

产琥珀酸重组解脂酵母发酵副产物乙酸的代谢控制

高翠娟, 郑亚琴

临沂大学 生命科学学院, 山东 临沂 276000

高翠娟, 郑亚琴. 产琥珀酸重组解脂酵母发酵副产物乙酸的代谢控制. 生物工程学报, 2018, 34(3): 389–395.

Gao CJ, Zheng YQ. Control of acetic acid metabolism of recombinant *Yarrowia lipolytica* for efficient succinic acid production. Chin J Biotech, 2018, 34(3): 389–395.

摘要: 琥珀酸是一种高附加值的有机酸, 广泛用于食品、化工和农药领域。解脂酵母 *Yarrowia lipolytica* 作为新型强健的非传统酵母, 近年来逐渐吸引了研究者的注意。前期通过基因敲除琥珀酸脱氢酶基因构建了一株产琥珀酸的重组解脂酵母 PGC01003。由于糖酵解和 TCA 循环流量不协调, PGC01003 分泌大量副产物乙酸, 限制了琥珀酸产量的进一步提高。为降低乙酸的溢出, 实现自然低 pH 值发酵生产琥珀酸, 首先干扰旁路代谢, 异源表达来自鼠沙门氏菌的乙酰辅酶 A 合酶, 乙酸的产量下降至 4.6 g/L, 比对照降低了 24.6%。而基因敲除乙酰辅酶 A 水解酶基因得到的重组菌 PGC11505, 发酵 96 h 乙酸分泌量只有 0.4 g/L, 琥珀酸产量提高到 7.0 g/L, 琥珀酸的转化率为 0.30 g/g, 为进一步构建高产琥珀酸的细胞工厂奠定基础。

关键词: 解脂酵母, 发酵, 琥珀酸, 乙酸

Control of acetic acid metabolism of recombinant *Yarrowia lipolytica* for efficient succinic acid production

Cuijuan Gao, and Yaqin Zheng

School of Life Sciences, Linyi University, Linyi 276000, Shandong, China

Abstract: Succinic acid is a high value-added organic acid widely used in food, chemical and pesticide industries. As a new robust non-conventional yeast, *Yarrowia lipolytica* attracts more and more attention due to its potential for industrial applications. Previously, we obtained a succinic acid-producing strain through gene deletion of succinic acid dehydrogenase subunit encoding gene *Ylsdh5*, resulting in the strain of PGC01003. However, the recombinant strain produced large amount of acetic acid due to imbalance between glycolysis and TCA cycle which hindered the efficient production of succinic acid. PDH bypass was interfered to decrease the overflow of acetic acid and produce succinic acid under natural pH. Acetic acid was reduced to 4.6 g/L through heterologous expression of acetyl coenzyme A synthase from *Salmonella enteric*, which was 75.4%

Received: July 25, 2017; **Accepted:** November 20, 2017

Supported by: National Natural Science Foundation of China (No. 31700074), Key Research and Development Plan of Shandong Province (No. 2016GSF121019), Doctoral Research Foundation of Linyi University (No. LYDX2013BS028).

Corresponding author: Cuijuan Gao. Tel: +86-539-7258711; E-mail: gaocuijuan@lyu.edu.cn

国家自然科学基金 (No. 31700074), 山东省重点研发计划 (No. 2016GSF121019), 临沂大学博士科研启动基金 (No. LYDX2013BS028) 资助。

网络出版时间: 2017-12-05

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1998.Q.20171205.1131.002.html>

of the control strain. Deletion of CoA-transferase gene *Ylach1* eliminated acetate formation and improved succinic acid production, and the resulting strain produced as high as 7.0 g/L succinic acid. Our study provides foundation for further construction of efficient cell factory of succinic acid production.

Keywords: *Yarrowia lipolytica*, fermentation, succinic acid, acetic acid

随着化石资源的不断消耗以及环境污染问题的加剧, 利用微生物合成高附加值的工业产物受到愈来愈多的关注与重视^[1]。在众多的平台化合物中, 琥珀酸在食品、化工、农业等领域都具有非常广泛的应用^[2-3]。琥珀酸还可以作为中间体合成 γ -丁内酯、1,4-丁二胺、四氢呋喃等化合物^[4]。众多附加应用使得琥珀酸在 2004 年被美国能源部确定为最具价值的生物炼制产品^[5]。

在微生物细胞内, 琥珀酸是 TCA 循环的中间代谢产物, 因此可利用生物质原料发酵法生产琥珀酸^[6-7]。当前, 利用大肠杆菌等基因工程菌生产琥珀酸可以达到较高的产率和产量, 但是细菌不耐受酸及渗透压, 需要添加碱液以维持中性的发酵环境^[8-10]。发酵过程持续不断的 pH 值调节增加了染菌的概率。发酵结束后需要用酸调节 pH 值至酸性, 使琥珀酸盐转变成琥珀酸, 发酵成本大幅增加^[11]。跟细菌等原核生物相比较, 酵母能耐受低 pH 值, 增加了其在工业应用的优势。

解脂耶氏酵母 *Yarrowia lipolytica* 是非传统酵母, 严格好氧, 利用完整的 TCA 循环和电子传递链维持生长^[12-13]。它能积累大量的有机酸, 包括柠檬酸、异柠檬酸、 α -酮戊二酸等^[14-16]。经过代谢工程改造后, 敲除琥珀酸脱氢酶 (Succinate dehydrogenase, SDH) 的编码基因或者弱化该基因的启动子, *Y. lipolytica* 可积累琥珀酸^[17-18]。2010 年 Gao 等通过敲除 *Sdh2* 亚基成功构建可积累 4.0 g/L 琥珀酸的 *Y. lipolytica* 重组菌, 随后采用化学诱变的方法获得琥珀酸产量进一步提高的突变株。我们课题组通过基因敲除 *Y. lipolytica* *Po1f* 的 SDH 的 *Sdh5* 亚基获得了重组菌 PGC01003^[19]。PGC01003 在不控制 pH 值的中性环境下以甘油作碳源发酵

足够长时间能生产琥珀酸, 这充分证明了该菌株的鲁棒性。然而, 实验存在一些亟待解决的问题。重组菌在发酵产生琥珀酸的同时, 由于代谢溢出, 还产生较多的副产物乙酸。乙酸对菌体具有毒害作用, 抑制细胞生长和琥珀酸发酵。如果不控制发酵液的 pH 值, 琥珀酸的产量很低^[19]。

为实现低 pH 值发酵生产琥珀酸, 我们对 *Y. lipolytica* 乙酸代谢的可能途径进行分析, 并通过代谢工程的策略降低乙酸的溢出 (图 1)。首先干扰旁路代谢 (Pyruvate dehydrogenase bypass, PDH bypass), 基因敲除丙酮酸脱羧酶 (Pyruvate decarboxylase, PDC) 基因或者过量表达乙酰辅酶 A 合酶 (Acetyl coenzyme A synthetase, ACS), 分析重组菌的乙酸产量变化。随后基因敲除乙酰辅酶 A 水解酶 (Acetyl-CoA hydrolase, ACH1), 获得重组菌 PGC11505, 乙酸分泌量大幅降低。

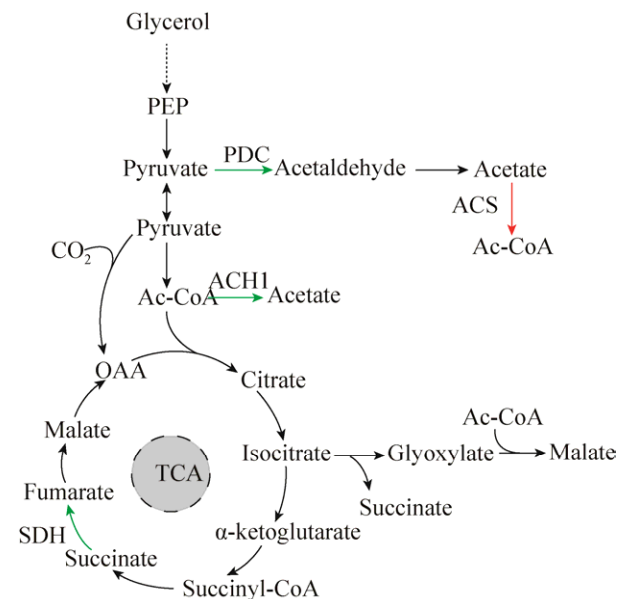


图 1 解脂酵母 *Y. lipolytica* 的主要中心代谢途径
Fig. 1 Central pathways related to succinic acid production of *Y. lipolytica*.

1 材料与amp;方法

1.1 菌种和质粒

解脂酵母 *Y. lipolytica* Po1f (URA₃⁻, Leu₂⁻)由法国 INRA 实验室的 Madzak Catherine 教授馈赠。产琥珀酸的重组酵母菌株均为作者所在实验室构建和保存^[20], 详见表 1。

1.2 培养基

酵母种子培养和发酵培养基为 YPG 完全培养基, 含 20 g/L 甘油, 20 g/L 蛋白胨, 10 g/L 酵母粉, 自然 pH。制备固体培养基时添加 2%的琼脂。

1.3 培养方法

1.3.1 种子培养

挑取生长良好的单菌落接种于含 50 mL 的 YPG 液体培养基的 250 mL 三角瓶中, 28 °C、220 r/min 培养 24 h。

1.3.2 乙酸耐受培养

将种子培养液按 1%接种量转接至含不同浓度乙酸 (1、2、5 g/L) 的 YPG 液体培养基中, 28 °C、220 r/min 培养 24–48 h。

1.3.3 摇瓶发酵培养

将种子培养液按 1%接种量转接至 50 mL 的发酵培养基 YPG 中, 28 °C、220 r/min 培养, 定时取样测定菌体 OD₆₀₀、甘油和有机酸的含量。

1.4 分析检测

菌体浓度采用分光光度计测 600 nm 下的吸光度。采用 HPLC 定量检测发酵液中的甘油和有

机酸的含量。HPLC 分析条件: 流动相为 5 mmol/L 稀硫酸, 色谱柱为 Aminex HPX-87H (Bio-Rad, USA), 流速 0.6 mL/min, 柱温 65 °C, 进样量 10 μL, 检测器为示差折光检测器。

2 结果与分析

2.1 重组菌 PGC01003 的琥珀酸发酵

前期, 基因敲除了解脂酵母 Po1f 菌株中参与 TCA 循环的琥珀酸脱氢酶 (Succinate dehydrogenase, SDH) 的 Sdh5 亚基编码基因 *Ylsdh5*, 成功构建了琥珀酸脱氢酶失活的突变株, 获得可积累琥珀酸的解脂酵母重组菌 PGC01003^[19]。图 2 分别列出了重组菌 PGC01003 和对照菌 Po1f 在 YPG 摇瓶发酵时甘油浓度、菌体 OD 值、琥珀酸、乙酸、柠檬酸的产量。可以看到, 重组菌 PGC01003 从 24 h 开始菌体生长减缓, 30 h 达到稳定期, OD 值最大为 14.0, 发酵结束时甘油仍残余 3.8 g/L。而 Po1f 可以持续生长至 72 h, 直至甘油消耗完全方停止生长, OD 值达到 33.5。Po1f 的发酵产物主要是柠檬酸 (5.0 g/L), 只有极少量的琥珀酸和乙酸产生, PGC01003 几乎不分泌柠檬酸 (0.4 g/L), 产生 5.0 g/L 琥珀酸。由于代谢流量不平衡, PGC01003 发生代谢溢出, 产生大量的副产物乙酸, 在 24 h 时生成 2.8 g/L 乙酸, 30 h 时继续增加至 4.8 g/L, 48 h 时乙酸浓度高达 6.1 g/L, 发酵终止。

为检验增加溶氧是否有助于改善重组菌 PGC01003 的生长和琥珀酸生成, 我们采用不带/带挡板的摇瓶以及不同装液量进行发酵 (图 3)。由图 3A 可以看出, 由于溶氧的增加, 使用带挡板的摇瓶可以提高对照菌 Po1f 的菌体生长, 其 OD 值由 34.0 增至 71.0, 增长了 1 倍。然而, 装液量为 30 mL 和 50 mL 时是否带挡板对 PGC01003 的生物量影响较少; 装液量提高到 80 mL 以上时, PGC01003 在带挡板的摇瓶中生长较好, 可获得更高的生物量。此外, 在装液量相同的发酵液中

表 1 本文所用的产琥珀酸重组酵母

Table 1 Strains of recombinant *Y. lipolytica* for succinic acid production

Strain name	Description
PGC01003	<i>Y. lipolytica</i> Po1f derivate, <i>sdh5</i>
PGC11201	<i>Y. lipolytica</i> Po1f derivate, <i>sdh5</i> , <i>pdc</i>
PGC11301	<i>Y. lipolytica</i> Po1f derivate, <i>sdh5</i> , <i>Ylacs</i>
PGC11401	<i>Y. lipolytica</i> Po1f derivate, <i>sdh5</i> , <i>oSeacs</i>
PGC11505	<i>Y. lipolytica</i> Po1f derivate, <i>sdh5</i> , <i>ach1</i>

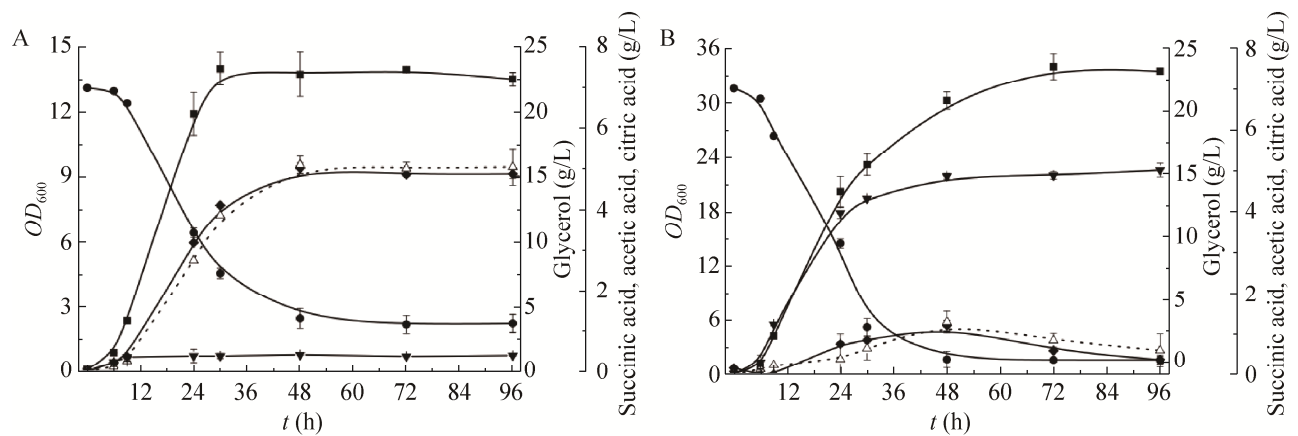


图2 解脂酵母 PGC01003 (A) 和 Polf (B) 的琥珀酸发酵比较

Fig. 2 Fermentation profiles of PGC01003 (A) and Polf (B) in YPG flasks. Squares stand for OD_{600} , circles stand for glycerol concentrations, diamonds stand for succinic acid concentrations, upright triangles stand for acetic acid concentrations and inverted triangles stand for citric acid concentrations.

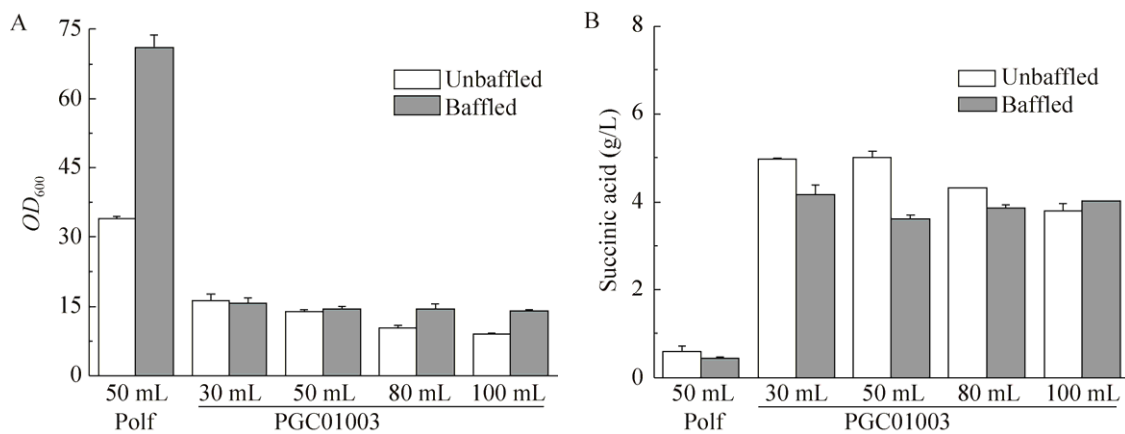


图3 PGC01003 在不带/带挡板的摇瓶以及不同装液量条件下菌体 OD 值 (A) 和琥珀酸产量分析 (B)

Fig. 3 OD (A) and succinic acid fermentation (B) of PGC01003 in flasks without/with baffles and with varied volumes of fermentation broth.

带挡板摇瓶的琥珀酸产量略有降低 (图 3B), 这可能是增加的溶氧促进了菌体的前期生长和维持所致。通过改变装液量或采用带挡板的摇瓶来改变发酵液溶氧的方式不能提高重组菌的琥珀酸产量。

2.2 PDH 旁路改造对琥珀酸发酵的影响

为提高琥珀酸的产量, 首先采用代谢工程干扰 PDH 旁路的策略阻断乙酸的溢出。PDH 旁路由丙酮酸脱羧酶催化细胞质丙酮酸脱羧生成乙醛, 乙醛在乙醛脱氢酶的作用下氧化为乙酸。细

胞质的乙酸可以进一步被乙酰辅酶 A 合酶 (Acetyl-CoA synthase, ACS) 转化为乙酰辅酶 A。乙酰辅酶 A 作为细胞内的高能代谢物, 参与许多重要的合成和分解代谢^[21]。本实验分别采用基因敲除丙酮酸脱羧酶编码基因 *Ylpdc*、过量表达 ACS 的方法降低乙酸的浓度。

敲除 PGC01003 的 *Ylpdc* 基因获得重组菌株 PGC11203, PGC11203 在 YPG 培养基发酵 72 h 仍产生较高的乙酸 (表 2), 琥珀酸的产量和菌体

OD 略有下降, *Ylpdc* 基因的缺失不但没有降低乙酸的溢出, 而且还影响菌体的生长和琥珀酸发酵。另一替代策略是在 PGC01003 中过量表达 ACS, 将细胞质中多余的乙酸转化为高能化合物乙酰辅酶 A。分别表达了 *Y. lipolytica* 自身的 ACS 和来自沙门氏菌 *Salmonella enterica* 的 ACS, 所构建的新菌株分别是 PGC11301 (*Ylacs*) 与 PGC11401 (*oSEacs^{L641P}*)。文献报道, ACS 的活性受到翻译后乙酰化与去乙酰化系统修饰。而将 *S. enterica* 的 ACS 蛋白质中第 641 位的脯氨酸替换为亮氨酸可阻止其乙酰化, 进而维持其活性状态^[21]。根据 *Y. lipolytica* 的密码子偏好优化了 *SEacs^{L641P}*, 并合成全新的基因序列 *oSeacs* 用于在 *Y. lipolytica* 的表达, 其发酵情况如表 2 所示。PGC11301 的发酵情形与 PGC01003 相当, 表明直接表达 *Y. lipolytica* 自身的 ACS 不能有效控制乙酸的溢出。相比之下, 异源表达 *oSEacs^{L641P}* 的重组菌 PGC11401 的菌体 *OD₆₀₀* 增加至 14.4, 琥珀酸产量为 6.3 g/L (提高了 14.5%), 乙酸产量降至 4.6 g/L, 下降了 24.6%。对 PDH 旁路途径的扰动策略中, 仅表达异源的 *oSEacs^{L641P}* 降低了乙酸溢出, 进而改善菌体生长, 增加琥珀酸生产。经过点突变的 *oSEacs^{L641P}* 能有效保持活性状态, 催化乙酸生成乙酰辅酶 A。

2.3 基因敲除 *Ylach1* 对琥珀酸发酵的影响

异源表达 *oSEacs^{L641P}* 降低了乙酸产出, 但是重组菌 PGC11401 仍溢出较多的乙酸, 造成碳源

的浪费, 并影响细胞的正常生长。因此, 我们推测 *Y. lipolytica* 还存在其他的乙酸溢出路径。经过代谢途径挖掘和文献分析发现酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 的乙酰辅酶 A 水解酶 (Acetyl-CoA hydrolase, ACH1) 能催化乙酰辅酶 A 为乙酸和辅酶 A^[22]。随后, 研究者发现该酶位于线粒体中, 它具备辅酶 A 转移酶活性, 可将乙酰辅酶 A 的乙酰基转移至琥珀酸生成乙酸和琥珀酰辅酶 A^[23]。通过基因序列比对与查找, 我们获得 *Y. lipolytica* 的乙酰辅酶 A 水解酶编码基因 *Ylach1* (YALI0E30965g), 基因敲除 *Ylach1* 构建了重组菌 PGC11505。图 4A 显示, 发酵 96 h 重组菌 PGC11505 的琥珀酸产量达到 7.0 g/L, 比 PGC01003 提高了 27.3%, 乙酸只有 0.48 g/L, 菌体的生长接近对照菌 Po1f (*OD₆₀₀* 达到 29.4)。甘油被完全消耗掉, 琥珀酸的转化率达到 0.30 g/g。ACH1 的失活阻断了线粒体中乙酰辅酶 A 转化为乙酸, 同时也降低了琥珀酸向琥珀酰辅酶 A 的转化。乙酸溢出大幅度减少, 这有利于菌体生长, 提高了琥珀酸的产量。

为进一步验证乙酸对 *Y. lipolytica* 细胞生长的影响, 向培养基中外源添加乙酸, 检测重组菌 PGC11505 的菌体生长。图 4B 显示乙酸浓度为 1 g/L 即对 PGC11505 产生抑制作用, 菌体的 *OD* 值在 24 h 和 48 h 分别降低了 64.9% 和 66.0%。随着乙酸浓度的增加, 细胞生长抑制愈加明显。当外源添加乙酸浓度为 5 g/L 时, 细胞的生长被完全抑制。

表 2 不同的基因工程重组菌的琥珀酸发酵比较 (72 h)

Table 2 Fermentation profiles of different engineered strains including *OD₆₀₀*, glycerol consumption, succinic acid production and acetic acid accumulation (72 h), data are mean values of three parallels

Strains	Glycerol (g/L)	<i>OD₆₀₀</i>	Acetic acid titer (g/L)	Succinic acid titer (g/L)	Succinic acid yield (g/g)
PGC01003	22.0	13.95	6.1	5.5	0.25
PGC11203	20.4	12.25	5.9	4.7	0.23
PGC11301	20.9	12.30	5.7	4.8	0.23
PGC11401	23.9	14.44	4.6	6.9	0.28

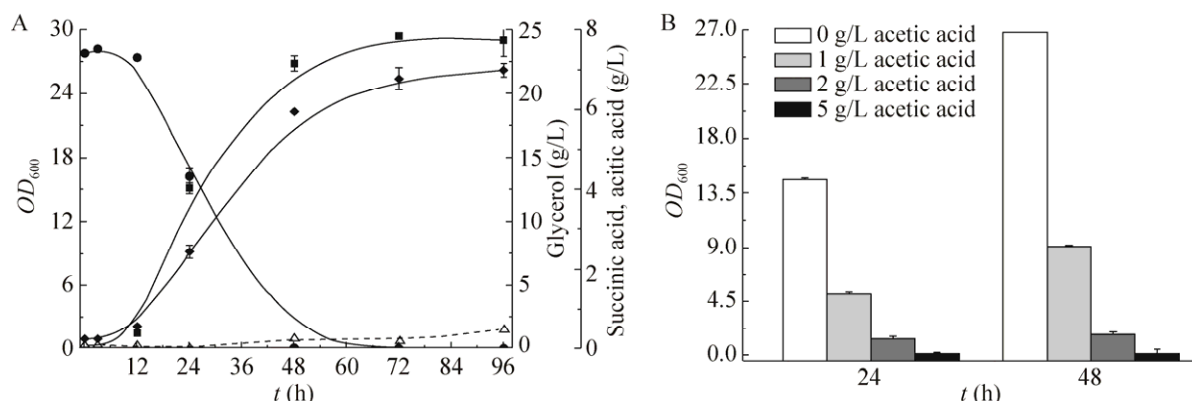


图4 PGC11505 琥珀酸发酵分析 (A) 与乙酸耐受实验 (B)

Fig. 4 Succinic acid fermentation profiles of PGC11505 (A) and effect of exogenous acetic acid on cell growth of PGC11505 (B). (A) Squares stand for OD_{600} ; circles stand for glycerol concentrations; diamonds stand for succinic acid concentrations and upright triangles stand for acetic acid concentrations.

3 结语

琥珀酸作为一种高附加值有机酸,具有重要的生理功能。目前,细菌生产琥珀酸可以达到较高的产率和产量,但是细菌不耐受酸及渗透压,发酵过程需要添加碱液以维持中性环境,发酵结束后则需要用酸调节 pH 值至酸性,使琥珀酸盐转变成琥珀酸。酵母能耐受低 pH 值和环境压力,增加了其在工业应用的优势。解脂酵母是非传统酵母,能积累柠檬酸等大量有机酸。由于代谢不平衡,通过失活琥珀酸脱氢酶所获得的重组解脂酵母产生大量副产物乙酸^[18-19]。乙酸的溢出对酵母细胞产生毒害作用,抑制菌体生长和发酵。通过干扰旁路途径,异源表达来自鼠沙门氏菌的乙酰辅酶 A 合酶可降低乙酸的溢出,乙酸产量降至 4.6 g/L,下降了 24.6%。而基因敲除乙酰辅酶 A 水解酶编码基因,乙酸的溢出降低至 0.4 g/L,琥珀酸产量提高到 7.0 g/L。乙酸溢出的有效控制恢复了菌体生长能力,为进一步的代谢工程构建高产琥珀酸的细胞工厂奠定基础。

REFERENCES

[1] Liang QF, Qi QS. From a co-production design to an integrated single-cell biorefinery. *Biotechnol Adv*,

2014, 32(7): 1328–1335.

- [2] Zheng P, Dong JJ, Sun ZH, et al. Fermentative production of succinic acid from straw hydrolysate by *Actinobacillus succinogenes*. *Bioresour Technol*, 2009, 100(8): 2425–2429.
- [3] Natrass L, Aylott M, Higson A. NNFCC renewable chemicals factsheet: Succinic acid. NNFCC 2013.
- [4] Mckinlay JB, Vieille C, Zeikus JG. Prospects for a bio-based succinate industry. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2007, 76(4): 727–740.
- [5] Werpy T, Petersen G, Aden A, et al. Top value added chemicals from biomass, volume 1: results of screening for potential candidates from sugars and synthesis gas. Washington, DC: US Department of Energy, 2004.
- [6] Vuoristo KS, Mars AE, Sanders JP, et al. Metabolic engineering of TCA cycle for production of chemicals. *Trends Biotechnol*, 2016, 34(3): 191–197.
- [7] Yin X, Madzak C, Du G, et al. Enhanced alpha-ketoglutaric acid production in *Yarrowia lipolytica* WSH-Z06 by regulation of the pyruvate carboxylation pathway. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2012, 96(6): 1527–1537.
- [8] Borges ER, Pereira N. Succinate production from sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate by *Actinobacillus succinogenes*. *J Ind Microbiol Biot*, 2010, 38(8): 1001–1011.
- [9] Li YK, Li MJ, Zhang X, et al. A novel whole-phase succinate fermentation strategy with high volumetric

- productivity in engineered *Escherichia coli*. *Bioresource Technol*, 2013, 149: 333–340.
- [10] Wang C, Cai H, Chen Z, et al. Engineering a glycerol utilization pathway in *Corynebacterium glutamicum* for succinate production under O₂ deprivation. *Biotechnol Lett*, 2016, 38(10): 1791–1797.
- [11] Jansen ML, van Gulik WM. Towards large scale fermentative production of succinic acid. *Curr Opin Biotechnol*, 2014, 30: 190–197.
- [12] Nicaud JM. *Yarrowia lipolytica*. *Yeast*, 2012, 29: 409–418.
- [13] Liu HH, Ji XJ, Huang H. Biotechnological applications of *Yarrowia lipolytica*: past, present and future. *Biotechnol Adv*, 2015, 33(8): 1522–1546.
- [14] Zhu Q, Jackson EN. Metabolic engineering of *Yarrowia lipolytica* for industrial applications. *Curr Opin Biotechnol*, 2015, 36: 65–72.
- [15] Gonçalves FA, Colen G, Takahashi JA. *Yarrowia lipolytica* and its multiple applications in the biotechnological industry. *Scientific World J*, 2014, 1: 476207.
- [16] Rywin'Ska A, Juszczak P, Wojtatowicz M, et al. Glycerol as a promising substrate for *Yarrowia lipolytica* biotechnological applications. *Biomass Bioenerg*, 2013, 48(1): 148–166.
- [17] Jost B, Holz M, Aurich A, et al. The influence of oxygen limitation for the production of succinic acid with recombinant strains of *Yarrowia lipolytica*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2015, 99(4): 1675–1686.
- [18] Yuzbashev TV, Yuzbasheva EY, Sobolevskaya TI, et al. Production of succinic acid at low pH by a recombinant strain of the aerobic yeast *Yarrowia lipolytica*. *Biotechnol Bioeng*, 2010, 107(4): 673–682.
- [19] Gao CJ, Yang XF, Wang HM, et al. Robust succinic acid production from crude glycerol using engineered *Yarrowia lipolytica*. *Biotechnol Biofuels*, 2016, 9(1): 179–189.
- [20] Cui ZY, Gao CJ, Li JJ, et al. Engineering of unconventional yeast *Yarrowia lipolytica* for efficient succinic acid production from glycerol at low pH. *Metab Eng*, 2017, 42: 126–133.
- [21] Starai VJ, Gardner JG, Escalantesemerena JC. Residue Leu-641 of Acetyl-CoA synthetase is critical for the acetylation of residue Lys-609 by the Protein acetyltransferase enzyme of *Salmonella enterica*. *J Biol Chem*, 2005, 280(28): 26200–26205.
- [22] Buu LM, Chen YC, Lee FJ. Functional characterization and localization of acetyl-CoA hydrolase, Ach1p, in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem*, 2003, 278(19): 17203–17209.
- [23] Chen Y, Zhang Y, Siewers V, et al. Ach1 is involved in shuttling mitochondrial acetyl units for cytosolic C2 provision in *Saccharomyces cerevisiae* lacking pyruvate decarboxylase. *FEMS Yeast Res*, 2015, 15(3): 1–8.

(本文责编 陈宏宇)