

## 姜黄素对酵母细胞影响的荧光分析

陈晶鑫<sup>1</sup>, 连文华<sup>1</sup>, 程元初<sup>1</sup>, 许建华<sup>2</sup>, 张连茹<sup>1</sup>

(1. 细胞应激生物学国家重点实验室, 厦门大学生命科学学院, 厦门 361102;

2. 福建医科大学药学院药理系, 福州 350122)

**摘要** 以最简单的真核生物——酿酒酵母为材料, 利用姜黄素的荧光性质, 借助荧光光谱法和荧光显微镜研究了姜黄素在酵母细胞中的定位及其对酵母生长的影响. 结果表明, 姜黄素可以进入酵母细胞中并抑制酵母生长, 初步得到了姜黄素对酵母作用的量效关系和时间效应结果, 证明了姜黄素可以与酵母细胞线粒体结合. 本文结果为以酵母为模型研究姜黄素通过线粒体影响细胞代谢及其与细胞凋亡的关系奠定了基础.

**关键词** 姜黄素; 酿酒酵母菌; 线粒体; 荧光光谱

**中图分类号** O621; Q932      **文献标志码** A

姜黄素类化合物(Curcuminoid)是从姜黄属植物——姜黄和郁金中提取的多酚类化合物, 主要产自印度、中国和印度尼西亚等地. 姜黄中提取的姜黄素类化合物主要有4种, 分别为姜黄素(Cur)、去甲氧基姜黄素、二去甲氧基姜黄素和环姜黄素, 其中含量最多和作用最显著的是姜黄素<sup>[1]</sup>. 姜黄素为橙黄色的结晶粉末, 不溶于水, 易溶于乙醇和冰醋酸.

姜黄素具有很强的药用价值, 在抗炎、抗氧化、抑菌、抑制肿瘤、改善阿尔茨海默症及抑制动脉粥样硬化等方面均有一定的效用<sup>[2]</sup>, 且无明显的毒副作用和遗传毒性<sup>[3]</sup>. 姜黄素可通过与众多靶点的相互作用起到抗炎的效果. Surh等<sup>[4]</sup>阐明了姜黄素通过抑制核因子NF- $\kappa$ B活性和一些炎症基因的转录, 进而抑制环氧合酶(COX-2)和诱导型一氧化氮合酶(iNOS)的表达, 从而抑制炎症. 姜黄素还可通过抑制TNF- $\alpha$ 以及白介素IL-1, IL-2, IL-6, IL-8和IL-12等炎症因子的产生而抑制炎症<sup>[5]</sup>. 姜黄素对病毒和多种微生物均具有抑制作用<sup>[6]</sup>; 张梦翔等<sup>[7]</sup>发现, 姜黄素对5种非白念珠菌的菌丝和生物膜的形成均有显著的抑制作用; 杨建等<sup>[8]</sup>研究表明, 姜黄素可以增强氟康唑对白色念珠菌的抑制作用, 从而增加凋亡细胞的数目.

研究发现, 肿瘤的发生与炎症过程具有一定联系<sup>[9]</sup>, 因此姜黄素的潜在抗肿瘤作用受到广泛关注. 临床研究<sup>[10~20]</sup>表明, 姜黄素可以作用于肿瘤的发生、生长、增殖和转移等各阶段. 姜黄素的抗癌作用体现在以下方面: (1) 调控细胞周期. 细胞周期紊乱以及促生长的细胞周期因子(Cyclin D1)和细胞周期蛋白质激酶(CDK)等的过度表达通常与肿瘤的发生密切相关<sup>[10]</sup>. 姜黄素可以通过调控细胞周期因子的表达将肿瘤细胞阻滞在G1和G2期等特定时期, 从而抑制肿瘤的生长<sup>[11, 12]</sup>. (2) 诱导细胞凋亡. 姜黄素可以抑制抗凋亡因子-B淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)基因家族的表达, 促进Bcl-2相关凋亡通道蛋白(Bax)的表达<sup>[13]</sup>; 也可以直接增强半胱氨酸天冬氨酸酶(Caspase)-3, -8和-9的活性, 诱导Caspase依赖的细胞凋亡<sup>[14]</sup>; 还可以促进分子量为53的抑癌蛋白质(p53)的表达, 进而诱导p53介导的细胞凋亡<sup>[15]</sup>. 此外, 姜黄素对核因子NF- $\kappa$ B的抑制作用也被认为与凋亡有关<sup>[16]</sup>. (3) 抑制肿瘤细胞转移. 肿瘤细胞的转移机制比较复杂, 通常认为细胞间的黏附性降低及血管的生成对癌细胞的扩散和转移有重要作用. 姜黄素可以调控一些上游基因的水平, 增加黏附因子的生成(如钙黏蛋白和基质金属蛋白质MMP), 进而抑制癌细胞的转移<sup>[17]</sup>; 姜黄素还可以抑制血管内皮生长因子(VEGF)的表达, 减少肿瘤

收稿日期: 2017-06-15. 网络出版日期: 2017-12-06.

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 81373296)和厦门大学细胞应激生物学国家重点实验室开放课题(批准号: SKLCSB2017KF003)资助.

联系人简介: 张连茹, 女, 博士, 教授, 主要从事微生物小分子药物发现方面的研究. E-mail: ru898@xmu.edu.cn

血管生成<sup>[18]</sup>。(4) 抑制炎症因子产生。癌症的发生与慢性炎症的持续作用密切相关,姜黄素的抗炎作用对抑制癌症的发生有重要意义。(5) 对癌症疗法有增效作用。姜黄素具有放射增敏作用,放疗可能激活肿瘤细胞的 NF- $\kappa$ B 通路,使其产生抗性,而姜黄素会抑制 NF- $\kappa$ B,从而增强放射疗法的效用<sup>[19]</sup>。此外,姜黄素与一些化疗药物的联合使用也可以增强其作用<sup>[20]</sup>。综上所述,姜黄素因其生物活性而受到广泛关注。但是,其生物活性的细胞机制有待阐明。

酵母作为真核生物,具有完整的真核细胞结构,包括核膜包被的细胞核、内质网、线粒体等细胞器和细胞骨架<sup>[21]</sup>。酵母作为单细胞生物,培养方便,可以直接在培养基上快速大量繁殖;其基因组也较简单,基因数目较少。1996年,人类首次完成了酿酒酵母全基因组的测序<sup>[22]</sup>,发现至少有31%的编码蛋白基因或开放阅读框(ORF)与哺乳动物高度同源<sup>[23]</sup>。对酵母基因组的深入研究将有助于加深对复杂真核细胞的基因组结构和功能的了解。酵母可以进行单倍体和异源双倍体生活,有利于观察隐性基因的表型<sup>[24]</sup>。基于上述优点,酵母作为一种模式生物在多个领域的研究中得到了广泛的应用。Hartwell等<sup>[25]</sup>通过对酵母细胞的研究,发现了一系列控制细胞周期的基因并提出了控制点(Checkpoint)的概念;Fields等<sup>[26]</sup>发明了酵母双杂交系统,可用于研究蛋白质之间的相互作用。

近年来,酵母在细胞凋亡研究中日益受到重视。Madeo等<sup>[27]</sup>最早发现细胞周期调控蛋白质(CDC48)基因的突变可以导致酵母细胞呈现出类似哺乳动物细胞的典型凋亡表型:DNA断裂、核染色质皱缩、细胞膜磷脂酰丝氨酸外翻和线粒体内细胞色素c释放。后续研究<sup>[28]</sup>表明很多内源和外源因素都可以导致酵母细胞的凋亡。细胞凋亡过程具有很强的保守性。酵母中控制凋亡的酵母核心调控因子1(Yca1)与哺乳动物细胞内的Caspase具有同源结构<sup>[29]</sup>。酵母中的细胞凋亡核介导因子(Nma11p)蛋白与哺乳动物的丝氨酸蛋白酶2(HtrA2)蛋白具有同源性,HtrA2蛋白可以拮抗Caspase的抑制剂XIAP从而加速凋亡,Nma11p在酵母中的过度表达也可以促进酵母的凋亡<sup>[30]</sup>。因此,以酵母为模式生物研究细胞凋亡对哺乳动物细胞具有一定的替代性。

目前,对于姜黄素作用靶点和作用机制的研究有待进一步深化。而酵母作为一种最简单的真核模式生物,以其为材料研究小分子对细胞凋亡和细胞代谢的影响对揭示小分子的作用机制具有重要的参考价值。本文采用荧光光谱法和荧光显微镜研究了姜黄素对酵母细胞和酵母线粒体作用的量效关系和时间效应,以期后续借助酵母细胞研究姜黄素在真核细胞内的作用靶点和抗癌机理奠定基础。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

酵母菌株取自厦门大学生命科学实验教学中心保存的酿酒酵母(*S. cerevisiae*)。姜黄素购自Sigma公司;蜗牛酶购自厦门泰京生物技术有限公司。所用化学试剂均为分析纯。

M-3550型酶标仪(美国BioRad公司);5417R型超速离心机(美国Eppendorf公司);Satotius BA210型电子分析天平(瑞典Satorious公司);Milli-Q超纯水系统(美国Millipore公司);VCX-TBSonic超声破碎仪(美国Sonic&Materials公司);AX20型荧光显微镜(日本Olympus公司);96孔板(美国Corning公司)。

### 1.2 实验过程

1.2.1 酵母菌液的准备 将平板上的酵母转接至酵母浸出粉蛋白胍葡萄糖(YPD)液体培养基中,于28℃摇床上培养过夜。使用光学显微镜对酵母进行计数,并将菌液稀释至约 $3.5 \times 10^7$  cfu/mL备用。

1.2.2 试剂的准备 YPD培养基:取蛋白胍(Peptone)20g、酵母浸出物(Yeast Extract)10g和葡萄糖20g用水定容至1000mL,于115℃高压灭菌20min,备用。PBS缓冲溶液(pH=7.4,10mmol/L):将 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ (1.44g), $\text{KH}_2\text{PO}_4$ (0.24g),NaCl(8g)和KCl(0.2g)混合,用ddH<sub>2</sub>O定容至1L,调节pH=7.4,于121℃高压灭菌20min。Tris-HCl缓冲溶液(pH=7.4,100mmol/L):将三羟甲基氨基甲烷(Tris,12.1g)加超纯水至900mL,调节pH=7.4后,定容至1L,于121℃高压灭菌20min。姜黄素母液(100mmol/L):将姜黄素(368.37mg)加二甲基亚砜(DMSO)定容至10mL,分装至小管,避光保存。预处理缓冲溶液:将乙二胺四乙酸(EDTA,0.1mol)和二硫苏糖醇(DTT,20mmol)定容于1L PBS缓

冲溶液( pH=7.4, 10 mmol/L) 中. 酶解缓冲溶液: 将  $MgCl_2$  (0.25 mol) 和山梨醇(0.9 mol) 定容于 1 L 的 PBS 缓冲溶液(10 mmol/L) 中. 原生质体 Lysis buffer: 取 Tris-HCl(100 mmol), EDTA(5 mmol) 和山梨醇(0.35 mol), 定容于 1 L 的 PBS 缓冲溶液(10 mmol/L) 中. 线粒体洗涤缓冲溶液: 含有 Tris-HCl(100 mmol/L), EDTA(2 mmol/L) 和山梨醇(0.5 mol/L) 的 PBS 缓冲溶液( pH=7.4, 10 mmol/L) .

1.2.3 姜黄素对酵母生长的抑制作用 采用微量稀释法测定. 将菌液进一步稀释到  $3.5 \times 10^4$  cfu/mL, 在 96 孔板各孔中加入 100  $\mu$ L 菌液, 再加入表 1 所示的姜黄素溶液(因为终浓度梯度跨越较大, 故先将 100 mmol/L 姜黄素稀释成一定浓度梯度的各个母液); 最后用 PBS 缓冲溶液补充至总体积为 200  $\mu$ L, 于 37  $^{\circ}$ C 培养 24 h, 肉眼观察菌落的形成情况. 设置 2 组平行实验.

Table 1 Testing systems of curcumin act on the yeast cell growth\*

No.	$c(\text{Cur}) / (\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	$V(\text{Cur}) / \mu\text{L}$	$V(\text{DMSO}) / \mu\text{L}$
0	0	0	5
1	0.1	2	3
2	1	2	3
3	10	2	3
4	50	1	4
5	100	2	3

\* Cur: curcumin; total volume is 200  $\mu$ L which included 100  $\mu$ L yeast and 95  $\mu$ L PBS.

1.2.4 姜黄素对酵母细胞作用的量效关系测定 为了考察姜黄素对酵母细胞作用是否呈现量效关系, 取数个 1.5 mL 艾本德(EP) 离心管, 每管加入 300  $\mu$ L 酵母培养液( $3.5 \times 10^7$  cfu/mL), 按表 2 所示的浓度梯度加入姜黄素溶液. 于 37  $^{\circ}$ C 避光孵育 15 min, 以 13000 r/min 转速离心 5 min, 去除上层清液. 然后, 加入 400  $\mu$ L PBS 缓冲溶液重悬细胞, 以 13000 r/min 转速离心 5 min, 弃去上层清液, 重复洗涤酵母细胞 2 次. 最后, 将酵母细胞悬浮至 400  $\mu$ L PBS 缓冲溶液中. 取 200  $\mu$ L 加入 96 孔板中, 用多功能酶标仪以 425 nm 波长为激发光, 扫描 450~800 nm 波长范围内的荧光值, 设置 2 组实验取平均值.

Table 2 Interaction testing systems between curcumin and yeast cell\*

No.	$c(\text{Cur}) / (\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	$V(\text{Cur}) / \mu\text{L}$	$V(\text{DMSO}) / \mu\text{L}$	No.	$c(\text{Cur}) / (\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	$V(\text{Cur}) / \mu\text{L}$	$V(\text{DMSO}) / \mu\text{L}$
0	0	0	5	5	30	1.5	3.5
1	0.1	5	0	6	40	2	3
2	1	5	0	7	50	2.5	2.5
3	10	5	0	8	100	5	0
4	20	1	4				

\* Cur: curcumin; total volume is 300  $\mu$ L which included 100  $\mu$ L yeast and 195  $\mu$ L PBS.

分别从 0 号、3 号和 8 号试管中各取一定量细胞制片, 使用荧光显微镜, 以蓝色光为激发光进行显微观察. 以验证姜黄素抑制酵母生长的原因, 并观察荧光在细胞内的分布.

1.2.5 姜黄素对酵母细胞作用的时间效应测定 为了观察姜黄素进入酵母细胞的时间效应, 取数个 1.5 mL 管, 按照表 2 中的 7 号管的量加样. 每管加入 300  $\mu$ L 酵母培养液( $3.5 \times 10^7$  cfu/mL)、2.5  $\mu$ L 姜黄素(10 mmol/L) 和 2.5  $\mu$ L DMSO, 用 PBS 缓冲溶液补充至 500  $\mu$ L, 使姜黄素的终浓度达到 50  $\mu$ mol/L. 避光及 37  $^{\circ}$ C 下分别孵育 0, 5, 10, 15 和 20 min 后, 参照 1.2.4 节方法离心 2 次洗去多余的姜黄素, 用酶标仪测定荧光值. 设置 2 组平行实验.

1.2.6 酵母细胞线粒体的提取 酵母的细胞壁主要由葡聚糖和甘露聚糖构成, 将酵母细胞在巯基化合物中预处理后, 使用蜗牛酶可以水解酵母的细胞壁, 获得原生质体<sup>[31]</sup>. 将酵母接种在 YPD 液体培养基中, 在 28  $^{\circ}$ C 下扩大培养, 采用蜗牛酶法破除细胞壁, 超声破裂原生质体后, 差速离心提取线粒体.

原生质体的制备: 将菌液以 11000 r/min 的转速离心 5 min, 收集酵母细胞. 加入预处理缓冲溶液悬浮细胞, 室温下放置 30 min. 离心洗涤, 加入预先配制好的含有蜗牛酶的酶解缓冲溶液(酶浓度为 20 mg/mL), 于 30  $^{\circ}$ C 水浴处理 60 min 破碎细胞壁, 用光学显微镜观察细胞壁的破裂情况.

原生质体的裂解: 破壁处理后, 以 13000 r/min 转速离心去除上层清液, 加入原生质体裂解缓冲溶液(Lysis buffer), 在超声破碎仪 21% 功率下裂解原生质体.

线粒体的获取: 细胞破碎后, 以 13000 r/min 转速离心 10 min, 弃去沉淀, 重复 3 次. 以 18000 r/min 转速离心 20 min, 弃去上层清液. 将沉淀重悬于线粒体洗涤缓冲溶液中, 以 13000 r/min 转速离心 10 min 去沉淀, 以 18000 r/min 转速离心 20 min, 所得沉淀即为线粒体.

1.2.7 姜黄素与酵母线粒体的相互作用 将获得的线粒体用线粒体洗涤缓冲溶液重悬, 按照  $V(\text{线粒体}) : V(\text{洗涤缓冲溶液}) = 1 : 5$  稀释. 按照表 3 所示的量加入线粒体和一定量的姜黄素溶液 (1 mmol/L), 空白管加入等量的 DMSO 作为对照, 加入 PBS 缓冲溶液补至总体积为 225  $\mu\text{L}$ . 混合均匀后, 于避光及 37  $^{\circ}\text{C}$  条件下孵育 15 min, 用酶标仪在 425 nm 的激发光下扫描 450~800 nm 波长范围内的荧光值.

Table 3 Interaction testing systems between curcumin and mitochondria of yeast

No.	$V(\text{Mitochondria}) / \mu\text{L}$	$V(\text{Cur}) / \mu\text{L}$	$V(\text{DMSO}) / \mu\text{L}$	$V(\text{PBS}) / \mu\text{L}$
0	20	0	5	200
1	0	5	0	220
2	10	5	0	205
3	20	5	0	200
4	40	5	0	180
5	80	5	0	140

## 2 结果与讨论

### 2.1 姜黄素对酵母生长的抑制作用

经 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温培养 24 h 后, 用肉眼观察菌落的形成情况, 结果如图 1 所示. 0 号孔为空白对照, 未加姜黄素, 1~5 号孔分别对应的姜黄素浓度为 0.1, 1, 10, 50 和 100  $\mu\text{mol/L}$ . 可见, 空白对照有菌落形成, 说明 DMSO 本身对酵母的生长无抑制作用; 1~3 号孔也有菌落形成, 表明低浓度的姜黄素对酵母生长的抑制作用不明显; 4 号和 5 号孔未见明显的菌落形成, 表明酵母的生长受到了明显抑制. 上述结果表明, 姜黄素的最低抑菌浓度为 10~50  $\mu\text{mol/L}$ , 高浓度的姜黄素可以有效抑制酵母的生长.

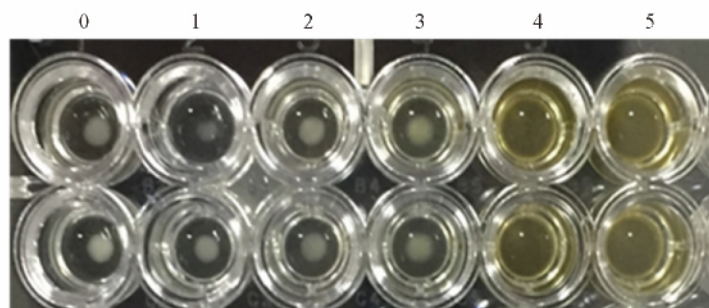


Fig.1 Inhibition of curcumin on the yeast cell growth

### 2.2 姜黄素对酵母细胞作用的量效关系

通过对比发现, 空白对照几乎无荧光, 说明酵母细胞本身在该激发波长下无可测荧光; 随着体系中姜黄素浓度升高, 荧光强度逐渐上升, 于 496 nm 处出现峰值. 为了更清楚地观察姜黄素对酵母细胞作用的量效关系, 以不同浓度下 496 nm 的荧光值为纵坐标, 姜黄素浓度为横坐标, 使用 GraphPad Prism 6 软件作散点图并拟合曲线, 得到图 2, 经计算得出姜黄素与酵母细胞的结合常数为 12.79  $\mu\text{mol/L}$ . 由图 2 可见, 姜黄素与酵母细胞相互作用的荧光强度随浓度增加先上升后趋于平稳. 在一定的浓度范围内, 姜黄素对酵母细胞的作用呈现出量效关系, 即酵母细胞数量固定时, 随着姜黄素浓度的增加, 酵母细胞的荧光值上升.

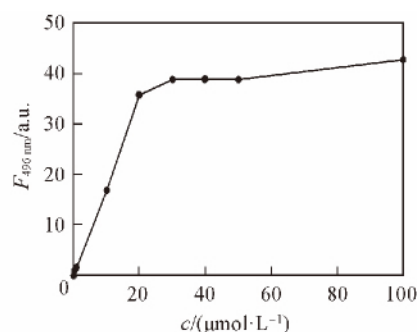


Fig.2 Fluorescence of curcumin in yeast cell

$\lambda_{\text{ex}} = 475 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}} = 496 \text{ nm}$ .

### 2.3 姜黄素对酵母细胞作用的时间效应

每管加入 300  $\mu\text{L}$  酵母培养液 ( $3.5 \times 10^7$  cfu/mL), 姜黄素的终浓度为 50  $\mu\text{mol/L}$ , 混合均匀后于 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育. 参照量效关系实验所得结果, 以 425 nm 为激发光, 在 496 nm 波长下测得荧光值和孵育时间的关系, 如图 3 所示. 由图 3 可见, 姜黄素进入酵母细胞的速度较快, 5 min 后荧光值达最大; 5~15 min 时荧光值一直保持在一个较高水平; 15 min 后荧光强度开始下降. 推测有 2 个可能的原因: 一方面, 姜黄素对酵母细胞具有一定的毒性作用, 图 1 显示 50  $\mu\text{mol/L}$  的姜黄素已经明显抑制酵母菌落的生长, 因此处理时间过长可能导致部分细胞死亡或者姜黄素被细胞排出体外, 从而导致荧光值降低; 另一方面, 姜黄素的荧光强度会随着时间延长而逐渐衰减, 导致长时间处理荧光降低. 因此, 实验过程中孵育时间不宜超过 15 min.

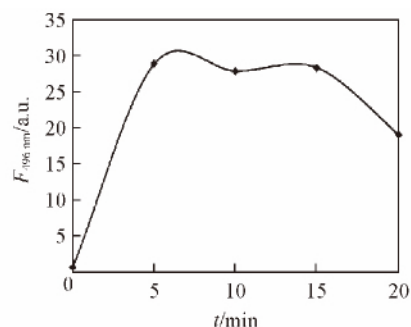


Fig.3 Fluorescence of curcumin in yeast cell changing with time

### 2.4 姜黄素对酵母细胞作用的显微观察

对酵母细胞采用荧光显微观察, 结果如图 4 所示(放大倍数为 40 倍). 由图 4 可见, 姜黄素可以进入酵母细胞中从而使酵母细胞呈现荧光. 空白对照组在蓝色荧光激发下无荧光, 经 10 和 100  $\mu\text{mol/L}$  姜黄素处理过的酵母细胞均产生绿色荧光. 对比图 4 (E) 和 (F) 可知, 姜黄素浓度越大, 荧光强度越大, 这也印证了姜黄素对酵母细胞作用的量效关系.

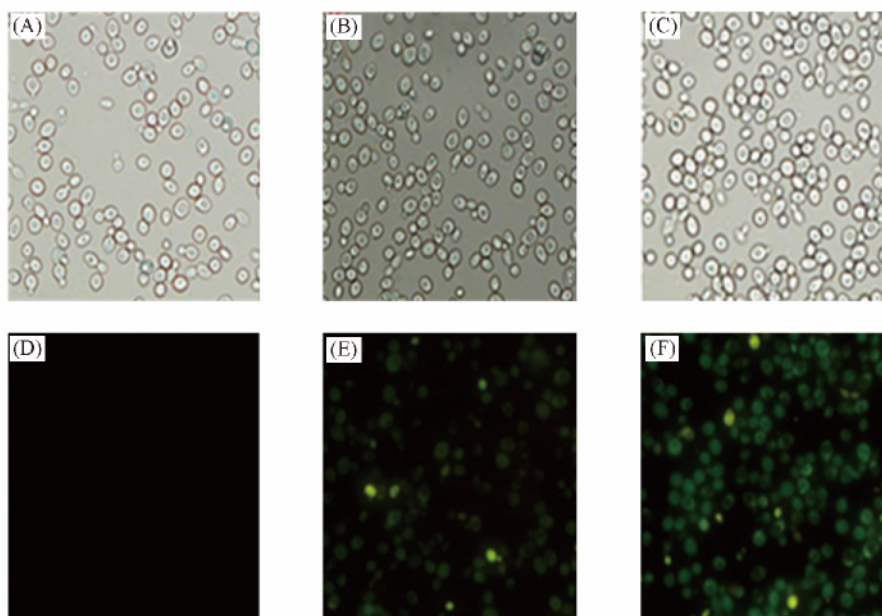


Fig.4 Fluorescent microscopy images of yeast cell at the absent or present of curcumin

Transmission light: (A) control; (B) 10  $\mu\text{mol/L}$  curcumin; (C) 100  $\mu\text{mol/L}$  curcumin;

fluorescent light: (D) control; (E) 10  $\mu\text{mol/L}$  curcumin; (F) 100  $\mu\text{mol/L}$  curcumin.

由图 4 还可见, 姜黄素主要分布在酵母细胞的细胞质中, 但不能确定是否进入酵母的线粒体中. 为此, 以相同浓度的姜黄素处理大肠杆菌细胞一段时间后, 同样洗去姜黄素, 采用荧光显微镜观察, 在视野下未见类似的酵母细胞 [图 4 (E) 和 (F)] 中的荧光出现. 大肠杆菌无线粒体, 所以进入细胞中的姜黄素无法与线粒体结合, 因而经洗涤后不存在于大肠杆菌的细胞中.

### 2.5 姜黄素与酵母线粒体的相互作用

线粒体本身几乎无荧光, 随着线粒体浓度的增加, 荧光值逐渐上升, 荧光峰逐渐左移, 推测这可

能与结合导致的姜黄素荧光位点结构发生变化有关。

为了更直观地分析,以线粒体与姜黄素同时存在时的荧光峰值为纵坐标,体系中线粒体的量作为横坐标,作散点图(图5)。由图5可见,在姜黄素浓度一定的情况下,荧光值的强度与加入线粒体的量之间呈现明显的正相关。推测这是由于姜黄素的浓度过量,与加入的线粒体结合,并黏附在线粒体膜或腔内的一些大分子上,致使荧光区域面积扩大,荧光值增加。随着线粒体浓度升高,姜黄素展开更充分,荧光值逐渐增大。

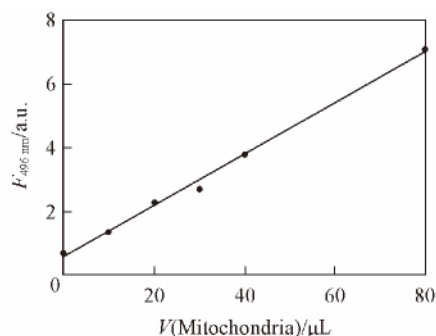


Fig.5 Relationship between fluorescence and the amount of mitochondria

### 3 结 论

采用荧光光谱法和荧光显微镜研究了姜黄素对酵母细胞和酵母线粒体的作用,结果表明,姜黄素对酵母的生长具有抑制作用。微量稀释法结果表明,浓度为 50 μmol/L 的姜黄素可以有效阻止酵母菌落的形成。姜黄素对酵母细胞的作用呈量效关系。酵母细胞数量固定时,随着姜黄素浓度的增加,酵母细胞的荧光值上升。姜黄素进入酵母细胞的速度较快。于 37 °C 下孵育 5 min,荧光值即可达到最大,孵育时间不宜超过 15 min。姜黄素可以与酵母细胞线粒体结合,而且随着线粒体浓度的增加荧光值上升,呈现线性正相关关系。

### 参 考 文 献

- [1] Stanic Z., *Plant Food. Hum. Nutr.*, **2017**, 72(1), 1—12
- [2] Yang Z. C., Li F., Huang Q. R., Zhang G., Shi T. F., *Chem. J. Chinese Universities*, **2016**, 37(2), 381—397(杨泽川,李帆,黄庆荣,张国,石彤非. 高等学校化学学报, **2016**, 37(2), 381—397)
- [3] Li Q., Yang Y., Li X., Chen M. F., Zheng S. S., *Chinese J. Health Laboratory Technology*, **2011**, 21(7), 1707—1709(李庆,杨颖,李欣,陈美芬,郑穗生. 中国卫生检验杂志, **2011**, 21(7), 1707—1709)
- [4] Surh Y. J., Chun K. S., Cha H. H., Han S. S., Keum Y. S., Park K. K., Lee S. S., *Mutat. Res.*, **2001**, 480/481(9), 243—268
- [5] Jurenka J., *Altern. Med. Rev.*, **2009**, 14(2), 141—153
- [6] Wang C. Y., Lu Z. W., Yang W., Zeng S. G., Wang R. W., *Chem. Res. Chinese Universities*, **2014**, 30(3), 352—355
- [7] Zhang M. X., Shi G. X., Yan Y. Y., Lu K. Q., Shao J., Wang T. M., Wang C. Z., *Chin. Tradit. Herbal. Drugs*, **2015**, 46(4), 549—553(张梦翔,施高翔,严园园,陆克乔,邵菁,汪天明,汪长中. 中草药, **2015**, 46(4), 549—553)
- [8] Yang J., Li J. X., *China Foreign Medical Treatment*, **2012**, 15(5), 99—101(杨建,厉吉霞. 中外医疗, **2012**, 15(5), 99—101)
- [9] Chen J. W., Xu L., Sun S. Y., Zhang H. F., Ma T. H., Su W. H., Jiang C. L., *Chem. Res. Chinese Universities*, **2014**, 30(6), 953—958
- [10] Diehl J. A., *Cancer Biol. Ther.*, **2002**, 1(3), 226—231
- [11] Jaiswal A. S., Marlow B. P., Gupta N., Narayan S., *Oncogene*, **2002**, 21(55), 8414—8427
- [12] Aggarwal S., Takada Y., Singh S., Myers J. N., Aggarwal B. B., *Int. J. Cancer*, **2004**, 111(5), 679—692
- [13] Jin Z., Cai Y., Zhang Y., Qu X. J., Xu L., Hou K. Z., *J. Mod. Oncology*, **2015**, 23(12), 1629—1631(金子,蔡颖,张晔,曲秀娟,徐玲,侯科佐. 现代肿瘤医学, **2015**, 23(12), 1629—1631)
- [14] Wang J. X., Zeng W. W., Huang Z., Fang X. M., Qian J. C., Zhou H. X., Li Y., Zhu X. B., *J. China Pediatric Blood and Cancer*, **2015**, 20(2), 83—85(王菊香,曾炜炜,黄珍,方希敏,钱江潮,周海霞,李原,朱新波. 中国小儿血液与肿瘤杂志, **2015**, 20(2), 83—85)
- [15] Lontas A., Yeger H., *Anticancer Res.*, **2004**, 24(2), 987—998
- [16] Shishodia S., Chaturvedi M. M., Aggarwal B. B., *Current Problems in Cancer*, **2007**, 31(4), 243—305
- [17] Shen F., Cai W. S., Li J. L., Feng Z., Liu Q. C., Xiao H. Q., Cao J., Xu B., *Onco. Targets Ther.*, **2014**, 7(2), 305—314
- [18] Lin X. J., Xie P., Yuan D. Q., Liu Q. H., *Progress in Modern Biomedicine*, **2014**, 14(1), 52—56(林小俊,谢平,袁冬青,刘庆淮. 现代生物医学进展, **2014**, 14(1), 52—56)
- [19] Qiao Q., Jiang Y. J., Li G., *J. Phar. Sci.*, **2013**, 121(4), 247—256

- [20] Wang Y. Z. , Zhang N. , *J. Baoji University of Arts & Sciences( Natural Science)* , **2015** , 35( 1) , 41—47( 王奕智, 张宁. 宝鸡文理学院学报( 自然科学版) , **2015** , 35( 1) , 41—47)
- [21] Wang K. , *Life Science Research* , **2010** , 14( 2) , 156—165( 王凯. 生命科学研究 , **2010** , 14( 2) , 156—165)
- [22] Meaes H. W. , Albermann K. , Bahr M. , Frishman D. , Gleissner A. , Hani J. , Heumann K. , Kleine K. , Maierl A. , Oliver S. G. , Pfeiffer F. , Zollner A. , *Nature* , **1997** , 29( 387) , 7—65
- [23] Botstein D. , Chervitz S. A. , Cherry J. M. , *Science* , **1997** , 277( 5330) , 1259—1260
- [24] Liu Q. , Yu L. , *Chem. Life* , **2000** , 20( 2) , 61—65( 刘擎, 余龙. 生命的化学 , **2000** , 20( 2) , 61—65)
- [25] Hartwell L. H. , Mortimer R. K. , Culotti J. , Culotti M. , *Genetics* , **1973** , 74( 2) , 267—286
- [26] Fields S. , Song O. , *Nature* , **1989** , 340( 6230) , 245—246
- [27] Madeo F. , Fröhlich E. , Fröhlich K. U. , *J. Cell Biol.* , **1997** , 139( 3) , 729—734
- [28] Fröhlich K. U. , Fussi H. , Ruckstuhl C. , *Semin. Cancer Biol.* , **2007** , 17( 2) , 112—121
- [29] Madeo F. , Herker E. , Maldener C. , Wissing S. , Lächelt S. , Herlan M. , Fehr M. , Lauber K. , Sigrist S. J. , Wesselborg S. , Fröhlich K. U. , *Mol. Cell* , **2002** , 9( 4) , 911—917
- [30] Fahrenkrog B. , Sauder U. , Aebi U. , *J. Cell Sci.* , **2004** , 117( 1) , 115—126
- [31] Jin J. L. , Gao D. , Sun Z. D. , *Genetics* , **1996** , 18( 2) , 46—48( 金建玲, 高东, 孙忠东. 遗传 , **1996** , 18( 2) , 46—48)

## Effect of Curcumin on Yeast Cells by Fluorescence Analysis<sup>†</sup>

CHEN Jingxin<sup>1</sup> , LIAN Wenhua<sup>1</sup> , CHENG Yuanchu<sup>1</sup> , XU Jianhua<sup>2</sup> , ZHANG Lianru<sup>1\*</sup>

( 1. State Key Laboratory of Cellular Stress Biology , School of Life Sciences , Xiamen University , Xiamen 361102 , China;

2. Department of Pharmacology , School of Pharmacy , Medical University of Fujian , Fuzhou 350122 , China)

**Abstract** The simplest eukaryotic *Saccharomyces cerevisiae* was studied as the material , with the help of fluorescence properties of curcumin , using fluorescence spectroscopy and fluorescence microscopy to observe the localization of curcumin in yeast cells and its impact on yeast growth. The results show that curcumin can enter the yeast cells bind to yeast mitochondrion and inhibit the growth of yeast with a dose and time depend manner. This study provides a basis for further study of how curcumin can influence the cell metabolism by its combination to mitochondria and its relationship with cell apoptosis.

**Keywords** Curcumin; *Saccharomyces cerevisiae*; Mitochondria; Fluorescence spectroscopy

( Ed.: P , H , Y , K)

<sup>†</sup> Supported by the National Natural Science Foundation of China( No. 81373296) and the Open Research Fund of State Key Laboratory of Cellular Stress Biology , Xiamen University , China( No. SKLCSB2017KF003) .