

酿酒酵母基因组的研究进展*

Progress of *Saccharomyces cerevisiae* Genome Research

龙思宇, 陈 东

LONG Si-yu, CHEN Dong

(广西科学院, 非粮生物质酶解国家重点实验室, 国家非粮生物质能源工程技术研究中心, 广西生物质产业化工程院, 广西生物炼制重点实验室, 广西南宁 530007)

(Guangxi Academy of Sciences, State Key Laboratory of Non-food Biomass and Enzyme Technology, National Engineering Research Center for Non-food Biorefinery, Guangxi Biomass Industrialization Engineering Institute, Guangxi Key Laboratory of Biorefinery, Nanning, Guangxi, 530007, China)

摘要: 酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)是第一个完成全基因组测序工作的真核生物,目前在结构基因组学、功能基因组学、模式生物、最小基因组、比较基因组学等方面的研究已经获得了重大的进展,为人类更深入地研究高等生物基因组打下了坚实的基础。本文将从这几个方面着手对酿酒酵母基因组的研究进展进行综述。

关键词: 酿酒酵母基因组 结构基因组学 功能基因组学 模式生物 最小基因组 比较基因组学

中图分类号: TS262.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-7378(2014)02-0082-06

Abstract: The genome of *Saccharomyces cerevisiae* has been completely sequenced and data collected representing the first complete set of genes from an eukaryotic organism. It is a powerful model for the studies of genomes of higher organisms including human-beings. Progree of *Saccharomyces cerevisiae* genome research will be reviewed in this article, including structural genomics, functional genomics, model organism, the minimal genome and comparative genomics.

Key words: *Saccharomyces cerevisiae* genome, structural genomics, functional genomics, model organism, minimal genome, comparative genomics

人类对酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)基因组的研究,已有很长的历史,积累了大量的遗传学和生物信息学方面的资料。1974年 Clark-Walker等^[1]发现大多数酿酒酵母中存在一种质粒,即 $2\mu\text{m}$ 质粒,每个二倍体细胞有50~100个拷贝。1978年 Hinnen等^[2]实现了酿酒酵母*Leu2*基因的导入技术。20世纪80年代初 Hitzeman等^[3]利用

酿酒酵母表达了人类干扰素基因,实现了酵母基因表达技术上的重要突破,使应用酿酒酵母这种单细胞真核生物表达外源基因越来越受重视。1989年 Fields等^[4]建立了酵母双杂交系统,并被广泛用来研究基因组编码的蛋白质之间的相互作用。1996年,酿酒酵母完成了全基因组的测序工作,标志着酿酒酵母基因组学全面发展时代的到来。本文将重点概述近年来酿酒酵母基因组学在结构基因组学、功能基因组学、模式生物、最小基因组学以及比较基因组学方面的研究现状及取得的成果。

收稿日期:2013-10-16

修回日期:2013-11-01

作者简介:龙思宇(1984-),女,工程师,主要从事信息生物学相关研究。

* 广西科学院基本科研业务费项目(11YJ24SW07)资助。

1 酿酒酵母全基因组的序列信息

酿酒酵母基因组由 16 条染色体组成,大小为 12.052Mb,共有 6275 个基因,基因组全长 13,030,000 bp。基因组中共有 5885 个蛋白质编码基因,即 ORFs(Open Reading Frames, 开放阅读框),平均长度是 1450bp,共 483 个密码子。最长的 ORF 位于酿酒酵母的第 12 号染色体(chrX II)上,它是一个未知功能的 ORF,约有 4910 个密码子^[5]。另有 275 个编码 tRNA 基因和 40 个编码 snRNA(small nuclear RNA)的基因,广泛分布在 16 条染色体上;位于 12 号染色体的长末端上约有 140 个编码 rRNA 基因^[6]。此外,酿酒酵母中约 4% 的编码基因(大多数为 tRNA 基因)有内含子,通常这些内含子位于靠近 rRNA 基因的起始部分,缺失突变体的覆盖率达到 90%^[7]。根据酿酒酵母基因组数据库(Saccharomyces Genome Database, SGD, <http://www.yeastgenome.org>)的报道,我们提供了酿酒酵母基因在各染色体上分布的大致情况(表 1)。

表 1 酿酒酵母染色体数据简况

染色体编号	长度(bp)	基因数(个)	tRNA 基因数(个)
1	23000	89	4
2	807188	410	13
3	315000	182	10
4	1531974	796	27
5	569202	271	13
6	270000	129	10
7	1090936	572	33
8	561000	269	11
9	439886	221	10
10	745442	379	24
11	666448	331	16
12	1078171	534	22
13	924430	459	21
14	784328	419	15
15	1092283	560	20
16	948061	487	17

全基因组测序工作也揭示了碱基的组成情况,许多酿酒酵母染色体由交替的 GC 含量高和 GC 含量低的区段所组成,GC 含量的分布变化通常与这些染色体上的基因密度分布变化相一致。例如,在 3 号染色体,碱基组成的周期性变化与染色体臂上的基因重组频率的变化相一致。GC 富集区就是染色体臂中部的重组频率高的区域,AT 富集区又与重组频率低的端粒和着丝粒区域序列对应^[8]。4 个最小的染色体(1 号,3 号,6 号和 9 号)表现出的平

均重组率超过整个基因组水平的 1.3~1.8 倍^[9]。

2 酿酒酵母结构基因组学的研究

随着酿酒酵母全基因组测序的完成,酿酒酵母结构基因组学的研究进入一个全新的发展时期,其研究的内容主要是通过构建酿酒酵母基因组高分辨率的遗传图谱、物理图谱、序列图谱以及基因图谱,来测定蛋白质的组成和结构^[10]。最初的研究主要利用 DNA 多态性及分子标记等手段来建立遗传连锁图谱、确定遗传标志间的物理距离,并采用全基因组鸟枪法(shotgun)策略完成全基因组测序^[11];同时利用实验方式(如 X 射线晶体学、核磁共振谱学和电子显微学)来测定蛋白质结构,并结合同源建模等计算方式来推测蛋白质结构^[12]。近年来,计算机信息技术和互联网的发展使得在结构基因组学的研究过程中,对大型数据的收集、存储、处理和分析成为可能,酿酒酵母结构基因组学的研究从单一的实验方法走向利用快速、高通量(high throughput)技术构建庞大的代谢通路和基因图谱的方向^[13],即从宏观上探讨复杂的生命活动规律,为高等生物基因组学研究提供模型,并且日益显现出强大的生命力。Nagalakshmi 等^[14]应用 RNA-测序技术构建了一个酿酒酵母基因组高分辨率转录因子组图,覆盖了 74.5% 的非重复序列,包含非编译区、内含子区、编码区,鉴定许多已被预测的内含子、起始密码子和上游开放阅读框。早在 2006 年, Brenda 和 Charles 等^[15]为了系统地探索基因超表达表型,构建了一个具有 5280 种酵母菌株的列阵图谱,覆盖大于 80% 的基因组,富集了细胞周期调控基因、信号分子、转录因子等。在前面研究的基础上,2010 年 Brenda 和 Charles 等^[16,17]与他们的研究团队又通过 SGA(Synthetic genetic array)方法,构建了一张基因组规模的酿酒酵母相互作用图谱,涵盖了 75% 的酿酒酵母基因,大规模地解释了遗传水平上基因的相互作用和基因功能,通过与该图谱比对,研究人员就可以很快地找到某个未鉴定基因的功能,是酿酒酵母功能基因组学发展过程中的一大突破。综上所述,结构基因组学已经成为酿酒酵母基因组研究的重要组成部分,成为生命科学研究的基础。

3 酿酒酵母功能基因组学的研究

结构基因组学的发展,实现了酿酒酵母完整基因组数据库的建立,并提供了大量的遗传数据信息,但是利用结构基因组学所测定的蛋白质通常是功能

未知的蛋白质,为了能系统地研究基因功能,科学家在结构基因组学的基层上创立了功能基因组学。功能基因组学以高通量、大规模统计及计算机分析为特征,在基因组水平上全面分析基因的功能,使得基因组研究从静态地对单一基因或蛋白质的研究转向动态地对多个基因或蛋白质同时进行及其相互之间作用的系统研究中^[18]。

近年来,巨大的数据信息促进了酿酒酵母功能基因组学的迅速发展。酿酒酵母功能基因组学主要通过计算机网络、数据库和应用软件等手段,综合地对酿酒酵母核酸和蛋白质序列进行分析并解读其在功能与结构上所表达的生物信息^[19]。目前其主要的研究内容有:高通量地注释酿酒酵母基因组的所有编码产物的生物学功能;注释所有预测基因的功能;结合生物学实验,构建在生物体内各基因相互调节的网络。这些研究内容具体体现在相应的高通量生物技术手段的广泛应用,如 DNA 点阵、基因重组、基因芯片和蛋白质芯片技术等。Johansson 等^[20]利用 DNA 微矩阵建模技术,鉴定了酿酒酵母 455 个转录子在基因表达水平上与细胞周期有关。Hayashi 等^[21]利用 DNA 芯片技术鉴定了裂殖酵母 (*Schizosaccharomyces*) 的复制起始位点和前复制复合物,在基因间隔区域发现 460 个前复制复合物,其中 307 个为早期起始点,153 个为后期起始点或无效位点。Ashton 等^[22]利用酿酒酵母同源重组稳定高效地表达了霍利迪连结点(Holliday junction),筛选出具有高水平表达功能的酵母菌株,为目的基因的稳定高效表达奠定了基础。Fasolo 等^[23]利用蛋白芯片技术全面检测了大部分酿酒酵母的蛋白激酶,鉴定了 1023 个蛋白质-蛋白质相互作用活性关联,为进一步了解酵母蛋白激酶功能和细胞代谢机制提供了大量宝贵信息。

随着功能基因组学的发展,相关的基因组表达及功能鉴定的信息被广泛的应用到工业化生产中,同样地酿酒酵母功能基因组学的研究也日益向工业化方向发展。通过对酿酒酵母基因突变体的系统鉴定,科学家发现基因序列微小的改变,能导致相应的基因功能的改变^[24],因此研究基因组水平上基因序列的差异性,找出突变基因,可以在实验上指导优良新型菌株的构建,这一技术现已被应用到现代乙醇发酵工业生产中。Argueso 等^[25]通过序列比对的方法对乙醇发酵工业优良酵母菌株 PE-2 与其他普通菌株相比较,发现该菌株染色体末端具有明显突变性差异。实验证实 PE-2 具有耐高温、抗氧化同

时高产乙醇的优良特征。所以对 PE-2 进行基因的改造,构建新的工业用高产乙醇酵母菌株,势将成为推动工业乙醇生产的新技术。Stambuk 等^[26]比对了 5 株工业上用于甘蔗乙醇发酵的酵母菌株的全基因组结构序列,发现 5 株菌株中调控维生素 B6 (pyridoxine) 和 B1 (thiamin)生物合成的端粒基因 SNO 和 SNZ 都有显著的扩增,这些基因拷贝数的增加使酵母菌能够在维生素供应有限且糖浓度很高的环境下生长,基因水平上的改变使酵母菌在工业生产中具备更良好的适应性和竞争优势。由此可见,从功能基因组学的角度研究酵母乙醇发酵功能,对提高工业生物乙醇生产效率具有重要的意义。

4 酿酒酵母被作为模式生物的研究

自 1996 年以来,酿酒酵母作为真核模式生物已经完成了全基因组测序、转录组分析、蛋白质相互作用网络图以及代谢功能图谱等工作。在众多的模式生物中,对酿酒酵母的研究最为深入,且最为广泛地被运用到各个领域^[27]。作为模式生物的先驱,酿酒酵母的优势在以下两个方面的应用尤为突出。

4.1 酿酒酵母作为模式生物在外源基因功能鉴定中的应用

酿酒酵母基因组小,生命周期短,繁殖快速,再加上实验操作上更简易,具有简便的平板影印能力,非常适合遗传学上的分析研究。同时,酿酒酵母具有稳定的单倍体和二倍体细胞,在实验条件下,酿酒酵母的二倍体和单倍体这两种状态可以相互转换,在众多的模式生物中,这是酿酒酵母较为突出的优点,这在基因功能鉴定上的应用尤为重要。目前,酿酒酵母基因转化与性状互补已经被广泛的应用到确定新外源基因的功能中。理论上,与任何一种遗传学特征相对应的不同生物的结构基因都可以通过质粒文库的互补作用,而在酿酒酵母缺失突变体中得到鉴定^[28]。研究表明,利用整合型质粒(Yip 型),可以精确地对酿酒酵母基因组中的任意基因进行置换,并可以通过孢子繁殖中的四分体分析技术,有效地进行相关基因功能的观测和研究^[29]。另外,也可以将外源基因克隆于酿酒酵母表达载体上,转化野生型或突变型酵母菌株,通过观察酵母的表型变化来推测该基因的生物学功能。例如,科学家将玉米中可能编码脂肪酸脱氢酶的基因 *fad2* 导入野生型的酵母细胞中,利用基因表达技术,发现带有玉米基因的野生型酵母中出现了相应的不饱和脂肪酸,证明该基因具有编码脂肪酸脱氢酶的功能^[30]。

4.2 酿酒酵母作为模式生物在人类基因功能研究中的应用

酿酒酵母作为单细胞真核生物,具有和动植物相似的结构特征,包括细胞核、内质网、高尔基体、线粒体、过氧化物酶体、细胞骨架等,而且其细胞和动植物细胞的生长发育所发生的细胞过程也有很高的相似性,也就是说某些较为复杂的生命活动可以在酿酒酵母中找到,例如酿酒酵母在减数分裂、细胞周期调控以及 DNA 的修复这些方面的控制基因与人类的基因具有高度同源性。

作为模式生物,酿酒酵母在人类基因功能研究上作出了很大的贡献,若一个未知功能的人类基因通过功能互补实验能够补偿酿酒酵母当中某一个已知功能的突变基因,那么,这个未知功能的人类基因与已知功能的酿酒酵母突变基因之间就具有相似的功能。例如,人类有 3 个基因与半乳糖血症有关,它们分别是 *GALT* (UDP-半乳糖转移酶)、*GALK2* (半乳糖激酶)以及 *GALE* (UDP-半乳糖异构酶),相对应的,它们分别能补偿酿酒酵母中相应的 *GAL7*、*GAL1*、*GAL10* 这 3 个基因的突变^[31]。利用酿酒酵母这种模式生物与人类基因之间的功能互补实验,越来越多两者相关基因在遗传学水平上被验证。现在已经发现 71 对酿酒酵母与人类的互补基因,其中:20 个基因与基础代谢有关;16 个与基因表达有关;1 个与蛋白质运输有关;7 个与 DNA 的合成修复有关;7 个与信号转导相关;17 个与细胞周期有关^[32]。实验表明,在人类的遗传疾病中能够检测到接近 50% 的蛋白质和酿酒酵母蛋白质在氨基酸序列上具有一定的相似性^[33],所以,我们能够较为合理地推测大部分的酵母蛋白质可以在人的蛋白质组当中找到相应同源物。最终根据酿酒酵母蛋白质组成员之间在结构以及功能上的等同性对人类的蛋白质作出分析。

5 酿酒酵母最小基因组的研究

酿酒酵母最小基因组是指将其基因组所有明显冗余基因进行删减,在删减之后酿酒酵母依然能在实验条件下生长的最小基因组数目。酿酒酵母基因组具有高度紧密性,相比其它的高等真核生物基因,其基因间隔区更短,酿酒酵母每隔 2kb 的长度就存在一个可以编码蛋白质的基因,而线虫为 6kb,人类基因组为 30kb。也就是说,整个酿酒酵母的基因组中,高达 72% 的核苷酸顺序是由 ORFs 所组成,且基因中的内含子较为稀少。这些优势使构建酿酒酵

母最小基因组在基因组水平上成为可能。同时,酿酒酵母既具有原核生物生长快、遗传操作简单的特点,又有哺乳类细胞的翻译后加工和修饰功能,如二硫键的正确形成、前体蛋白的水解加工、糖基化作用等,用来生产来源于真核生物的生物活性蛋白有很多优点,这使建立酿酒酵母最小基因组在实验操作上成为可能。目前,通过构建酿酒酵母的最小基因组,来发挥其生物学功能已成为合理利用酵母基因组数据库的重要途径,也成为酿酒酵母基因组学研究的重要组成部分。

通过前面的叙述我们知道,未知基因的功能可以通过生物外源基因,如人类 cDNA,与酿酒酵母中功能已知基因缺陷型的互补实验来识别,但是酿酒酵母基因组中存在的大量重复序列会影响互补克隆。为了解决这一缺陷,建立酵母最小基因组成为了一条新的研究途径。科学家将人类或病毒的 DNA 序列与酿酒酵母最小基因组中所保留的基因进行完全替换,发现替换后的表型将完全取决于外源基因,这不仅使酿酒酵母成为其它生物未知基因的筛查工具,也构建了一种新的筛选抗癌和抗病毒药物的研究模式^[34]。Winzeler 等^[35]利用 PCR 技术介导基因中止能够非常精确的定向中止特定的基因功能,同时将特定序列标签标记在被中止的基因上,从而实现酵母基因组大规模的删除。通过这种方法,酿酒酵母基因组中有 2026 个开放阅读框可以被删除,其中,生存所必需的基因占删除基因的 17%,而不同程度地影响酵母生长的基因占删除基因的 40%。根据 Winzeler 的实验数据,酿酒酵母最小基因组不超过 1000 个基因。

酿酒酵母最小基因组研究也被应用到现代酿造技术中,在酿酒酵母最小基因组构建成功的条件下,酿酒酵母的改造研究也取得了很多新的进展,实现了在提高质量的同时降低成本的综合性目标,例如:将葡萄糖淀粉酶基因导入酿酒酵母最小基因组,菌株可以自身分泌葡萄糖淀粉酶,较好地解决酿酒酵母不能同时利用单糖和多糖的问题;将外源的蛋白水解酶基因导入酿酒酵母最小基因组中,可克服酿酒过程麦汁中残留的大分子蛋白质影响啤酒胶体稳定性的问题;将 β -葡聚糖酶基因导入酵母最小基因组,从而有效地降解麦芽汁中的 β -葡聚糖,改善啤酒的过滤效率;而将人血清清蛋白(HAS)的基因转化到酿酒酵母最小基因组中,即将编码治疗用的人血清清蛋白的基因(包括其调控表达系统)转化到酿酒酵母中去,生产出富含 HAS 的啤酒新品种^[36]。

6 酿酒酵母比较基因组学的研究

众所周知,生物在进化上都是相互关联的,在生物基因组学领域,对一种生物的透彻研究,往往可以很好地为其他生物提供有价值的信息,比较基因组学(Comparative genomics)便是基于此而建立。它的威力正是在于它能够根据对一种生物相关基因的透彻认识,来理解、诠释甚至克隆分离另一种生物的基因,从而帮助人们更高效、更准确地研究功能未知的某些基因的相关信息。

比较基因组学又分为远源基因组间的比较和近源基因组间的比较。其中,在生物学领域,远源基因组间的合理比较,能够为认识生物学机制的普遍性提供良好的事实依据。Clayton 等^[37]以酿酒酵母作为真核生物的模板,与其他两种非亲缘生物(古菌和细菌)进行了全基因组的比较,发现它们有 53 个相同的直系同源基因簇(Clusters of orthologous groups, COGs);而 Tatusov 等^[38~40]进一步以编码蛋白序列为基础进行直系同源序列分析,发现了 720 个 COGs,在此基础上继续增加 7 种高等真核生物全基因组,分别来自 5 个系统发育体系,建立了多细胞真核生物 KOGs (Eukaryotic orthologous groups)数据库,为理解真核生物基因组功能结构及生物进化提供了重要信息;而近源基因组间的比较,则为人们更好地认识基因结构与功能等更为细小的问题提供重要参数。因此,为充分理解人类基因组,必须对一系列近缘和远缘的模式生物进行基因组程度上的比较分析工作,这也是比较基因组学的重要意义所在。Salzberg 等^[41]认为将同源性很高的相关物种的基因组进行测序,比较相同序列,可以发现具有重要作用的基因。Kellis 等^[42]将酿酒酵母基因组的新旧序列先进行比对,然后与其他 3 个亲缘关系密切的酵母物种[奇异酵母(*Saccharomyces. Paradoxus*)、粟酒裂殖酵母(*Saccharomyces. mikatae*)以及用于酿造葡萄酒的一种芽殖酵母(*Saccharomyces. bayanus*)]基因组进行比对,找到了 50 个新基因和 72 个调控基因活动的序列,排除了 500 个过去被认为是 DNA 片段但在进化上不保守的序列,因此酵母的基因数目由原来认定的 6000 多个“修正”为 5538 个。Chen 等^[43]通过比较酿酒酵母、奇异酵母和粟酒裂殖酵母发现了胞嘧啶 C 到胸腺嘧啶 T 的突变率与核小体数量的关系,并解析了染色质结构调节 DNA 突变的关键机制,对于遗传疾病发生机理具有重要的参考价值。

7 结束语

对于酿酒酵母基因组的研究在近些年已经得到了快速的发展,也涌现出了不少令人欣喜的研究成果,主要体现在两个方面:(1)在工业应用上的巨大潜力。近年来,酿酒酵母基因组技术(如基因工程、基因改造、杂交技术等)不断地融入工业生产中,打破了传统的酿酒技术,降低生产成本,利用可再生物质来生产廉价的酒精,缓解能源紧张。(2)在人类基因组计划中的应用。利用人类基因组与模式生物基因组之间的编码顺序和组织结构上的同源性,阐明高等生物的基因在功能、结构以及物种进化上的内在联系,不但为研究高等生命提供良好的参考模型,也为最终揭开生命的奥秘做出了贡献。

酿酒酵母基因组的数据信息在飞速的膨胀,完成测序的亲缘生物基因组越来越多,研究方法由原来单一的实验方法朝着利用高等数学、计算机技术等综合性高通量技术方向发展,研究的内容也从传统酵母乙醇发酵深入到人类基因基因组学、遗传疾病研究、药物开发等更广泛的领域中,这意味着基因组学研究全面发展时代的到来已成为不容置疑的事实。

参考文献:

- [1] Clark-Walker G D, Miklos G L. Localization and quantification of circular DNA in yeast[J]. *European Journal of Biochemistry*, 1974, 41(2): 359-365.
- [2] Hinnen A, Hicks J B, Fink G R. Transformation of yeast[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1978, 75(4): 1929-1933.
- [3] Hitzeman R A, Hagie F E, Levine H L, et al. Expression of a human gene for interferon in yeast [J]. *Nature*, 1981, 293(5835): 717-722.
- [4] Fields S, Song O. A novel genetic system to detect protein-protein interactions[J]. *Nature*, 1989, 340(6230): 245-246.
- [5] Goffeau A, Barrell B G, Bussey H, et al. Life with 6000 genes[J]. *Science*, 1996, 274(5287): 546-567.
- [6] Cherry J M, Ball C, Weng S, et al. Genetic and physical maps of *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Nature*, 1997, 387(6632): 67-73.
- [7] Ghaemmaghami S, Huh W K, Bower K, et al. Global analysis of protein expression in yeast[J]. *Nature*, 2003, 425(6959): 737-741.
- [8] 刘擎, 余龙. 酵母:一种模式生物[J]. *生命的化学*, 2000, 20(2): 61-65.
- [9] Zenvirth D, Arbel T, Sherman A, et al. Regulated high efficiency expression of human interferon - alpha in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *The EMBO Journal*,

- 1992,11(9):3441-3447.
- [10] Liti G, Carter D M, Moses A M, et al. Population genomics of domestic and wild yeasts[J]. *Nature*, 2009, 458(7236):337-341.
- [11] Dujon B. Yeast evolutionary genomics[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2010, 11(7):512-524.
- [12] Cherry J M, Hong E L, Amundsen C, et al. *Saccharomyces* genome database: the genomics resource of budding yeast[J]. *Nucleic Acids Research*, 2012, 40(Database issue):D700-705.
- [13] Saito K, Matsuda F. Metabolomics for functional genomics, systems biology, and biotechnology[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2010, 61:463-489.
- [14] Nagalakshmi U, Wang Z, Waern K, et al. The transcriptional landscape of the yeast genome defined by RNA sequencing[J]. *Science*, 2008, 320(5881):1344-1349.
- [15] Sopko R, Huang D, Preston N, et al. Mapping pathways and phenotypes by systematic gene overexpression[J]. *Molecular Cell*, 2006, 21(3):319-330.
- [16] Costanzo M, Baryshnikova A, Bellay J, et al. The genetic landscape of a cell [J]. *Science*, 2010, 327(5964):425-431.
- [17] Baryshnikova A, Costanzo M, Dixon S, et al. Synthetic genetic array (SGA) analysis in *Saccharomyces cerevisiae* and *Schizosaccharomyces pombe* [J]. *Methods in Enzymology*, 2010, 470:145-179.
- [18] 杨桂英, 顾觉奋. 功能基因组学在微生物药物筛选中的应用进展[J]. *中国处方药*, 2012, 10(1):30-34.
- [19] Parkinson H, Sarkans U, Kolesnikov N, et al. ArrayExpress update—an archive of microarray and high-throughput sequencing-based functional genomics experiments[J]. *Nucleic Acids Research*, 2011, 39(Database issue):D1002-1004.
- [20] Johansson D, Lindgren P, Berglund A. A multivariate approach applied to microarray data for identification of genes with cell cycle-coupled transcription [J]. *Bioinformatics*, 2003, 19(4):467-473.
- [21] Hayashi M, Katou Y, Itoh T, et al. Genome-wide localization of pre-RC sites and identification of replication origins in fission yeast[J]. *The EMBO Journal*, 2007, 26(5):1327-1339.
- [22] Ashton T M, Mankouri H W, Heidenblut A, et al. Pathways for Holliday junction processing during homologous recombination in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Molecular Cell Biology*, 2011, 31(9):1921-1933.
- [23] Fasolo J, Snyder M. Protein microarrays[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2009, 548:209-222.
- [24] Breikreutz A, Choi H, Sharom J R, et al. A global protein kinase and phosphatase interaction network in yeast[J]. *Science*, 2010, 328(5981):1043-1046.
- [25] Argueso J L, Carazzolle M F, Mieczkowski P A, et al. Genome structure of a *Saccharomyces cerevisiae* strain widely used in bioethanol production[J]. *Genome Research*, 2009, 19(12):2258-2270.
- [26] Stambuk B U, Dunn B, Alves S L Jr, et al. Industrial fuel ethanol yeasts contain adaptive copy number changes in genes involved in vitamin B1 and B6 biosynthesis[J]. *Genome Research*, 2009, 19(12):2271-2278.
- [27] Botstein D, Fink G R. Yeast: an experimental organism for 21st Century biology[J]. *Genetics*, 2011, 189(3):695-704.
- [28] 崔东, 郑文岭, 马文丽, 等. 一种快速简便初步筛选酵母基因组文库的方法[J]. *广东医学*, 2003, 24(1):19-20.
- [29] 刘延琳, 李华. *mleA* 基因在酿酒酵母中的整合型表达[J]. *中国农业科学*, 2009, 42(4):1372-1377.
- [30] 陶芳, 范军, 朱苏文, 等. 玉米 $\Delta 12$ 脂肪酸脱氢酶基因(*FAD2*)在酿酒酵母中的表达[J]. *激光生物学报*, 2010, 19(1):38-44.
- [31] Hieter P, Bassett D E Jr, Valle D. The yeast genome—a common currency [J]. *Nature Genetics*, 1996, 13(3):253-255.
- [32] Botstein D, Chervitz S A, Cherry J M. Yeast as a model organism[J]. *Science*, 1997, 277(5330):1259-1260.
- [33] Fontana L, Partridge L, Longo V D. Extending healthy life span—from yeast to humans[J]. *Science*, 2010, 328(5976):321-326.
- [34] 陈洁. 高分辨率 X 射线成像技术与应用研究[D]. 合肥:中国科学技术大学, 2010.
- [35] Winzler E A, Shoemaker D D, Astromoff A, et al. Functional characterization of the *S. cerevisiae* genome by gene deletion and parallel analysis [J]. *Science*, 1999, 285(5429):901-906.
- [36] 张军梅. 基因工程技术的应用现状及其对人类社会的影响[J]. *北京农业*, 2011(36):11-12.
- [37] Clayton R A, White O, Ketchum K A, et al. The first genome from the third domain of life [J]. *Nature*, 1997, 387(6632):459-462.
- [38] Tatusov R L, Koonin E V, Lipman D J. A genomic perspective on protein families [J]. *Science*, 1997, 278(5338):631-637.
- [39] Tatusov R L, Galperin M Y, Natale D A, et al. The COG database: a tool for genome-scale analysis of protein functions and evolution [J]. *Nucleic Acids Research*, 2000, 28(1):33-36.
- [40] Tatusov R L, Fedorova N D, Jackson J D, et al. The COG database: an updated version includes eukaryotes [J]. *BMC Bioinformatics*, 2003, 4(1):41.
- [41] Salzberg S L. Genomics: Yeast rises again [J]. *Nature*, 2003, 423(6937):233-241.
- [42] Kellis M, Patterson N, Endrizzi M, et al. Sequencing and comparison of yeast species to identify genes and regulatory elements [J]. *Nature*, 2003, 423(6937):241-254.
- [43] Chen X, Chen Z, Chen H, et al. Nucleosomes suppress spontaneous mutations base-specifically in eukaryotes [J]. *Science*, 2012, 335(6073):1235-1238.