

# 谷胱甘肽/谷胱甘肽过氧化物酶系统在微生物细胞抗氧胁迫系统中的作用 The Function of Glutathione/Glutathione Peroxidase System in the Oxidative Stress Resistance Systems of Microbial Cells

付瑞燕<sup>1</sup> 陈 坚<sup>2</sup> 李 寅<sup>3\*</sup>

FU Rui-Yan<sup>1</sup>, CHEN Jian<sup>2</sup> and LI Yin<sup>3\*</sup>

1 安徽农业大学茶与食品科技学院, 合肥 230036

2 江南大学工业生物技术教育部重点实验室, 江南大学生物工程学院, 无锡 214036

3 中国科学院微生物研究所, 北京 100080

1 School of Tea and Food Science, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China

2 Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education; School of Biotechnology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China

3 Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China

**摘 要** 谷胱甘肽(GSH)/谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)系统在不同微生物细胞抵抗氧胁迫中的生理功能不尽相同。该系统在真核模式微生物酿酒酵母中是必需存在的,在维持胞内氧化还原平衡和抵抗氧胁迫中发挥主要作用。然而,在原核微生物中,该系统只是条件性的,即部分胞内存在谷胱甘肽还原酶和 GPx 的原核微生物,如流感嗜血杆菌和乳酸乳球菌,可通过从胞外吸收 GSH 形成条件性的依赖于 GSH 的 GPx 系统,参与抵抗氧胁迫。

**关键词** 微生物细胞,谷胱甘肽/谷胱甘肽过氧化物酶系统,抗氧胁迫

中图分类号 Q935 文献标识码 A 文章编号 1000-3061(2007)05-0770-06

**Abstract** The physiological roles of the glutathione(GSH)/glutathione peroxidase(GPx) system in protecting microbial cells against oxidative stress were reviewed. In eukaryotic model microbe *Saccharomyces cerevisiae*, this system is obligatory in maintaining the redox balance and defending the oxidative stress. However, The GSH/GPx system only conditionally exists in prokaryotes. Namely, for those prokaryote bacteria containing glutathione reductase and GPx, e.g. *Haemophilus influenzae* and *Lactococcus lactis*, by taking up GSH, they might develop a conditional GSH-dependent GPx reduction system, which conferred cells a stronger resistance against oxidative challenge.

**Key words** microbial cell, glutathione/glutathione peroxidase system, oxidative stress resistance system

微生物细胞在好氧代谢中产生活性氧(reactive oxygen species, ROS),参与正常的生理、生化过程。

当细胞受到高浓度的 ROS(包括 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、O<sub>2</sub><sup>-</sup> 和烷基过氧化物)作用或胞内抗氧胁迫系统的抗氧化功能降

Received: January 25, 2007; Accepted: March 22, 2007.

This work was supported by the grants from the National Natural Science Foundation of China(No. 30300009) and the Foundation of Human Resource of Anhui Agricultural University.

\* Corresponding author. Tel: +86-10-82616925; E-mail: yli@im.ac.cn

国家自然科学基金项目(No. 30300009)和安徽农业大学稳定和引进人才科研资助项目资助。中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

低时,胞内的氧化/还原平衡态被破坏,就会导致胞内 ROS 浓度升高,造成氧胁迫(oxidative stress)。严重的氧胁迫可引起脂质、蛋白质及 DNA 等生物大分子损伤、二硫键的形成,最终导致细胞死亡<sup>[1]</sup>。微生物细胞具有抵御 ROS 损害的机制,包括低分子量抗氧化剂(如抗坏血酸和谷胱甘肽)和酶类(过氧化物酶(catalase, CAT)和超氧化物歧化酶(super oxidase dimutase, SOD)等)。谷胱甘肽(glutathione,  $\gamma$ -L-glutamyl-L-cysteinylglycine, 还原型 GSH)是除古菌<sup>[2]</sup>外的微生物细胞内(特别是酵母)最主要的非蛋白巯基化合物。GSH 直接或间接参与微生物细胞的许多生命活动,其中最重要的作用之一就是与相关代谢酶共同筑成一道强有力的抗氧胁迫防线。GSH/GPx 过氧化物酶系统就是依赖于 GSH 的还原系统中一个重要的系统,它由  $\gamma$ -谷氨酰半胱氨酸合成酶( $\gamma$ -glutamate-cysteine ligase, GSH1)、谷胱甘肽合成酶(glutathione synthetase, GSH2)、GSH 还原酶(glutathione reductase, GR)和 GSH 过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPx)和 NADPH 组成(图 1)。在不同微生物中,该还原系统在抗氧胁迫方面的作用不尽相同:有不可或缺的;也有可有可无的。认识该系统在微生物细胞抵抗氧胁迫中的生理作用,有助于深入理解微生物对氧胁迫作用的抵抗机制。利用这些知识,可以设计出一系列的策略或方法,或促进工业微生物的发酵过程,或抑制致病微生物的生长。

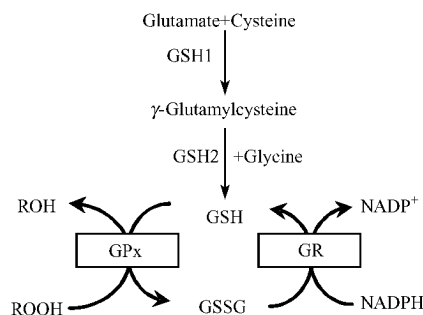


图 1 GSH/GPx 系统示意图

Fig. 1 Schematic illustration of glutathione/glutathione peroxidase system

GSSG: oxidized GSH; ROOH: peroxide; ROH: reduced peroxide.

## 1 GSH/GPx 系统在真核微生物抗氧胁迫中的作用

GSH 在酵母和丝状真菌中含量丰富<sup>[3]</sup>。酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)与低等真核生物在基因的结构与功能上的相似性,使其成为颇受研究者关注的真核微生物模式种<sup>[4]</sup>。同样,国内外对真核微

生物中 GSH/GPx 系统的功能研究也主要以酿酒酵母为研究对象。

酿酒酵母的 *gsh1*(编码 GSH1)缺失突变株不能合成 GSH。在非胁迫条件下,如果不外加 GSH,突变株在基本培养基中不能生长,补加巯基还原剂(如巯基乙醇和半胱氨酸)后,其生长得以恢复。此外,该突变株对由  $H_2O_2$  和  $O_2^-$  引发的氧胁迫高度敏感<sup>[5]</sup>。这些结果表明 GSH 是酿酒酵母正常代谢中一种非常重要的还原剂。与之相对应,*gsh2* 缺失突变株虽然在基本培养基中生长状况不好,但对  $H_2O_2$ 、 $O_2^-$  和烷基过氧化氢引发的氧胁迫仍有抗性。这可能是由于 *gsh2* 缺失突变株胞内积累了  $\gamma$ -谷氨酰半胱氨酸,该物质能够部分代替 GSH 来抵抗氧胁迫<sup>[6]</sup>。

GR 是一种与 NADPH 电子传递功能相关的黄素蛋白,其主要功能是还原氧化型谷胱甘肽(GSSG)。酿酒酵母的 *gor1*(编码 GR)缺失突变株不仅胞内 GSSG 含量增加,而且对  $H_2O_2$  和过氧化物等氧化剂的敏感度增加。此外,在氧化剂存在的情况下,野生型菌株中 GR 的表达水平提高了 2~3 倍,说明 GR 在酿酒酵母抵抗氧胁迫中也具有保护作用<sup>[7]</sup>。

GPx 催化过氧化物与 GSH 的反应。它有两种形式,一种是含硒的 GPx,另一种是不含硒的 GPx。前者能催化分解  $H_2O_2$  和有机过氧化物,后者只能催化分解有机过氧化物。GPx 主要存在于动物细胞中。酿酒酵母中也存在这两种形式的 GPx,当酿酒酵母厌氧生长时,含硒的 GPx 便消失了,而不含硒的 GPx 含量增加。在培养基中加入  $Cu^{2+}$  后( $Cu^{2+}$  可能会增加胞内硫醇和其它还原性物质的自氧化速率,从而导致  $H_2O_2$  的产生,形成氧胁迫),发现两种酶的含量都增加(特别是含硒的 GPx),表明 GPx 有可能参与酿酒酵母抵抗氧胁迫的防御系统。1999 年,Inoue 等<sup>[8]</sup>在酿酒酵母基因组序列中发现了三个与哺乳动物 *gpx*(编码 GPx)活性位点同源的基因,分别为 *gpx1*、*gpx2* 和 *gpx3*。随后的研究认为<sup>[9]</sup>,酿酒酵母中的 GPx(s 表示多个 GPx)更具有磷脂过氧化氢谷胱甘肽过氧化物酶(phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidases, PHGPxs)的特性。他们的证据是(1)PHGPxs 活性在 *gpx1*、*gpx2* 和 *gpx3* 三基因缺失突变株中几乎消失,且在培养基中添加对氧胁迫敏感的多不饱和脂肪酸亚麻酸盐(简称 18:3,该物质氧化后产生过氧化脂质,对细胞膜、核酸、蛋白质和线粒体可形成不可逆的损伤)后,*gpx1*、*gpx2* 和 *gpx3* 三基因缺失突变株不能生长<sup>[10]</sup>。与  $H_2O_2$  相

比,该突变株对 18:3 的敏感程度更高。(2) *gpx1*、*gpx2* 和 *gpx3* 三基因缺失突变株对于外加的 18:3 表现出延迟性中毒 (delayed toxicity),且这种延迟性中毒能被脂质过氧化抑制剂维生素 E 抑制。以上结果表明酿酒酵母中先前被认为编码 GPxs 的 *gpxs* 基因,其实是编码 PHGPxs (PHGPx1、PHGPx2 和 PHGPx3) 的,这些酶能够保护酿酒酵母在氧胁迫条件下免受磷脂过氧化氢和非磷脂过氧化物的损害。

由 GSH1、GSH2、GR、GPx 和 NADPH 组成的依赖于 GSH 的 GSH 过氧化物酶系统,在正常好氧生长和受到氧胁迫的情况下,可能是酿酒酵母抗氧胁迫的主要防线<sup>[11]</sup>,当其抵抗力不足时,那些看似冗余的抗氧胁迫系统,例如 CAT 才开始发挥作用<sup>[12]</sup>。

然而,除酿酒酵母外,关于其它真核微生物中 GSH/GPx 系统的全景式研究报道很少,只有对该系统某一组成部分的研究。例如,研究发现,粟酒裂殖酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) 中 GSH 的生物合成受  $O_2^-$  的正调控<sup>[13]</sup>。解脂耶罗威亚酵母 (*Yarrowia lipolytica*) 在受到  $H_2O_2$ 、甲萘醌 (menadione) 和胡桃醌 (juglone) 胁迫时,GR 活性提高,表明 GR 参与抵抗氧胁迫<sup>[14]</sup>。Missall 等<sup>[15]</sup> 研究了新型隐球菌 (*Cryptococcus neoformans*) 中存在的两种 GPx,发现 *gpx1* 缺失突变株对丁基过氧化物 (*t*-butylhydroperoxide) 敏感,而 *gpx2* 缺失突变株对异丙苯基过氧化氢 (cumene hydroperoxide) 敏感,但 *gpx1*、*gpx2* 的单/双缺失突变株对其它氧化剂如  $H_2O_2$  均不敏感,表明新型隐球菌中 GPx 在抵抗氧胁迫中具有一定作用。基于目前的研究结果,推测真核微生物中可能普遍存在 GSH/GPx 系统,但该系统在不同真核微生物抵抗氧胁迫防线中的作用可能存在较大差异。

## 2 GSH/GPx 系统在原核微生物抗氧胁迫中的作用

与已经深入进行的酿酒酵母中 GSH/GPx 系统的功能研究不同的是,对于原核微生物中该系统的研究报道相对较少 (表 1)。现有的研究表明,该系统在原核微生物中并非普遍存在,而是存在着种属依赖性。

### 2.1 在革兰氏阴性菌中的作用

大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 是革兰氏阴性菌的模式种,因而研究者对其抗氧胁迫的研究较为深入。

研究表明 GSH 对于大肠杆菌的正常生长和抵抗氧胁迫并不必要,但在氧存在的情况下,GSH 可能有保护细胞免受辐射损害的作用<sup>[16]</sup>。因此,GSH 在大肠杆菌抗氧胁迫过程中具有一定作用,但其地位不如在酿酒酵母中重要。相对于 GR 还原 GSSG,GSH 的生物合成对大肠杆菌维持胞内 GSH 库容来说可能更为重要。此外,大肠杆菌似乎能不依赖 GR 而还原 GSSG。但是,*gor* 缺失突变株对能够生成  $O_2^-$  的物质,包括百草枯 (paraquat) 和异丙基苯过氧化氢有些敏感<sup>[16]</sup>,表明大肠杆菌中 GR 在抗氧胁迫过程中有一定作用,但其地位也不如在酿酒酵母中重要。大肠杆菌由于缺乏 *gpx* 基因,因而其不存在依赖于 GSH 的 GPx 系统。但其含有谷氧还蛋白,因此其胞内的 GSH、GR 和 NADPH 可能与谷氧还蛋白组成了依赖于 GSH 的另一种还原系统。然而,该系统对于大肠杆菌清除过氧化物没有贡献,只在 DNA 合成中起着重要作用<sup>[17]</sup>。

国内外对除大肠杆菌外的其它革兰氏阴性菌中 GSH/GPx 系统的生理作用的研究报道相对较少。虽然已经发现部分革兰氏阴性菌中具有 *gsh1*、*gsh2*、*gor* 和 *gpx* 基因,例如绿脓假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、新月柄杆菌 (*Caulobacter crescentus*)、肠道沙门氏菌 (*Salmonella enterica*)<sup>[18]</sup> (KEGG 基因数据库 <http://www.genome.jp/kegg/kegg2.html>),但至今未见上述菌种中关于 GSH/GPx 系统的生理作用的相关研究报道。有趣的是,含有 *gor* 基因的流感嗜血杆菌 (*Haemophilus influenzae*) 虽然没有 GSH 生物合成能力,但能够从培养基中吸收外源 GSH。研究发现,流感嗜血杆菌的 CAT 缺失突变株 AB2593 在丰富培养基中好氧生长速率与野生型菌株几乎相同,然而,在基本培养基 (不含 GSH) 中对突变株 AB2593 进行厌氧培养,当细胞生长到对数前期时,将生长环境从厌氧转换到好氧,则该突变株的生长很快停止并死亡。由于流感嗜血杆菌中存在依赖于 GSH 的 GPx 活性,因此推测吸收至胞内的 GSH 与胞内的 GR、GPx 组成了一个完整的 GSH/GPx 系统,并且该系统可能是流感嗜血杆菌清除好氧生长中所产生的内源性  $H_2O_2$  的主要系统。此外,当环境中  $H_2O_2$  浓度超过某一值 ( $25\mu\text{mol/L}$ ) 时,CAT 则成为主要的  $H_2O_2$  清除者。因此,流感嗜血杆菌的抗氧胁迫防线可能是由 GSH/GPx 系统和 CAT 一起共同组成的<sup>[19]</sup>。

表 1 已知的革兰氏阳性菌及革兰氏阴性菌 GSH/GPx 系统的编码基因性质的比较

Table 1 Comparison of the characters of the GSH/GPx system encoding genes of Gram-negative bacteria and Gram-positive bacteria

	GSH	GR	GPx	References
Gram-negative bacteria				
<i>Escherichia coli</i>	<i>gsh1</i> and <i>gsh2</i> deletion did not affect growth ; <i>gsh1</i> deletion did not affect growth under oxidative stress during the exponential phase	<i>gor</i> deletion did not affect GSSG reduction , but sensitive to O <sub>2</sub> <sup>-</sup> generating oxidants	lack of gpx gene	[ 16 ]
<i>Haemophilus influenzae</i>	lack of GSH biosynthesis capability , but can take up GSH from environment	<i>gor</i> gene exists	GSH-dependent GPx activity exists	[ 19 ]
Gram-positive bacteria				
<i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Listeria monocytogenes</i>	containing a single multimodular fusion protein carrying out GSH1 and GSH2 activity	non-reported	non-reported	[ 22 ,23 ]
<i>Enterococcus faecalis</i>	lack of GSH biosynthesis capability , but can take up GSH from environment	GR activity increases two folds under 100% oxygen pressure	GPx activity increases about 2. 8 folds under 100% oxygen pressure	[ 25 ]
<i>Lactococcus lactis</i>	lack of GSH biosynthesis capability , but can take up GSH from environment	GR activity increases under aerobic conditions	GPx activity increases 5 folds under aerobic conditions	[ 26 ]

## 2.2 在革兰氏阳性菌中的作用

在 20 世纪 90 年代之前 ,一般认为革兰氏阳性菌不能生物合成 GSH ,并且胞内不存在 GR 和 GPx ,因此人们对它研究得较少。在陆续发现了部分革兰氏阳性菌 ,如肺炎链球菌 ( *Streptococcus pneumoniae* )<sup>[20]</sup>、变异链球菌( *S. mutans* )<sup>[21]</sup>等 ,可以通过从胞外吸收来积累 GSH ,并且发现部分革兰氏阳性菌中存在 GR 和依赖于 GSH 的 GPx 后 ,人们对该系统在革兰氏阳性菌中的生理作用开始产生兴趣。

与 GSH 的生物合成能力在革兰氏阴性菌中较为普遍存在形成鲜明对比的是 ,迄今为止 ,在基因和酶水平上证明革兰氏阳性菌具有生物合成 GSH 能力的报道只有两例 ,即无乳链球菌( *S. agalactiae* )和单核细胞增多性李氏杆菌 ( *Listeria monocytogenes* )<sup>[22-23]</sup>。值得注意的是 ,这两种菌株并不具有 *gsh2* 相似基因 ,事实上 ,在革兰氏阳性菌中至今尚未发现与 *gsh2* 相似的基因<sup>[24]</sup>。

GR 和 GPx 在革兰氏阳性菌中可能普遍存在。这是因为在已经完成基因组序列测定的乳杆菌 ( *Lactobacillus* ) 乳球菌( *Lactococcus* )和链球菌等中均已发现 *gor* 和 *gpx* 基因( KEGG 基因数据库 <http://www.genome.jp/kegg/kegg2.html> )。此外 ,目前已经在变异链球菌、粪肠球菌( *Enterococcus faecalis* )和乳酸乳球菌( *L. lactis* )中检测到 GR 或 GPx 的酶活<sup>[25-27]</sup>。研究者以一些可以吸收外源 GSH 的革兰氏阳性菌为研究对象 ,如粪肠球菌和乳酸乳球菌(表

1) ,对 GSH/GPx 系统的作用进行了较为深入的研究。

作者在前期研究中报道了乳酸乳球菌中存在 GR 和依赖于 GSH 的 GPx ,且有些菌株能够从胞外吸收 GSH<sup>[26]</sup>。与对照 (培养基中不加 GSH)相比 ,从培养基中吸收了 GSH 的乳酸乳球菌 SK11 稳定期细胞对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的抗性( 5mmol/L 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理 5min )提高了 5 倍。培养基中 GSH 浓度为 1 ~ 10μmol/L 时就可赋予菌株 SK11 对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的抗性 ,且这种抗性随着胞内 GSH 积累量的增加而提高<sup>[26]</sup>。在作者的后续研究中进一步发现 ,通过代谢工程手段在乳酸乳球菌乳脂亚种 NZ9000 和 SK11 中引入 GSH 合成能力 ,也可以提高宿主菌对氧胁迫的抗性 ,但抗性的提高程度依赖于宿主菌本身抗氧胁迫能力强弱。例如 ,只有在较高 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 剂量( 150mmol/L 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理 15min )下 ,GSH 对宿主菌 NZ9000 的保护作用才显现出来。并且 ,GSH 可以明显缩短菌株 NZ9000 的 SOD 缺失突变株 NZ4504 在好氧条件下生长的延滞期 ,说明 GSH 可以部分互补菌株 NZ9000 中的 SOD 活性<sup>[28]</sup>。

目前对原核微生物中 GSH/GPx 系统的研究 ,大多只停留在生化水平。由于缺乏基因水平上的研究 ,只能推测 ,胞内存在 GR 和依赖于 GSH 的 GPx 的菌株 ,如流感嗜血杆菌和乳酸乳球菌等 ,通过从胞外吸收 GSH ,组成了依赖于 GSH 的 GPx 系统 ,与其胞内存在的其它抗氧化机制 ,例如 SOD/NADH 氧化酶/NADH 过氧化物酶一起 ,组成抵抗氧胁迫的防线。

### 3 问题与展望

GSH/GPx 系统在微生物抵抗氧胁迫防线中的地位是不尽相同的。它对于酿酒酵母细胞具有不可替代的抗氧化作用,被人们研究得较多也较清楚,已经能通过对系统各组成部分进行基因操作,提高酿酒酵母细胞耐受氧胁迫的能力。而对于原核微生物,该系统只是条件性的,即通过从胞外吸收 GSH,组成完整的 GSH/GPx 系统,参与细胞的抗氧胁迫防线。依赖于 GSH 的 GPx 系统在酿酒酵母和原核微生物中的作用相差很大,有研究者认为原因在于真核微生物的细胞膜中含有对氧化作用最敏感的多不饱和脂肪酸,在长期的进化过程中,真核微生物发展出 GSH/GPx 系统来抵抗脂质过氧化的机制<sup>[29]</sup>。而原核微生物中,如大肠杆菌,由于缺乏多不饱和脂肪酸,也就缺乏有机氢过氧化物作为依赖于 GSH 的 GPx 的底物,这样,大肠杆菌中可能没有必要存在这种还原系统。

此外,在大肠杆菌等许多原核微生物中,都存在用烷基过氧化氢酶(alkyl hydroperoxide reductase, Ahp)清除低水平的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、用 CAT 用于清除高水平 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的现象<sup>[30-31]</sup>。原因可能是 Ahp 的催化效率远高于 CAT,并且,CAT 反应时需要 2 分子 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,当 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 水平较低时,很难完成催化循环。另一方面,Ahp 的催化反应受还原力 NADH 的限制,这使得其在清除高水平 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 时力不从心<sup>[32]</sup>。这样,Ahp 和 CAT 组合在一起已经能够清除大部分 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,这可能是大肠杆菌不需要 GSH/GPx 系统的另一原因。值得注意的是,存在 GSH/GPx 系统的流感嗜血杆菌中不存在 Ahp,这可能也就是其需要 GSH/GPx 系统的原因<sup>[19]</sup>。

粪肠球菌和乳酸乳球菌中不存在 CAT。在这两种革兰氏阳性菌中,NADH 氧化酶和 NADH 过氧化物酶可用于清除 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。但是,这两个酶的催化反应都需要 NADH 作为还原力,在受到较强的氧胁迫时,由于 NADH 的限制,细胞清除 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的能力会受到限制。而依赖于 GSH 的 GPx 系统能以 NADPH 作为还原力,或许这样会缓解 NADH 不足的压力,赋予细胞更强的抵抗氧胁迫的性能。

现有的研究表明,粪肠球菌和乳酸乳球菌均存在着对氧胁迫的适应性应答,那么这两种微生物中的 GSH、GR 和 GPx 是否如我们设想的那样,组成了有效的还原系统?还是各自为政?作者正在前

期研究的基础上<sup>[24,26,28]</sup>以基因组序列即将完成的乳酸乳球菌 MG1363(厌氧革兰氏阳性菌的模式种,在食品、发酵工业中具有重要用途)为对象,利用基因敲除技术构建一系列 GSH 代谢相关酶编码基因的突变株,然后在 RNA、蛋白质和细胞水平上研究其各自作用和相互关系。相信随着对依赖于 GSH 的还原系统在微生物中、特别是革兰氏阳性菌中生理作用研究的进一步深入,这些疑问会得到解释,同时能使人们利用这些知识来提高工业微生物抵抗氧胁迫能力,更好地服务于工业生产。

### REFERENCES(参考文献)

- [1] Thorpe GW, Fong CS, Alic N, et al. Cells have distinct mechanisms to maintain protection against different reactive oxygen species: oxidative-stress-response genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101** (17): 6564 - 6569.
- [2] Copley SD, Dhillon JK. Lateral gene transfer and parallel evolution in the history of glutathione biosynthesis genes. *Genome Biol*, 2002, **3**(5): research0025. Epub 2002 Apr 29.
- [3] Pocsí I, Prade RA, Penninckx MJ. Glutathione, altruistic metabolite in fungi. *Adv Microb Physiol*, 2004, **49**: 1 - 76.
- [4] Franca MB, Panek AD, Eleutherio ECA. The role of cytoplasmic catalase in dehydration tolerance of *Saccharomyces cerevisiae*. *Cell Stress Chaperones*, 2005, **10**(3): 167 - 170.
- [5] Penninckx M. A short review on the role of glutathione in the response of yeasts to nutritional, environmental and oxidative stresses. *Enzyme Microb Technol*, 2000, **26**(9-10): 737 - 742.
- [6] Grant CM, Maclver FH, Dawes IW. Glutathione synthetase is dispensable for growth under both normal and oxidative stresses conditions in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* due to an accumulation of the dipeptide-glutamylcysteine. *Mol Biol Cell*, 1997, **8**(9): 1699 - 1707.
- [7] Grant CM, Collinson LP, Roe JH, et al. Yeast glutathione reductase is required for protection against oxidative stress and is a target gene for yAP-1 transcriptional regulation. *Mol Microbiol*, 1996, **21**(1): 171 - 179.
- [8] Inoue Y, Matsuda T, Sugiyama K, et al. Genetic analysis of glutathione peroxidase in oxidative stress response of *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem*, 1999, **274**(38): 27002 - 27009.
- [9] Avery AM, Avery SV. *Saccharomyces cerevisiae* expresses three phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidases. *J Biol Chem*, 2001, **276**(36): 33730 - 33735.
- [10] Hwlett N, Avery S. Induction of lipid peroxidation during heavy metal stress in *Saccharomyces cerevisiae* and influence of plasma membrane fatty acid unsaturation. *Appl Environ Microbiol*, 1997, **63** (8): 2971 - 2976.
- [11] Monje-Casas F, Michan C, Pueyo C. Absolute transcript levels of thioredoxin- and glutathione-dependent redox systems in *Saccharomyces cerevisiae*: response to stress and modulation with growth. *Biochem J*, 2004, **383**(139): 139 - 147.

- [ 12 ] Grant CM ,Perrone G ,Dawes IW. Glutathione and catalase provide overlapping defenses for protection against hydrogen peroxide in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem Biophys Res Commun* , 1998 **253** ( 3 ) 893 – 898.
- [ 13 ] Kim SJ ,Kim HG ,Kim BC ,et al. Transcriptional regulation of glutathione synthetase in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Mol Cells* 2004 **18** ( 2 ) 242 – 248.
- [ 14 ] Biriukova EN ,Medentsev AG ,Arinbasarova AI ,et al. Tolerance of the yeast *Yarrowia lipolytica* to oxidative stress. *Mikrobiologiya* , 2006 **75** ( 3 ) 293 – 298.
- [ 15 ] Missall TA , Cherry-Harris JF , Lodge JK. Two glutathione peroxidases in the fungal pathogen *Cryptococcus neoformans* are expressed in the presence of specific substrates. *Microbiology* , 2005 **151** 2573 – 2581.
- [ 16 ] Carmel-Harel O ,Storz G. Roles of the glutathione- and thioredoxin-dependent reduction systems in the *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae* responses to oxidative stress. *Annu Rev Microbiol* 2000 **54** 439 – 461.
- [ 17 ] Ortenberg R ,Gon S ,Porat A ,et al. Interactions of glutaredoxins , ribonucleotide reductase ,and components of the DNA replication system of *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA* ,2004 **101** ( 19 ) 7439 – 7444.
- [ 18 ] Brenot A ,King KY ,Janowiak B ,et al. Contribution of glutathione peroxidase to the virulence of *Streptococcus pyogenes*. *Infect Immun* , 2004 **72** ( 1 ) 408 – 413.
- [ 19 ] Vergauwen B ,Pauwels F ,Van Beeumen JJ. Glutathione and catalase provide overlapping defenses for protection against respiration-generated hydrogen peroxide in *Haemophilus influenzae*. *J Bacteriol* 2003 **185** ( 18 ) 5555 – 5562.
- [ 20 ] Kumaresan KR ,Springhorn SS ,Lacks SA. Lethal and mutagenic actions of *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine potentiated by oxidized glutathione a seemingly harmless substance in the cellular environment. *J Bacteriol* ,1995 **177** ( 13 ) 3641 – 3646.
- [ 21 ] Sherrill C ,Fahey RC. Import and metabolism of glutathione by *Streptococcus mutans*. *J Bacteriol* ,1998 **180** ( 6 ) 1454 – 1459.
- [ 22 ] Janowiak BE ,Griffith OW. Glutathione synthesis in *Streptococcus agalactiae*. One protein accounts for gamma-glutamylcysteine synthetase and glutathione synthetase activities. *J Biol Chem* 2005 , **280** ( 12 ) :11829 – 11839.
- [ 23 ] Gopal S ,Borovok I ,Ofer A ,et al. A multidomain fusion protein in *Listeria monocytogenes* catalyzes the two primary activities for glutathione biosynthesis. *J Bacteriol* 2005 **187** ( 11 ) 3839 – 3847.
- [ 24 ] Li Y ,Hugenholtz J ,Sybesma W ,et al. Using *Lactococcus lactis* for glutathione overproduction. *Appl Microbiol Biotechnol* ,2005 **67** :33 – 90.
- [ 25 ] Patel MP ,Marcinkeviciene J ,Blanchard JS. *Enterococcus faecalis* glutathione reductase :purification ,characterization and expression under normal and hyperbaric O<sub>2</sub> conditions. *FEMS Microbiol Lett* , 1998 **166** ( 1 ) :155 – 163.
- [ 26 ] Li Y ,Hugenholtz J ,Abee T ,et al. Glutathione protects *Lactococcus lactis* against oxidative stress. *Appl Environ Microbiol* ,2003 **69** ( 10 ) 5739 – 5745.
- [ 27 ] Yamamoto Y ,Kamio Y ,Highchi M. Cloning ,nucleotide sequence , and disruption of *Streptococcus mutans* glutathione reductase gene ( *gor* ). *Biosci Biotechnol Biochem* ,1999 **63** ( 3 ) :1056 – 1062.
- [ 28 ] Fu RY ,Bongers RS ,van Swam II ,et al. Introducing glutathione biosynthetic capability into *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* NZ9000 improves the oxidative-stress resistance of the host. *Metabolic Engineering* 2006 **8** :662 – 671.
- [ 29 ] Sundquist AR ,Fahey RC. Evolution of antioxidant mechanisms : thiol-dependent peroxidases and thioltransferase among procaryotes. *J Mol Evol* ,1989 **29** ( 5 ) 429 – 435.
- [ 30 ] Mongkolsuk S , Whangskul W , Vattanaviboon P , et al. A *Xanthomonas* alkyl hydroperoxide reductase subunit C ( *ahpC* ) mutant showed an altered peroxide stress response and complex regulation of the compensatory response of peroxide detoxification enzymes. *J Bacteriol* 2000 **182** ( 23 ) 6845 – 6849.
- [ 31 ] Ochsner UA , Vasil ML , Alsabbagh E , et al. Role of the *Pseudomonas aeruginosa oxyR-recG* operon in oxidative stress defense and DNA repair :OxyR-dependent regulation of the *katB-ankB*. *AhpB* and *ahpC-ahpF*. *J Bacteriol* 2000 **182** ( 16 ) :4533 – 4544.
- [ 32 ] Seaver LC ,Imlay JA. Alkyl hydroperoxide reductase is the primary scavenger of endogenous hydrogen peroxide in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* ,2001 **183** ( 24 ) :7173 – 7181.