

# Elp3 基因缺失对酿酒酵母咖啡因耐受性的影响

胡孟可, 吴秀丽, 李芬

(河南师范大学 生命科学学院, 河南 新乡 453007)

**摘要:**过量咖啡因(Caffeine, CAF)对真核细胞有毒害作用。Elp3 是组蛋白乙酰转移酶 Elongator 复合物的催化亚基,其缺失会影响 Elongator 的功能,进而使酵母产生对 CAF 敏感表型。为研究酿酒酵母 CAF 耐受性,以不同浓度 CAF 处理野生型、*elp3*  $\Delta$ 及转入完整和部分缺失 Elp3 的 *elp3*  $\Delta$ 菌株,检测其敏感性,并通过 RT-qPCR 和 ChIP 实验研究了热胁迫下 SSA3 的表达。结果发现常温下各菌株生长均随 CAF 浓度的增加而减缓,且 *elp3*  $\Delta$ 细胞 CAF 耐受性下降更显著;高温处理使 *elp3*  $\Delta$ 菌株对 CAF 更加敏感;在 *elp3*  $\Delta$ 菌株中转入两保守功能域缺失的 Elp3,其咖啡因耐受性并无明显变化;无论热激与否,*elp3*  $\Delta$ 菌株 SSA3 表达均显著低于野生型对照,Elp3 直接参与热胁迫下 SSA3 的转录延伸。研究表明 Elp3 基因缺失和高温处理均可使酿酒酵母的 CAF 耐受性降低;Elp3 两保守功能域为其参与 CAF 胁迫反应所必需;高温协同处理下 *elp3*  $\Delta$ 菌株 CAF 耐受性的显著降低可能与此条件下 SSA3 等应激基因表达受阻有关。

**关键词:**咖啡因耐受性;酿酒酵母;Elp3;SSA3;保守结构域

**中图分类号:**Q291

**文献标志码:**A

咖啡因(CAF)是人们日常饮品中普遍存在的一种天然物质,北美地区,成年人平均每人每天摄入 CAF 约 250 mg<sup>[1]</sup>。CAF 不仅可使中枢神经系统处于兴奋状态、减少疲乏感、提高警觉性、维持持久的工作能力,同时能增强人的识别能力,缩短选择与快速反应时间<sup>[1-2]</sup>。但当 CAF 达到一定剂量就会对真核细胞产生毒害作用,人体 CAF 的高含量摄入可引起烦躁,焦虑,失眠,易怒等<sup>[2]</sup>。六亚基组成的酵母 Elongator 是高度磷酸化 RNA polymerase II 全酶的重要组成部分<sup>[3]</sup>,于 1999 年被首次分离<sup>[4]</sup>,其 GNAT 家族 HAT 催化亚基 Elp3 缺失或使 Elp3 活性减弱的点突变,均可导致菌株对转录延伸抑制物霉酚酸、6-氮尿嘧啶、高温、CAF 和高盐等敏感<sup>[5-7]</sup>。因此对 CAF 敏感的 *elp3*  $\Delta$ 菌株可作为研究酿酒酵母咖啡因耐受性及其影响因素的理想材料。目前国内外 Elp3 相关文献很多,但关于 Elp3 与细胞 CAF 耐受性之间的关系的研究并不深入。本研究通过 RT-qPCR 及染色质免疫沉淀实验研究酿酒酵母的 CAF 耐受性,探讨不同温度条件下 Elp3 影响酿酒酵母的 CAF 耐受性的机制,为 Elp3 在其他物种中的生物学调控提供科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 菌株和质粒

野生型酿酒酵母 W303-1a(WT):*MATa ade2-1 ura3-1 his3-11,15,leu2-3,112 trp1-1 can1-100* 和 JSY130(*elp3*  $\Delta$ ):*MATa ade2-1 ura3-1 his3-11,15,leu2-3,112 trp1-1 can1-100 elp3D*。:*LEU2* 由本实验室保存。含 yElp3 全长、N 端第二结构域缺失的 yElp3 及 C 端 HAT 结构域缺失的 yElp3 质粒 pRS316yElp3, pRS316yElp3C+N 和 pRS316yElp3HAT 均为本室保存。

收稿日期:2020-10-18;修回日期:2020-12-10。

基金项目:国家自然科学基金(30600343);河南省高校科技创新团队支持计划(13IRTSTHN009)。

作者简介:胡孟可(1996-),女,河南许昌人,河南师范大学硕士研究生,研究方向为分子细胞生物学,E-mail:2832302747@qq.com。

通信作者:李芬,河南师范大学教授,研究方向为分子细胞生物学,E-mail:lifen2001@yahoo.com。

## 1.2 *elp3* $\Delta$ 菌株敏感性表型检测

参考文献[8]的方法,挑取 *elp3*  $\Delta$ 和野生型单菌落接种于适量 YPD 液体培养基中,30 °C、200 r/min 培养过夜,计数并依 10 000,2 000,400,80,16 个细胞分别接种于含 0,2.5,5.0,7.5 mmol/L CAF 的 YPD 平板上,本别在 30 °C 和 39 °C 培养,3 d 后拍照.

## 1.3 生长曲线的绘制

参考文献[8]的方法,挑取 *elp3*  $\Delta$ 和野生型单菌落接种于适量 YPD 液体培养基中,30 °C、200 r/min 过夜后计数并调整各样品至同一浓度,分别接种于含 0,2.5,5.0 mmol/L 咖啡因的 YPD 培养基置于 30 °C 或 39 °C 培养在 0,6,12,24,48 及 72 h(30 °C)或 0,2,4,6,8 h(39 °C)时取材,测定 OD 值或进行活菌计数,绘制生长曲线.

## 1.4 SSA3 的诱导表达、RNA 的提取、RT-PCR 与定量 PCR

SSA3 诱导参考文献[9]的方法,RNA 提取采用热酸性酚法<sup>[10-13]</sup>.RT-PCR 和定量 PCR 参考文献[7]的方法进行,引物序列见表 1.

## 1.5 染色质免疫沉淀

热激条件及染色质免疫沉淀参考文献[7,9]方法,即将 *elp3*  $\Delta$ 和野生型单菌落接种于适量 YPD 培养基中,26 °C,200 r/min 培养至  $A_{600}=1.0$ ,取适量对照,其余于 37 °C 热激 10 min 后取样,37 °C,体积分数为 1% 甲醛交联 10 min,然后用裂解液(1 mmol/L EDTA,140 mmol/L NaCl,50 mmol/L HEPES-KOH,pH 7.5,质量浓度 0.1% Nadeoxycholate,质量分数 1% Triton X-100)裂解.抗体用抗酵母 Elp3 N 端的多克隆抗体,免疫沉淀 DNA(ChIP DNA)和总 DNA(Input DNA)用 PCR 进行分析.引物序列见表 1.

表 1 本实验所用的引物序列

Tab.1 Primer sequences used in this experiment

名称	引物序列(5'→3')
SSA3 RT	5'-ATGAAAGGGAGGCAGAA-3' /5'-CCGTAGCACCCGAGTTG-3'
ACT1 RT	5'-AGCCGTTTTGTCCTTGTT-3'/5'-GCGGTGATTTCTTTTGC-3'
SSA3 ORF	5'-CGTATTATCAATGAACCCACTG/-3'/5'-GTCTCCTGCGGTAGCCTTA-3'
SSA3 3'-UTR	5'-TGCTACGGGAGGTGGAG-3'/5'-CGTGCTGCGGAAACAA-3'

## 1.6 *elp3* $\Delta$ 菌株的高效转化及转化株的敏感性检测

酵母转化采用乙酸锂转化法<sup>[7,9]</sup>,转化子接种于 SD/-Ura 培养基筛选转化子.除了培养基用 SD/-Ura 外,各转化株的 CAF 敏感性检测方法同 1.2.

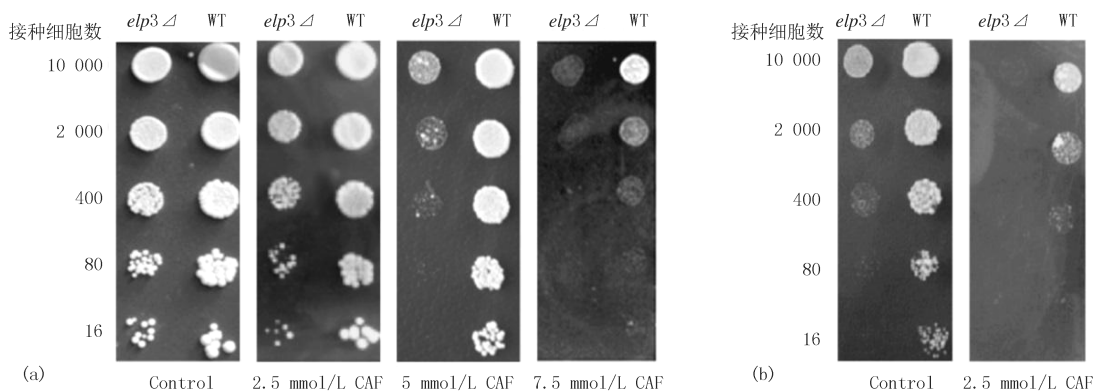
# 2 实验结果

## 2.1 咖啡因和高温胁迫下 *elp3* $\Delta$ 菌株的生长情况

为研究酿酒酵母的 CAF 耐受性,以对 CAF 敏感的 *elp3*  $\Delta$ 菌株和野生型(WT)为材料,检测不同 CAF 浓度下两菌株的生长情况(图 1).由图 1(a)可以看出,常温条件下,两种菌株生长均随 CAF 浓度增加而减缓.但各浓度 CAF 存在时 *elp3*  $\Delta$ 细胞生长减缓比野生型更显著,因为 7.5 mmol/L CAF 存在时野生型尚可生长,但 *elp3*  $\Delta$ 细胞已无法存活.由图 1(b)可知,高温协同处理酿酒酵母 CAF 敏感性显著增加,两菌株在 2.5 mmol/L CAF 存在时生长均显著慢于常温条件图 1(a, b),但高温对 *elp3*  $\Delta$ 细胞影响尤为显著,2.5 mmol/L CAF 是 *elp3*  $\Delta$ 细胞致死的极限浓度.表明 Elp3 缺失和高温协同刺激均可降低酿酒酵母的 CAF 耐受性,高温处理使 *elp3*  $\Delta$ 菌株对 CAF 的耐受浓度由常温时的 7.5 mmol/L 降低为 2.5 mmol/L.

## 2.2 咖啡因和高温胁迫 *elp3* $\Delta$ 菌株的生长曲线

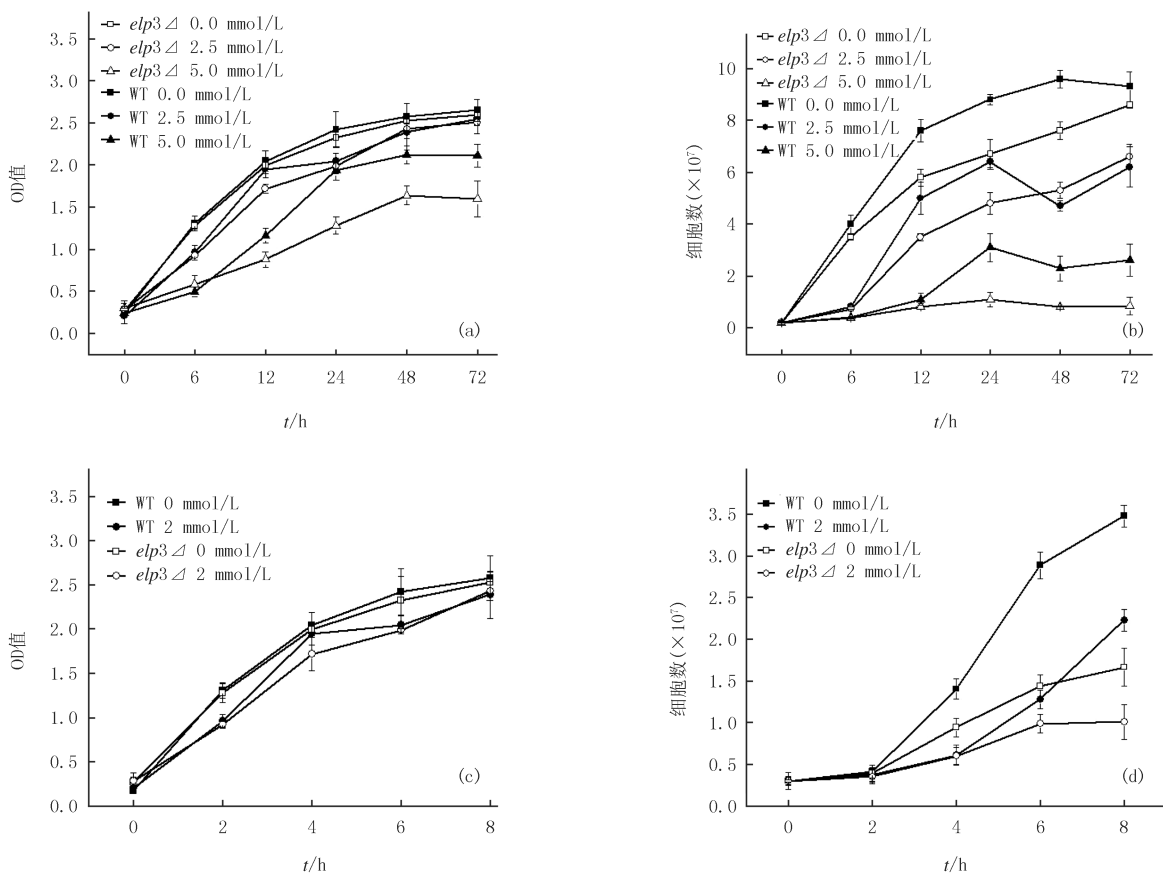
为进一步确认两菌株的上述 CAF 敏感性检测结果,绘制了野生型和 *elp3*  $\Delta$ 菌株于常温和高温条件下 CAF 处理的生长曲线(图 2).由图 2 可知,同图 1 的 CAF 敏感性检测结果类似,从 OD 值与活菌计数绘制生长曲线均可见两菌株生长随 CAF 浓度增加而减慢,*elp3*  $\Delta$ 细胞在正常及各浓度 CAF 存在时生长均不如野生型;高温条件下 *elp3*  $\Delta$ 细胞对 CAF 敏感性增加尤为显著.



30 °C (a)和39 °C (b)条件下,野生型(WT)与E1p3缺失(*elp3*Δ)菌株在含图示CAF浓度的YPD平板接种3 d的生长情况。

图1 常温和高热胁迫下两菌株的CAF敏感性检测

Fig.1 CAF sensitivity detection of the two strains under normal temperature and high temperature stress



30 °C (a, b)和39 °C (c, d)条件下,野生型(WT)和E1p3缺失菌株(*elp3*Δ)按图示等细胞密度分别接种于含图示CAF浓度的YPD培养基,培养至各时间点的OD值及活菌计数生长曲线。

图2 咖啡因(CAF)和高温胁迫下*elp3*Δ菌株的生长曲线

Fig.2 Growth curves of wild and *elp3*Δ strains under caffeine (CAF) and heat stress

### 2.3 两菌株热胁迫下 SSA3 表达的检测

因高温协同处理 *elp3* Δ菌株的 CAF 敏感性远高于野生型,推测原因可能因 Elp3 缺失影响了热激蛋白等应激基因的表达.因此以野生型为对照,对两菌株的 SSA3 表达进行了 RT-PCR 图 3(a)和 qRT-PCR 检测图 3(b).由图 3 可知,同野生型相比,热激前后 *elp3* Δ菌株的 SSA3 mRNA 水平均显著低于野生型对照

( $P < 0.01$ ).表明 *Elp3* 缺失可显著降低酿酒酵母热激蛋白的表达.

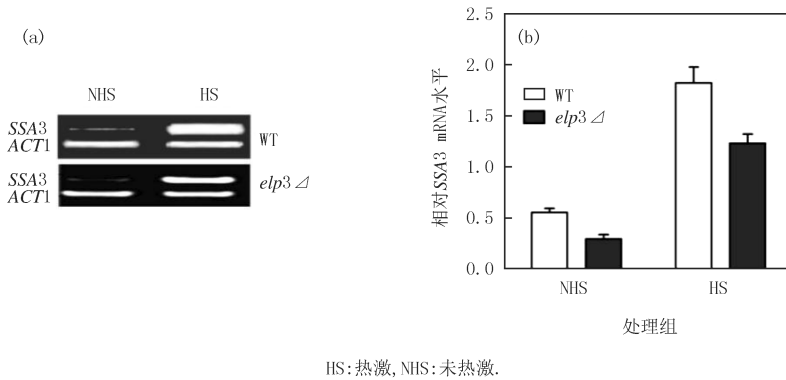
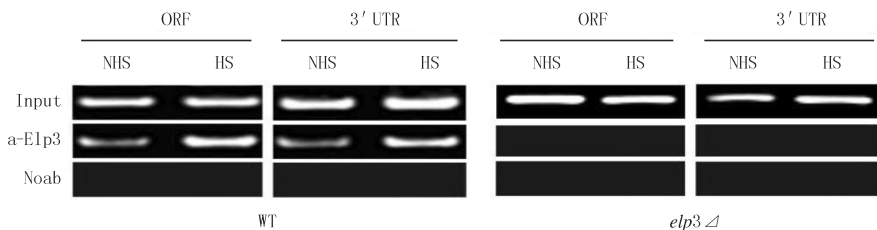


图3 高温胁迫下两菌株SSA3的表达

Fig.3 Expression of SSA3 in two strains under high temperature stress

## 2.4 *Elp3* 促进 *SSA3* 的转录延伸

因 *elp3* Δ 菌株 *SSA3* 基因表达显著抑制,表明 *Elp3* 与其表达相关.为研究 *Elp3* 是否参与酵母细胞 *SSA3* 的表达,以抗 *Elp3* N 端抗体进行染色质免疫沉淀,沉淀 DNA 用 *SSA3* ORF 或 3'-UTR 特异引物进行 PCR,以测定 *Elp3* 在 *SSA3* 编码区结合情况(图 4).由图 4 可知,未热激时 *Elp3* 在 *SSA3* 的 ORF 和 3'-UTR 均出现,但量较少.热激后,各区域中 *Elp3* 均增加,尤其是 ORF 区,表明热激后 *Elp3* 可以被快速招募到 *SSA3* 编码区,参与转录延伸.这表明酵母 *Elp3* 可直接促进酵母 *SSA3* 基因的转录延伸.因此热激协同处理导致 *elp3* Δ 菌株对 CAF 的敏感性的显著增加可能与该条件下 *SSA3* 等应激基因表达受阻所致.



ORF: 编码区; 3'-UTR: 3' 端编码区; Input: 总DNA; a-Elp3: 抗Elp3N端抗体沉淀DNA; HS: 热激; NHS: 未热激; Noab: 未加抗体的对照.

图4 *Elp3*在*SSA3*编码区结合情况

Fig.4 Combination of ELP3 in SSA3 coding region

## 2.5 转入不同 *Elp3* 对 *elp3* Δ 菌株 CAF 耐受性的影响

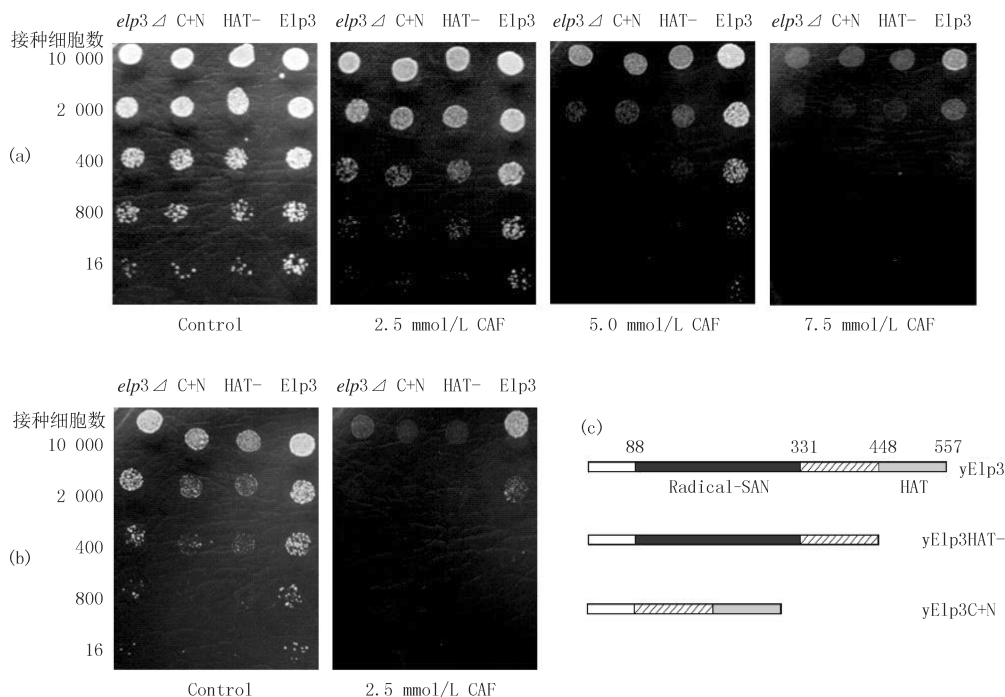
*Elp3* 有两个保守的功能域即 C 端的 HAT 结构域<sup>[8,10]</sup> 和 N 端的 SAM 激酶样结构域<sup>[14-17]</sup>,为进一步确认这两个功能域对酿酒酵母咖啡因耐受性影响的大小,将酵母全长及两结构域缺失的 *Elp3* 图 5(c) 分别转化入 *elp3* Δ 菌株,并对其进行了 CAF 敏感性检测,结果如图 5(a,b).由图 5(a,b) 可知无论在常温还是高温条件下,转入两保守结构域缺失的 *Elp3* 对 *elp3* Δ 菌株 CAF 耐受性均无补偿作用,因为在供试条件下,两转化株生长均接近 *elp3* Δ 细胞,而远不如转入全长 *Elp3* 的转化株.表明两保守结构域均为 *Elp3* 参与酿酒酵母抗 CAF 胁迫反应所必需.

## 3 讨论

同野生型相比,*elp3* Δ 菌株 CAF 耐受性较差,因其生长随 CAF 增加而减慢的速度更为显著.常温下,*elp3* Δ 细胞在 7.5 mmol/L CAF 存在即不能生存,故认为该浓度是 *elp3* Δ 菌株对 CAF 耐受的极限浓度.高温协同处理使酿酒酵母对 CAF 的耐受性降低,*elp3* Δ 菌株对 CAF 耐受的极限浓度由 7.5 mmol/L 降低为 2.5 mmol/L.表明 *Elp3* 缺失和高温协同处理均可降低酿酒酵母的 CAF 耐受性.CALVO 等<sup>[2]</sup> 从 2 700 株单



倍体突变菌株中筛选到 98 个对咖啡因敏感的菌株,这些突变基因参与包括  $H_2O_2$  诱导 PAP1 和 Sty1 的压力途径、完整性和钙调磷酸酶通路、细胞形态和染色质重塑等在内的多种细胞功能<sup>[4]</sup>.而 Elp3 作为组蛋白乙酰转移酶复合物 Elongator 的催化亚基<sup>[10]</sup>,参与极性运输<sup>[11]</sup>,tRNA 修饰<sup>[12]</sup>,并通过对组蛋白 H3 和 H4 特定位点的乙酰化修饰促进一些应激基因的转录延伸<sup>[13-14]</sup>;因而 Elp3 缺失菌株 CAF 耐受性的降低可能与 Elp3 上述功能缺失有关.



30 °C (a) 和 39 °C (b) 条件下,转入酵母 EIp3 (EIp3)、C 端 HAT 区缺失 EIp3 (HAT<sup>-</sup>)、N 端第二保守结构域缺失 EIp3 (C+N) 及转入空载的各 *elp3*  $\Delta$  转化株在含图示 CAF 浓度的 SD-Ura 平板接种 3 d 的生长情况. (c) EIp3 的主要功能域及两保守结构域缺失酵母 EIp3 示意图.

图 5 常温和高温下转入不同 EIp3 的各转化株的生长情况

Fig. 5 Growth of ELP3 strains and transferred yeast strains with full length and partial deletion of ELP3 under normal temperature and high temperature conditions

由于 *elp3*  $\Delta$  菌株对高温敏感,故而检测了高温下两菌株的 CAF 耐受性,结果发现高温协同处理两菌株对 CAF 耐受性均降低,但对 *elp3*  $\Delta$  菌株的影响更为显著.推测可能是 Elp3 缺失影响了热激蛋白基因的表达.因为高温等逆境胁迫时细胞中热激蛋白(heat shock protein, HSP)均会急剧增加<sup>[15-17]</sup>.据分子量不同热激蛋白分多个家族,其中最受瞩目的是 HSP70 家族.逆境胁迫时细胞需要表达大量蛋白以适应逆境条件下的生存,而属于伴侣类型的 HSP70 家族可参与细胞内多种蛋白质合成后加工和构象改变,并能帮助逆境下一些变性蛋白恢复正确构象<sup>[18-21]</sup>,因此 HSP70 家族在生物体抗逆代谢反应中发挥关键作用,它们在逆境条件下的快速表达可使细胞免受高温等逆境危害.CAF 处理和高温胁迫对酿酒酵母来说都属于逆境胁迫,其 HSP70(SSA3)表达对酵母适应逆境胁迫至关重要,因此运用定量 PCR 检测了两菌株 HSP70(SSA3)表达,结果表明热激胁迫下 *elp3*  $\Delta$  菌株 SSA3 表达显著低于野生型.染色质免疫沉淀结果又提供了 Elp3 直接参与 SSA3 的转录延伸的证据,这些结果提示高温胁迫时 *elp3*  $\Delta$  菌株的 CAF 耐受性降低极有可能是胁迫条件下 SSA3 等应激基因表达受阻,进而影响逆境胁迫下必需的功能蛋白构象所致.El3 有两个保守的功能域,即 N 端的 SAM 激酶样结构域<sup>[14-17]</sup>及 C 端的 HAT 结构域<sup>[8,10]</sup>,为进一步了解这两个保守结构域在酵母抗 CAF 胁迫反应中的功能地位,将全长及两结构域分别缺失的 Elp3 转入 *elp3*  $\Delta$  菌株并进行了常温及高温时的 CAF 敏感性实验,结果表明,转入全长 Elp3 的转化株接近野生型,但转入两结构域缺失 Elp3 的转化株生长接近 *elp3*  $\Delta$  菌株,表明 Elp3 的两保守结构域为 Elp3 参与酿酒酵母抗 CAF 胁迫反应所必需.

由以上分析可知,Elp3 基因对酿酒酵母的 CAF 耐受性有重要影响,Elp3 基因缺失和高温协同处理均可使酿酒酵母的 CAF 耐受性降低,Elp3 两关键结构域为抗 CAF 逆境胁迫所必需.高温条件下 *elp3*  $\Delta$  菌株 CAF 耐受性的降低可能是因缺失 Elp3 导致胁迫条件下 SSA3 应激基因表达受阻,进而影响细胞在该条件下生存所必需的蛋白构象所导致.该结果对深入了解 CAF 与哺乳动物细胞的相互作用有重要的参考价值.

## 参 考 文 献

- [1] 易超然,卫中庆.咖啡因的药理作用和应用[J].医学研究生学报,2005,18(3):270-272.  
YI C R,WEI Z Q.Pharmacological effects and application of caffeine[J].Journal of Medical Postgraduates,2005,18(3):270-272.
- [2] CALVO I A,GABRIELLI N,IGLESIAS-BAENA I, et al.Genome-wide screen of genes required for caffeine tolerance in fission yeast[J].Plos One,2009,4(8):e6619.
- [3] LI M T,LIANG J Y,SUN Y P, et al.ELP3 Acetyltransferase is phosphorylated and regulated by the oncogenic anaplastic lymphoma kinase(ALK)[J].Biochemical Journal,2019,476(15):2239-2254.
- [4] OTERO G,FELLOWS J,LI Y, et al.Elongator a multisubunit component of a novel RNA polymerase holoenzyme for transcriptional elongation[J].Molecular Cell,1999,3(1):109-118.
- [5] WITTSCHIEBEN B O,FELLOWS J,DU W, et al.Overlapping roles for the histone acetyltransferase activities of SAGA and Elongator in vivo[J].EMBO J,2000,19(12):3060-3068.
- [6] WITTSCHIEBEN B O,OTERO G,dE BIZEMONT T, et al.A novel histone acetyltransferase is an integral subunit of elongating RNA polymerase II holoenzyme[J].Molecular Cell,1999,4(1):123-128.
- [7] LI F,LU J,HAN Q J, et al.The Elp3 subunit of human Elongator complex is functionally similar to its counterpart in yeast[J].Mol Genet Genomics,2005,273(3):264-272.
- [8] 李芬,孔艳,张帅,等.组蛋白不同乙酰化位点突变对酵母细胞生长和 SSA3、GAL1 基因表达的影响[J].中国生物化学与分子生物学报,2010,26(9):822-827.  
LI F,KONG Y,ZHANG S, et al.Effects of different mutations in histone acetylation site on SSA3 and gal1 transcription and growth of yeast cells[J].Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology,2010,26(9):822-827.
- [9] LI F,MA J X,MA Y, et al.hElp3 directly modulates the expression of HSP70 gene in HeLa cells via HAT activity[J].Plos One,2011,6(12):e29303.
- [10] RAHL P B,CHEN C Z,COLLINS R N.Elplp, the yeast homolog of the FD disease syndrome protein, negatively regulates exocytosis independently of transcriptional elongation[J].Mol Cell,2005,17(6):841-853.
- [11] CHINENOV Y.A second catalytic domain in the ELP3 histone acetyltransferases: a candidate for histone demethylase activity[J].Trends Biochem Sci,2002,27(3):115-117.
- [12] PARASKEVOPOULOU C,FAIRHURST S A,LOWE D J, et al.The Elongator subunit Elp3 contains a Fe4S4 cluster and binds S-adenosylmethionine[J].Molecular Microbiology,2006,59(3):795-806.
- [13] GREENWOOD C,SELTH L A,DIRAC-SVEJSTRUP A B, et al.An iron-sulfur cluster domain in Elp3 important for the structural integrity of elongator[J].J Biol Chem,2009,284(1):141-149.
- [14] ROJAS-BENITEZ D,ALLENDE M L.Elongator Subunit 3(Elp3)Is Required for Zebrafish Trunk Development[J].Int J Mol Sci,2020,21(3):925.
- [15] LIN T Y,ABBASSI N E H,ZAKRZEWSKI K, et al.The Elongator subunit Elp3 is a non-canonical tRNA acetyltransferase[J].Nat Commun,2019,10(1):625.
- [16] 李芬,田树娟,张帅,等.酵母组蛋白乙酰转移酶 Elp3 多克隆抗体的制备、鉴定及应用[J].生物工程学报,2009,25(8):1261-1266.  
LI F,TIAN S J,ZHANG S, et al.Identification and application of yeast histone acetyltransferases Elp3 polyclonal antibody[J].Chinese Journal of Biotechnology,2009,25(8):1261-1266.
- [17] HUATAG B,JOHANSSON M J O,BYSTRÖ M A S.An early step in wobble uridine tRNA modification requires the Elongator complex[J].RNA,2005,11(4):424-436.
- [18] SELVADURAI K,WANG P,SEIMETZ J, et al.Archaeal Elp3 catalyzes tRNA wobble uridine modification at C5 via a radical mechanism[J].Nat Chem Biol,2014,10(10):810-812.
- [19] KLASSEN R,GRUNEWALD P,THÜRING K L, et al.Loss of anticodon wobble uridine modifications affects tRNA lys function and protein levels in *saccharomyces cerevisiae*[J].Plos One,2015,10(3):e0119261.
- [20] WINKLER G S,KRISTJUHAN A,ERDJUMENT-BROMAGE H, et al.Elongator is a histone H3 and H4 acetyltransferase important for normal histone acetylation levels in vivo[J].PNAS,2002,99(6):3517-3522.
- [21] HAN Q J,LU J,DUAN J Z, et al.Gcn5-and Elp3-induced histone H3 acetylation regulates hsp70 gene transcription in yeast[J].Biochem

J. 2008, 409(3): 779-788.

## Effects of deletion of Elp3 gene on caffeine tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*

Hu Mengke, Wu Xiuli, Li Fen

(College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

**Abstract:** An excess of caffeine is cytotoxic to all eukaryotic cell types. Elp3 is the catalytic subunit of histone acetyltransferase Elongator complex, its absence or dysfunction may affect the function of the Elongator and result in the sensitive phenotype of yeast. To study the CAF tolerance of *Saccharomyces cerevisiae*, cell growth was detected in wild-type, *elp3*  $\Delta$  and full length or partial deletion Elp3 transformed *elp3*  $\Delta$  cells by sensitivity detection and growth curve drawing under different concentrations of CAF and/or high temperature stress conditions. SSA3 expression in wild-type and *elp3*  $\Delta$  strains was detected by RT-qPCR and ChIP experiments under heat shock stress. The results of caffeine sensitivity detection and growth curve plotted show that the growth of all strains significantly slow down with the increase of CAF concentration, especially of *elp3*  $\Delta$  cells. High temperature co-processing will increase their CAF sensitive phenotype. Both C and N terminal conserved domain deletion Elp3 have no compensation to the CAF sensitivity phenotype of *elp3*  $\Delta$  strain. RT-PCR than wild-type. ChIP experiments further confirmed that Elp3 directly involved in heat shock stress SSA3 gene transcription elongation. These suggest that both Elp3 deletion and high temperature treatment decrease the CAF tolerance of *Saccharomyces cerevisiae*, the two conserved domain of Elp3 are both essential to this function and the more sensitive phenotype displayed by *elp3*  $\Delta$  strains under caffeine and high temperature stress comes from the reduction of stress genes such as SSA3 under stress conditions.

**Keywords:** caffeine tolerance; *Saccharomyces cerevisiae*; Elp3; SSA3; conserved domain

[责任编辑 刘洋 杨浦]