

Tup1 基因缺失对酿酒酵母耐高糖性状的影响*

陈英¹, 芦志龙¹, 张穗生², 陈小玲¹, 陆琦¹, 吴仁智¹, 陈东¹, 关妮^{1**}

(1. 广西科学院, 国家非粮生物质能源工程技术研究中心, 非粮生物质酶解国家重点实验室, 广西生物炼制重点实验室, 广西南宁 530007; 2. 广西职业技术学院, 广西南宁 530226)

摘要: 研究 *Tup1* 基因对酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 细胞耐高糖性状的影响。利用 Cre/loxP 系统对单倍体细胞中的转录因子 *Tup1* 基因进行敲除, 单倍体细胞复倍后研究基因缺失菌株的性状变化。结果表明, *Tup1* 基因缺失虽然减弱了菌株的呼吸能力, 但却增强了菌株在高浓度葡萄糖培养基中的生长和发酵能力。*Tup1* 基因可能通过调节酿酒酵母细胞呼吸强度来调控细胞的高糖应激反应。

关键词: 酿酒酵母 *Tup1* 基因缺失 高糖应激 耐高糖 性状变化

中图分类号: Q93 文献标识码: A 文章编号: 1002-7378(2020)03-0338-06

DOI: 10.13657/j.cnki.gxkxyxb.20201027.002

0 引言

酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 是重要的工业生产菌株, 在工业应用中会面临各种各样的环境压力。高糖环境是酿酒酵母在乙醇发酵过程中常遇到的一种压力条件, 筛选耐高糖酿酒酵母菌株, 研究酿酒酵母耐高糖机制, 了解耐高糖性状与基因表达、调控的关系, 对选育、改造优良菌株和提高工业生产效率意义重大。*Tup1* 基因是一个普遍抑制因子, 负责调节酿酒酵母在不同环境下的转录表达, 有研究发现敲除 *Tup1* 基因后, 明显解抑制的基因不少于 300 个^[1]。由 4 个 *Tup1* 和 1 个 *Ssn6* 亚基组成的 *Tup1*-*Ssn6* 复合体是最早被识别的共阻遏复合体之一^[2,3]。酿酒酵母 *Tup1* 蛋白由 713 个氨基酸组成, 从功能上

分为 3 个蛋白-蛋白互作区域, 不同区域参与不同基因的转录调控^[4]。Lin 等^[5] 利用基因缺失研究 *Mig1*、*Tup1* 和 *Ssn6* 对酵母葡萄糖抑制作用的影响, 发现 *Tup1* 基因与其他两个基因不同, 缺失后对酵母解除葡萄糖抑制麦芽糖利用的能力有负作用。Han 等^[6] 研究发现调节糖酵解和糖原异生转录所需的 3,5-二磷酸磷脂酰肌醇激酶受 *Tup1* 基因抑制。丛建国等^[7] 利用生物信息学研究 *Tup1* 基因网络的非线性行为特征, 基因缺失突变芯片数据显示, *Tup1* 对 13 号染色体上的基因是激活而不是抑制作用。Rizzo 等^[8] 利用 MNase-ChIP-chip 法对酿酒酵母野生菌株和 *Tup1*Δ 菌株的核小体进行测序分析, 首次获得 *Tup1* 蛋白在染色质上的结合位置。最新研究发现, *Tup1* 基因参与白色念珠菌毒性相关基因的表

* 广西自然科学基金项目(2020GXNSFAA259021, 2018GXNSFAA138111, 2018GXNSFAA294118), 广西重大科技创新基地建设项目(2018-15-Z03-1208, 2018-15-Z03-1209), 南宁科技局项目(20133156, 20141001)和广西科学院发展基金项目(2018YFJ402)资助。

【作者简介】

陈英(1982—), 女, 博士, 副研究员, 主要从事工业微生物菌株的筛选、构建及分子进化研究。

【**通信作者】

关妮(1981—), 女, 硕士, 助理研究员, 主要从事微生物技术研究, E-mail: guanni011@163.com。

【引用本文】

陈英, 芦志龙, 张穗生, 等. *Tup1* 基因缺失对酿酒酵母耐高糖性状的影响[J]. 广西科学院学报, 2020, 36(3): 338-343.

CHEN Y, LU Z L, ZHANG S S, et al. Effects of *Tup1* Gene Deletion on High Glucose Tolerance of *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Journal of Guangxi Academy of Sciences, 2020, 36(3): 338-343.

达调控^[9], Rania 等^[10]发现 *Tup1* 基因表达量与新设计合成的抗白色念珠菌药物 SR 的活性之间存在正相关性, 为今后抑制白色念珠菌及其他依赖 *Tup1* 基因的真菌感染药物设计提供参考。在前期研究中, 本研究团队对筛选获得的耐高糖酿酒酵母突变菌株进行转录组测序分析^[11], PheNetic 网络分析结果显示, *Tup1* 基因是突变菌株突变性状的主要诱发因子之一, 在互作网络中直接或间接影响众多其他基因。本研究通过测定 *Tup1* 基因缺失菌株在高糖培养基中的生长和发酵情况, 更准确地了解 *Tup1* 基因对酿酒酵母耐高糖性状的影响, 为后续研究酿酒酵母耐高糖机制和酿酒酵母菌株改造提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种和质粒

Saccharomyces cerevisiae UV02_HG(以下简称 UV02_HG)为本研究团队以甘蔗糖厂废弃物中筛选的酿酒酵母菌株为出发菌株紫外诱变获得。*Saccharomyces cerevisiae* UV02_HG Δ *Tup1*(以下简称 UV02_HG Δ *Tup1*)为缺失 *Tup1* 基因的 UV02_HG 菌株。pUG6 和 pSH65 质粒保存于国家非粮生物质能源工程技术研究中心。

1.1.2 培养基

酵母膏胨葡萄糖(YPD)培养基: 胰蛋白胨 2%, 酵母提取物 1%, 葡萄糖 2%, 固体培养基添加 2% 琼脂粉; G418 在液体培养基中的终浓度为 200 μ g/mL, 在固体培养基中的终浓度为 300 μ g/mL; Zeocin 的使用浓度为 50 μ g/mL。

葡萄糖梯度培养基: 胰蛋白胨 2%, 酵母提取物 1%, 葡萄糖浓度梯度分别为 20% (YP20)、30% (YP30)、40% (YP40)。

产孢培养基: 酵母粉 0.25%, 葡萄糖 0.1%, KCl 0.18%, NaAc 0.82%, 琼脂粉 2%。

1.1.3 酶与试剂

PCR 试剂、DNA marker、限制性内切酶为 TaKaRa 公司产品; Yeast extract, Trytone 为 OXOID 产品; 抗生素、SDS、EDTA、This·HCl、山梨醇购自上海生工生物工程有限公司; TTC 为 Sigma 公司产品; Tris 饱和酚为 Solarbio 公司产品; 蜗牛酶购自上海源叶生物科技有限公司。

1.1.4 主要仪器设备

超净工作台型号为苏州净化 SW-CJ, PCR 仪型

号为 Biometra Tpersonal P, 分光光度计型号为 Bechman coulter DU800, 电转化仪型号为 BTX ECM630, 显微镜型号为 Nikon 80i, 高效气相色谱仪型号为 Agilent 6890N, 离心机型号为 HETTICH Mimiko 200R, 凝胶成像系统为 Biometra。

1.2 方法

1.2.1 *Tup1* 基因敲除

酿酒酵母单倍体(MATa 型和 MAT α 型)细胞制备参照文献[12], 阳性重组子 PCR 验证参照文献[13], 单倍体细胞杂交复倍及抗性消除参照文献[14, 15]。敲除组件扩增引物名称和序列见表 1(小写碱基是目的基因读码框两侧同源序列, 大写碱基是 pUG6 质粒上 loxP 两端序列)。基因缺失菌株 PCR 验证引物见表 2。

表 1 扩增敲除组件 PCR 引物

Table 1 PCR primers of amplification of knockout components

引物名称 Name of primers	引物序列(5'-3') Sequence of primers (5'-3')
<i>Tup1</i> Kan-F	ttcagccaagtacccttgcacaccactactcttttctattgCCAGCTGAAGCTTCGTACGC
<i>Tup1</i> Kan-R	cacaggaaaaggaggagggaaggatgaatggtagggaaa-gtaactgGCATAGGCCACTAGTG-GATCTG

表 2 PCR 验证引物

Table 2 PCR primers of verification

引物名称 Name of primers	引物序列(5'-3') Sequence of primers (5'-3')
<i>Tup1</i> -A	CCTCTATCTGTCCTTCTG
<i>Tup1</i> -D	GAACCGCAATATTTCAGAAAC
Kan-B	GGATGTATGGGCTAAATG
Kan-C	TCGACATCATCTGCCAGATG

1.2.2 不同浓度葡萄糖固体培养基上的生长情况

计算活化的新鲜菌液细胞浓度, 每株取约 1×10^9 个细胞离心收集菌体, 用无菌水重悬, 使细胞初始浓度为 1×10^9 cells/mL, 再将浓度分别稀释至 1×10^8 , 1×10^7 , 1×10^6 , 1×10^5 , 1×10^4 cells/mL, 每个浓度吸取 2 μ L 菌悬液, 分别点到不同浓度葡萄糖固体培养基上, 30 $^{\circ}$ C 培养 2 d, 观测菌株生长情况。

1.2.3 测定 YPD 培养基中的生长曲线

计算活化的新鲜菌液细胞浓度, 每株取约 1.5×10^7 个细胞转接至 5 mL YPD 培养基中, 摇床培养(30 $^{\circ}$ C, 180 r/min), 每隔 4 h 取样, 用细胞计数法测定各菌株的生长曲线。

1.2.4 测定 YP40 培养基中的生长和发酵曲线

计算活化的新鲜菌液细胞浓度,每株取约 1.5×10^8 个细胞转接至 50 mL YP40 培养基中,摇床培养 (30°C , 200 r/min),每隔 4 h 取样,用细胞计数法测定菌株的生长曲线,气相色谱测定乙醇发酵曲线。

1.2.5 测定细胞相对呼吸强度

参照文献[16],用 2,3,5-三苯基氯化四唑 (TTC) 法测定细胞的相对呼吸强度。按照 1% (V/V) 的接种量将活化的新鲜菌液接入 5 mL YPD 或 YP40 培养基中, 30°C ,180 r/min 培养至对数生长期时离心收集菌体,转接至 10 mL YPD 或 YP40 培养基中,调整菌液浓度至 $OD_{600} = 1.0$,向菌液中加入 TTC(终浓度为 0.5 mg/mL), 30°C ,180 r/min 培养 6 h 后取 5 mL 离心收集菌体,用 1 mL 95% 乙醇重悬,剧烈震荡(约 10 min)使细胞破壁,12 000 r/min 离心 10 min,测定上清液在 480 nm 下的吸光值,以出发菌株的呼吸强度为 100%,根据测定结果计算每株菌的相对呼吸强度。

2 结果与分析

2.1 基因缺失菌株 PCR 验证

以筛选的阳性重组子 DNA 为模板,用 *Tup1*-A、Kan-B、Kan-C、*Tup1*-D 引物进行 PCR 扩增验证,如图 1 所示,两对引物在 MATa 型和 MAT α 型单倍体 DNA 中分别扩增到大小约为 300 bp 的片段,片段送测序公司测序后证实目的基因片段缺失成功。

2.2 基因缺失菌株性状测定

通过 PCR 验证的单倍体基因缺失菌株,复倍和消抗后,进行性状测定。

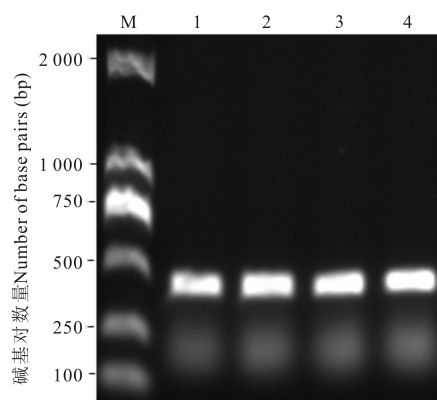
2.2.1 不同浓度葡萄糖固体培养基上的生长情况

如图 2 所示,对不同浓度梯度细胞在固体培养基平板上生长形成的菌落大小、菌落数量进行分析,发现基因缺失菌株 UV02_HG Δ *Tup1* 在 YPD 培养基上的生长情况不如出发菌株 UV02_HG,在 YP20、YP30 和 YP40 培养基上的生长情况优于出发菌株。说明 *Tup1* 基因缺失后,酿酒酵母细胞在 YPD 培养基上的生长受到抑制,但对高糖环境的适应能力却得到增强。

2.2.2 在 YPD 中的生长曲线

如图 3 所示,在 YPD 培养基上,基因缺失菌株 UV02_HG Δ *Tup1* 的生长速率和最大细胞数都比出发菌株 UV02_HG 低,这与在 YPD 固体平板上的生长情况一致,说明 *Tup1* 基因的缺失影响了酵母细胞

的正常生长。

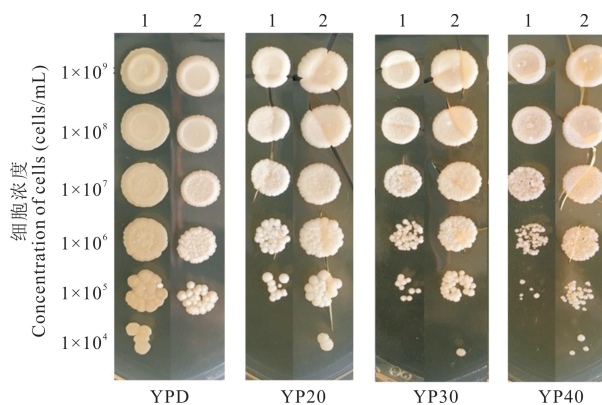


M. DL2000 DNA marker;1. MATa 型, *Tup1*-A 和 Kan-B 引物扩增产物;2. MATa 型, Kan-C 和 *Tup1*-D 引物扩增产物;3. MAT α 型, *Tup1*-A 和 Kan-B 引物扩增产物;4. MAT α 型, Kan-C 和 *Tup1*-D 引物扩增产物

M. DL2000 DNA marker, 1. MATa type, product amplified by primers *Tup1*-A and Kan-B, 2. MATa type, product amplified by primers Kan-C and *Tup1*-D, 3. MAT α type, product amplified by primers *Tup1*-A and Kan-B, 4. MAT α type, product amplified by primers Kan-C and *Tup1*-D

图 1 PCR 验证基因缺失

Fig. 1 PCR verification of gene missing



1. 菌株 UV02_HG, 2. 菌株 UV02_HG Δ *Tup1*
1. Strain UV02_HG, 2. Strain UV02_HG Δ *Tup1*

图 2 菌株 UV02_HG 和 UV02_HG Δ *Tup1* 在不同浓度葡萄糖培养基上的生长情况

Fig. 2 Growth situation of strains UV02_HG and UV02_HG Δ *Tup1* in solid medium under different glucose concentration

2.2.3 在 YP40 中的生长和发酵曲线

在 YP40 培养基中,基因缺失菌株 UV02_HG Δ *Tup1* 前期生长速率高于出发菌株,28 h 后生长速率降低,最大细胞数为 7.43×10^8 cells/mL,略小于出发菌株的最大细胞数 7.60×10^8 cells/mL(图 4)。基因缺失菌株在 YP40 培养基中乙醇发酵能力

也略优于出发菌株, 最高乙醇产率平均达 15.30% (图 5)。

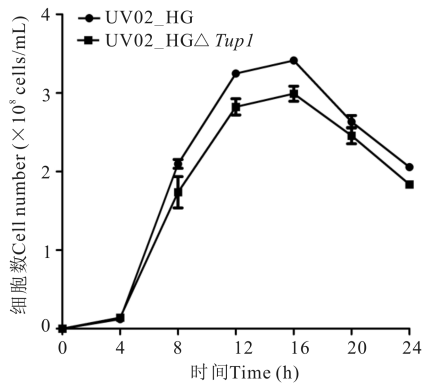


图 3 菌株 UV02_HG 和 UV02_HG Δ *Tup1* 在 YPD 培养基中的生长曲线

Fig. 3 Growth curves of strains UV02_HG and UV02_HG Δ *Tup1* in medium of YPD

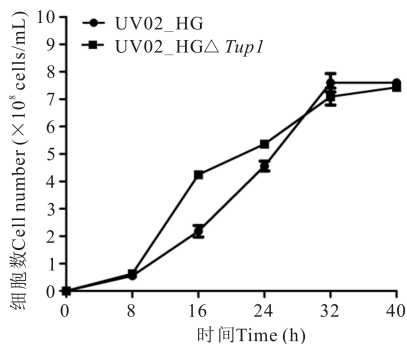


图 4 菌株 UV02_HG 和 UV02_HG Δ *Tup1* 在 YP40 培养基中的生长曲线

Fig. 4 Growth curves of strains UV02_HG and UV02_HG Δ *Tup1* in medium of YP40

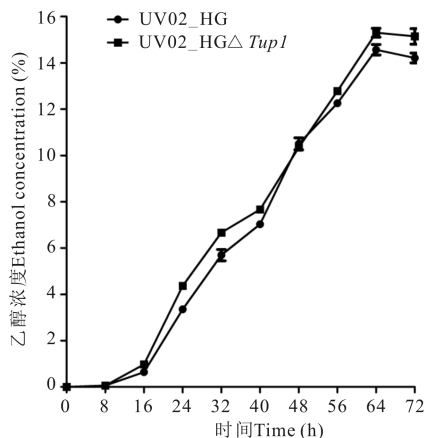


图 5 UV02_HG 和 UV02_HG Δ *Tup1* 在 YP40 培养基中的乙醇发酵曲线

Fig. 5 Ethanol fermentation curves of strains UV02_HG and UV02_HG Δ *Tup1* in medium of YP40

2.2.4 相对呼吸强度检测

用 TTC 法测定在 YPD 和 YP40 培养基中处于对数生长期的两菌株的呼吸强度, 测定结果如图 6 和 7 所示。在 YPD 培养基中, 菌株 UV02_HG Δ *Tup1* 的呼吸强度是 UV02_HG 的 20.0%, 在 YP40 培养基中升高至 88.2%。

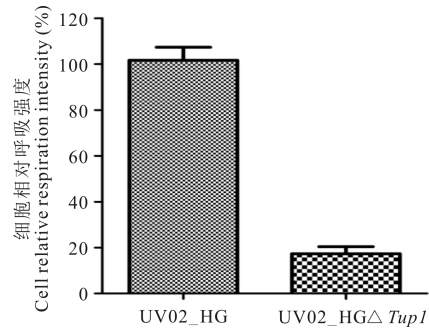


图 6 菌株 UV02_HG 和 UV02_HG Δ *Tup1* 在 YPD 培养基中的相对呼吸强度

Fig. 6 Relative respiration intensity of strains UV02_HG and UV02_HG Δ *Tup1* in medium of YPD

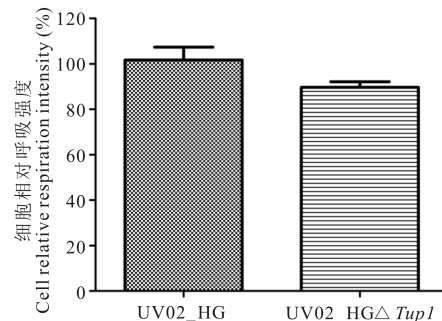


图 7 菌株 UV02_HG 和 UV02_HG Δ *Tup1* 在 YP40 培养基中的相对呼吸强度

Fig. 7 Relative respiration intensity of strains UV02_HG and UV02_HG Δ *Tup1* in medium of YP40

3 讨论

3.1 *Tup1* 基因对酿酒酵母耐高糖性状的影响

Tup1 基因缺失后, 菌株在 YP40 培养基中 28 h 前生长速率较快, 28 h 后有所降低, 发酵能力整体提高, 这与呼吸强度降低是相符的, 乙醇发酵后期, 无氧环境更有利于乙醇产量提高^[17], 说明生长后期菌株更偏向厌氧发酵。但该结果与之前研究中突变菌株生长和发酵能力提高, 呼吸强度降低, *Tup1* 基因表达量却上调的结果^[11]相比, 存在矛盾。Green 等^[18]通过微阵列技术分析野生酿酒酵母菌株和 *Tup1* 基因保守序列区 5 个定点突变体的基因表达情况, 发现 5 个突变体解抑制的对象不同, 表达上调的基因数量不等; 又通过 *Suc2*、*Spi1*、*Hsp12* 这 3 个基因在

*Tup1*Δ 及 5 个定点突变体中表达量的对比,发现 *Tup1*Δ 菌株比点突变的突变株解抑制作用更强。可见,酵母细胞自身表达调控是一项牵一发而动全身的精细工程,前期研究中的突变菌株是经紫外诱变筛选获得,*Tup1* 基因表达量上调这一因素的影响可能被其他基因突变的作用抵消或覆盖,本研究只对 *Tup1* 基因进行缺失,影响因素相对单一,所以菌株性状的变化与 *Tup1* 基因的缺失有直接关系,可见 *Tup1* 基因缺失对酿酒酵母耐高糖性状有正向作用。

3.2 *Tup1* 基因对酿酒酵母呼吸强度的影响

转录因子 *Tup1* 与 *Cyc8* (*Ssn6*) 形成复合体,正常生长条件下参与酿酒酵母超过 300 个基因的转录调控,涉及多种代谢途径,包括孢子形成及减数分裂、蛋白转运、高渗应激、葡萄糖代谢、淀粉及氧的利用、DNA 修复等^[19,20]。Wang 等^[21] 研究发现,*Cyc8-Tup1* 复合体和 *Dbp2* 联合作用抑制一系列基因表达,GO 富集分析显示这些基因主要集中在糖质新生、细胞呼吸和对碳源的选择利用上。本文中菌株 UV02_HGΔ*Tup1* 在 YPD 培养基中的呼吸强度严重降低,影响了细胞的正常生长,而在高糖环境下其呼吸强度明显提高,可能是由于在高渗压力下的应激反应中,*Tup1* 基因的缺失诱发其他调控因子对细胞呼吸进行补偿。接下来的工作中可以利用转录组测序和蛋白互作等方法深入研究 *Tup1* 基因对酿酒酵母呼吸途径的调节,呼吸强度变化与酿酒酵母耐高糖性状的具体关系,以及在 *Tup1* 缺失的情况下高渗应激反应如何补偿酵母细胞呼吸强度。

4 结论

Tup1 基因缺失显著降低正常生长条件下酿酒酵母细胞的呼吸强度。在高糖环境下,*Tup1* 基因缺失细胞呼吸强度有所恢复,菌株生长速率和发酵乙醇产率优于出发菌株,由此可以推断,*Tup1* 基因参与调控细胞呼吸,高糖压力下 *Tup1* 基因缺失可能诱发其他呼吸补偿途径来调控细胞的高糖应激反应。

参考文献

- [1] GREEN S R, JOHNSON A D. Promoter-dependent roles for the *Srb10* cyclin-dependent kinase and the *Hda1* deacetylase in *Tup1*-mediated repression in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2004, 15(9): 4191-4202.
- [2] TANAKA N, MUKAI Y. Yeast *Cyc8p* and *Tup1p* proteins function as coactivators for transcription of *Stp1/2p*-dependent amino acid transporter genes [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2015, 468(1/2): 32-38.
- [3] VARANASI U S, KLIS M, MIKESELL P B, et al. The *Cyc8*(*Ssn6*)-*Tup1* corepressor complex is composed of one *Cyc8* and four *Tup1* subunits [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 1996, 16(12): 6707-6714.
- [4] ZHANG Z, VARANASI U, TRUMBLY R J. Functional dissection of the global repressor *Tup1* in yeast: Dominant role of the C-terminal repression domain [J]. *Genetics*, 2002, 161(3): 957-969.
- [5] LIN X, ZHANG C Y, BAI X W, et al. Effects of *MIG1*, *TUP1* and *SSN6* deletion on maltose metabolism and leavening ability of baker's yeast in lean dough [J]. *Microbial Cell Factories*, 2014, 13(1): 93. DOI: 10.1186/s12934-014-0093-4.
- [6] HAN B K, EMR S D. The phosphatidylinositol 3,5-bisphosphate(PI(3,5)P₂)-dependent *Tup1* conversion (PIPTC) regulates metabolic reprogramming from glycolysis to gluconeogenesis [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2013, 288(28): 20633-20645.
- [7] 丛建国, 王志伟, 任德华, 等. *Tup1* 突变对转录抑制局部网络中基因表达的非线性影响[J]. *生物信息学*, 2009, 7(4): 272-276.
- [8] RIZZO J M, MIECZKOWSKI P A, BUCK M J, et al. *Tup1* stabilizes promoter nucleosome positioning and occupancy at transcriptionally plastic genes [J]. *Nucleic Acids Research*, 2011, 39(20): 8803-8819.
- [9] SOPHIA R, ENRICO G, SELENE M, et al. *Ahr1* and *Tup1* contribute to the transcriptional control of virulence-associated gene in *Candida albicans* [J]. *Molecular Biology and Physiology*, 2020, 11(2): e00206-20.
- [10] RANIA H, SAMEH S M S, ABRAR I A, et al. Design and synthesis of new drug inhibitors of *Candida albicans* hyphae and biofilm formation by upregulating the expression of *TUP1* transcription repressor gene [J]. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2020, 148: 105327. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105327>.
- [11] CHEN Y, LU Z L, CHEN D, et al. Transcriptomic analysis and driver mutant prioritization for differentially expressed genes from a *Saccharomyces cerevisiae* strain with high glucose tolerance generated by UV irradiation [J]. *RSC Advances*, 2017, 7: 38784-38797.
- [12] 肖冬光, 刘青, 李静, 等. 酿酒酵母单倍体制备方法的优化[J]. *酿酒科技*, 2004, 4: 21-22.
- [13] 宋浩雷, 郭晓贤, 杨月梅, 等. 酿酒酵母 *ADH3* 基因敲

- 除[J]. 工业微生物,2006,36(4):28-32.
- [14] 罗贞贞,陈小玲,练梅华,等. 酿酒酵母 *Mbp1* 缺陷型菌株的构建及其乙醇发酵特性[J]. 微生物学通报,2015,42(11):2108-2114.
- [15] 王艳尊,雷娟娟,江贤章,等. 酿酒酵母 *adh2* 和 *adh6* 双基因缺失突变株的构建[J]. 微生物学通报,2009,36(2):211-216.
- [16] 韦缘,张穗生,陈东,等. 两株高糖分利用能力的酿酒酵母呼吸突变体选育[J]. 生物技术通报,2012,7:158-162.
- [17] ANTONIUS J A M,DEREK A A,ELEONORA B,et al. Alcoholic fermentation of carbon sources in biomass hydrolysates by *Saccharomyces cerevisiae*:Current status [J]. Antonie Van Leeuwenhoek,2006,90(4):391-418.
- [18] GREEN S R,JOHNSON A D. Genome-wide analysis of the functions of a conserved surface on the corepressor *Tup1* [J]. Molecular Biology of the Cell,2005,16(6):2605-2613.
- [19] TANIA M M,SHARON D. Transcriptional repression by *Tup1-Ssn6* [J]. Biochemistry and Cell Biology,2006,84(4):437-443.
- [20] SMITH R L,JOHNSON A D. Turning genes off by *Ssn6-Tup1*:A conserved system of transcriptional repression in eukaryotes [J]. Trends in Biochemical Sciences,2000,25(7):325-330.
- [21] WANG S W,ZHANG X,PETE E P,et al. Metabolic adaptation to nutrients involves coregulation of gene expression by the RNA helicase *Dbp2* and the *Cyc8* corepressor in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Genes Genomes Genetics,2017,7(7):2235-2247.

Effects of *Tup1* Gene Deletion on High Glucose Tolerance of *Saccharomyces cerevisiae*

CHEN Ying¹, LU Zhilong¹, ZHANG Suisheng², CHEN Xiaoling¹, LU Qi¹, WU Renzhi¹,
CHEN Dong¹, GUAN Ni¹

(1. National Engineering Research Center for Non-Food Biorefinery, State Key Laboratory of Non-Food Biomass and Enzyme Technology, Guangxi Key Laboratory of Biorefinery, Guangxi Academy of Sciences, Nanning, Guangxi, 530007, China; 2. Guangxi Vocational and Technical College, Nanning, Guangxi, 530226, China)

Abstract: The effect of *Tup1* gene on the high glucose tolerance of *Saccharomyces cerevisiae* cells was studied. The Cre/loxP system was used to knock out the transcription factor *Tup1* gene in haploid cells, and the trait changes of gene deletion strain were studied after the haploid cells were doubled. The results showed that the respiration ability of the strain was weakened while the growth and fermentation ability in the high-concentration glucose medium were enhanced when the *Tup1* gene was deleted. The *Tup1* gene may regulate the hyperglycemic stress response of cells by regulating the respiratory intensity of *Saccharomyces cerevisiae* cells.

Key words: *Saccharomyces cerevisiae*, *Tup1*, gene deletion, hyperglycemic stress response, high-glucose-tolerance, trait changes

责任编辑:符支宏