012, 3:256.
- 16 Ocampo A, Liu J, Schroeder EA, *et al.* Mitochondrial respiratory thresholds regulate yeast chronological life span and its extension by caloric restriction. *Cell Metabol*, 2012, 16(1):55-67.