D.R. © TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 15(2):97-103, 2012

# La producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) en las mitocondrias de *Saccharomyces cerevisiae*

**Alain Macedo-Márquez**
Departamento de Genética Molecular, Instituto de Fisiología Celular,
Universidad Nacional Autónoma de México. Apdo. Postal 70-243,
C.P. 04510, Coyoacán, México, D.F. E-mail: amacedo@email.ifc.unam.mx

## Resumen
La mitocondria es el principal productor de especies reactivas de oxígeno durante los procesos normales oxidativos del metabolismo, principalmente a través de las reacciones de óxido-reducción que ocurren en los complejos de transferencia de electrones y que tienen al oxígeno como el último aceptor de electrones. De particular interés, *Saccharomyces cerevisiae* no cuenta con el complejo I y en su lugar se encuentran tres deshidrogenasas alternas; sin embargo, sí contiene los complejos clásicos II, III y IV. Los últimos dos complejos (III y IV) bombean protones al espacio intermembrana para generar un gradiente electroquímico, el cual es utilizado por la ATP sintetasa para la formación de ATP.
Las deshidrogenasas alternas que se encuentran expuestas hacia el espacio intermembrana y el complejo III, son los componentes principales que generan los radicales superóxido. Para transformar el ión superóxido en un compuesto menos nocivo, la mitocondria contiene enzimas encargadas de convertirlo en moléculas menos reactivas.
**Palabras Clave:** EROs, mitocondrias, *Saccharomyces cerevisiae*, transporte de electrones.

## Abstract
Mitochondria are the main producers of reactive oxygen species during the normal processes of oxidative metabolism, mainly through oxidation-reduction reactions occurring in the electron transfer complexes and having oxygen as the last electron acceptor. *Saccharomyces cerevisiae* lacks complex I, but has three alternative dehydrogenases, and the classic complexes II, III and IV. The latter two complexes (III and IV) pump protons towards the intermembrane space to generate an electrochemical gradient, which is used by the ATP synthase to sinthesize ATP.
The alternative dehydrogenases that are exposed to the intermembrane space and complex III are the main components that generate superoxide radicals. To transform the superoxide ion into a less noxious compound, mitochondria contain enzymes that convert them into less reactive molecules.
***Key Words:*** ROS, mitochondria, *Saccharomyces cerevisiae*, electron transport.

## Especies reactivas de oxígeno

El oxígeno molecular ($O_2$) es uno de los gases más importantes de la Tierra, constituye el 21% de la atmósfera, 89% del peso del agua de mar y al menos 47% de la corteza terrestre. Por lo mismo, la mayor parte de los seres vivos utilizan el oxígeno para respirar y obtener energía. Sin embargo, a partir de esta molécula se forman moléculas más reactivas conocidas como especies reactivas de oxígeno (EROs), como el superóxido ($O_2^{\cdot-}$), el hidroxilo ($OH^{\cdot}$) y el peróxido de hidrógeno, así como los oxiradicales ($O_2$ singulete y doblete). Debido a su función primordial de producción de energía química, la mitocondria es considerada la mayor productora de EROs.

Las EROs regulan varios procesos celulares, en el caso de mamíferos son la secreción y acción de la insulina, la producción de hormonas de crecimiento, citocinas (comunicación entre células), la unión de las proteínas G a sus receptores, factores de transcripción, regulación de los transportadores y canales de

Nota: Artículo recibido el 31 de agosto de 2012 y aceptado el 04 de octubre de 2012.

iones, por citar algunos[1]. Sin embargo, las EROs también resultan nocivas para los organismos cuando se producen en grandes cantidades dañando los constituyentes celulares e induciendo la muerte celular. Así, el estrés oxidativo generado por la sobreproducción de EROs está asociado al envejecimiento y patologías como la obesidad y la diabetes tipo 2, entre otras[2]. La molécula de oxígeno es un birradical libre, es decir, posee dos electrones no apareados, cada uno localizado en un orbital π de antiunión (π*) (Fig. 1).

En la molécula de oxígeno, los electrones no apareados poseen giros paralelos, de tal manera que para que el $O_2$ oxide otro átomo o molécula, éste tendría que aceptar un par de electrones con giro contrario o aceptar un solo electrón a la vez (limitación del giro o "spin"). Si un solo electrón se adiciona al $O_2$, éste se localizará en uno de los orbitales π* de antiunión y el producto será el radical superóxido ($O_2^{\bullet -}$). De la adición de un electrón más, resultará el ión peróxido, el cual se protona rápidamente en el ambiente celular para producir el peróxido de hidrógeno ($H_2O_2$)[3]. El $H_2O_2$, producto de la dismutación del superóxido, puede cruzar las membranas biológicas y auque es relativamente poco reactivo, a partir de éste y en presencia de metales de transición reducidos, la reducción parcial del peróxido genera el radical hidroxilo (·OH), uno de los oxidantes más fuertes de la naturaleza[4]. Cuando el metal involucrado es el $Fe^{2+}$, la reacción es conocida como reacción de Fenton[5] (Fig. 2). En los sistemas vivos la reacción que genera radicales hidroxilos además de la reacción de Fenton, es conocida como la reacción de Haber-Weiss[6] (Fig. 2), en la cual en presencia de superóxido y peróxido de hidrógeno se generan más radicales hidroxilo[7].

Es importante notar que las EROs son un término amplio usado para describir todos los intermediarios reactivos del oxígeno que incluyen oxiradicales (singuletes y dobletes) y no radicales ($H_2O_2$). Los oxiradicales son dañinos cuando se producen en grandes cantidades porque indiscriminadamente pueden reaccionar con biomoléculas. Los principales objetivos para la oxidación por EROs son los dobles enlaces en los lípidos, los residuos de cisteína y metionina en las proteínas y la posición C8 en la desoxiguanosina (existen muchos otros objetivos, pero estos parecen ser los más comunes)[8].

## La composición de complejos acarreadores de electrones en la mitocondria de *Saccharomyces cerevisiae*

Las levaduras presentan diferentes complejos enzimáticos encargados de las reacciones de transporte de electrones (Fig. 3), aunque no todos ellos son similares a los de bovino o humano.

*S. cerevisiae*, carece del complejo I, en su lugar contiene tres deshidrogenasas alternas insensibles a rotenona y que están asociadas a la membrana interna, una expuesta hacia la matriz mitocondrial (Ndi1) y las dos restantes expuestas hacia el espacio intermembrana (Nde1 y Nde2). Cabe mencionar que ninguna de estas deshidrogenasas bombea protones al espacio intermembrana, por lo cual no contribuyen a la generación del gradiente electroquímico en la mitocondria[9].

El complejo II o succinato deshidrogenasa es responsable de oxidar el succinato producido en el ciclo de los ácidos

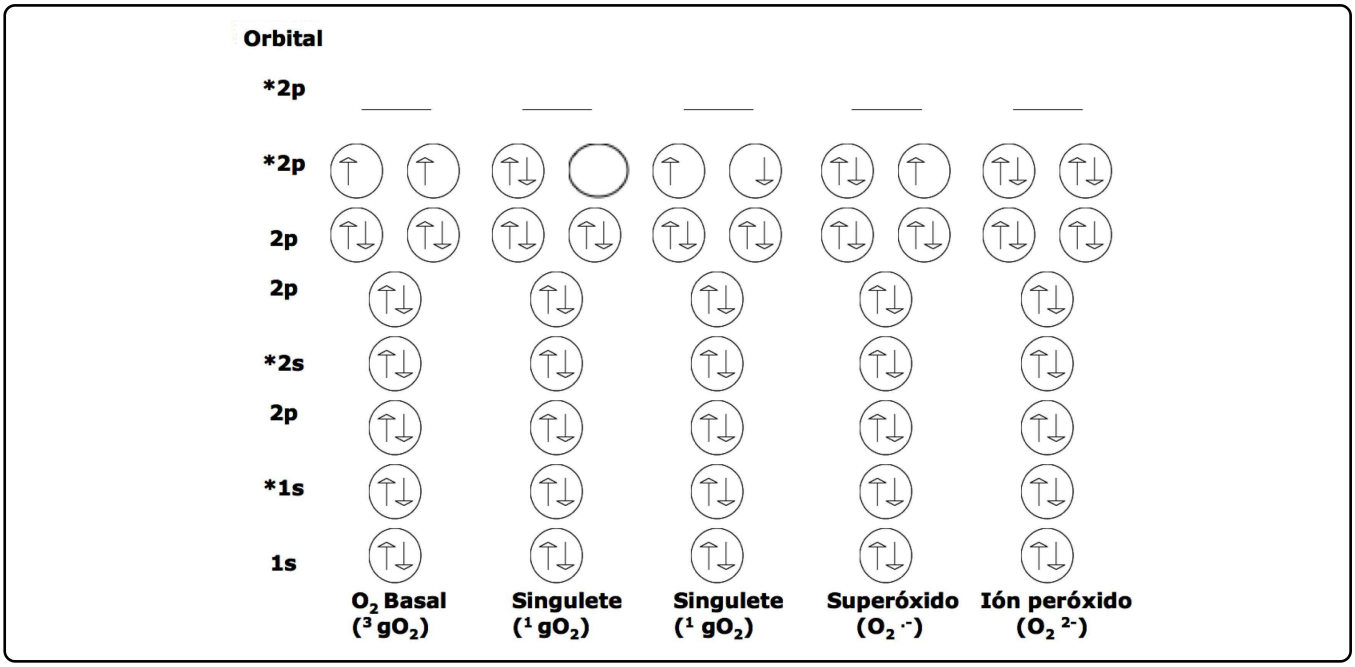


Figura 1. Estructura electrónica del $O_2$ y de las diferentes especies reactivas de oxígeno.

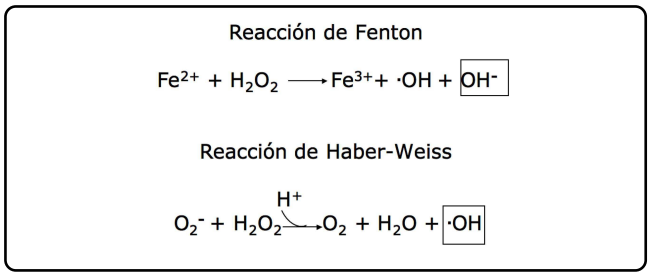


**Figura 2. Reacciones de Fenton y Haber-Weiss, en las cuales se producen el radical hidroxilo.**

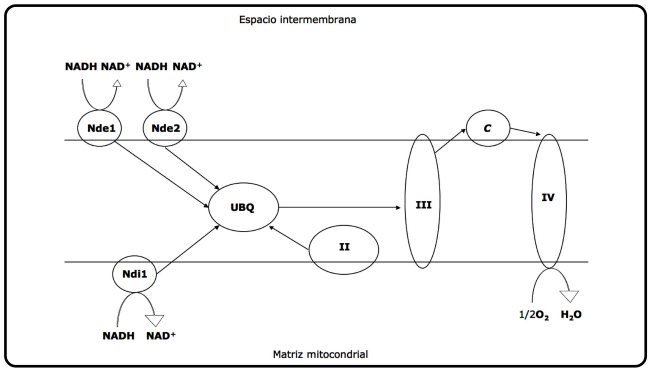


**Figura 3. Composición de la cadena transportadora de electrones de *S. cerevisiae*, con la flecha (→) se indica el flujo de electrones a través de los complejos. Ndi1, Nde1 y Nde2 (deshidrogenasas alternas); UBQ (ubiquinona); complejos II, III y IV; *C* (citocromo *c*).**

tricarboxílicos, para formar fumarato vía $FADH_2$[10]. Al igual que las deshidrogenasas alternas presentes en *S. cerevisiae*, el complejo II no bombea protones y converge en transferir los electrones a la ubiquinona[11]. El ubiquinol a su vez se dirige hacia el complejo III o ubiquinol: citocromo *c* oxidorreductasa, en donde cede los electrones para reducir al citocromo *c*, con ello se bombean protones al espacio intermembrana. El citocromo *c* es oxidado por el complejo IV o citocromo *c* oxidasa, quien cataliza la transferencia de los electrones al oxígeno, acoplando la traslocación de protones a través de la membrana[12].

## Los complejos que generan especies reactivas de oxígeno en las mitocondrias de *S. cerevisiae*

Si bien es necesario el paso de los electrones a través de los complejos enzimáticos en la membrana para la generación de un gradiente electroquímico de protones y, por tanto, para producir energía, un efecto indeseado de las reacciones redox que ocurren en la mitocondria es la generación de especies reactivas de oxígeno (Figura 4).

En mitocondrias aisladas, el superóxido se puede generar en varios sitios en los complejos I y III[13-15], en las deshidrogenasas de glicerol 3-fosfato, 2-oxaglutarato y piruvato y, probablemente, también en el complejo II. Sin embargo, los principales productores son complejo I y el III de la cadena transportadora de $e^-$.

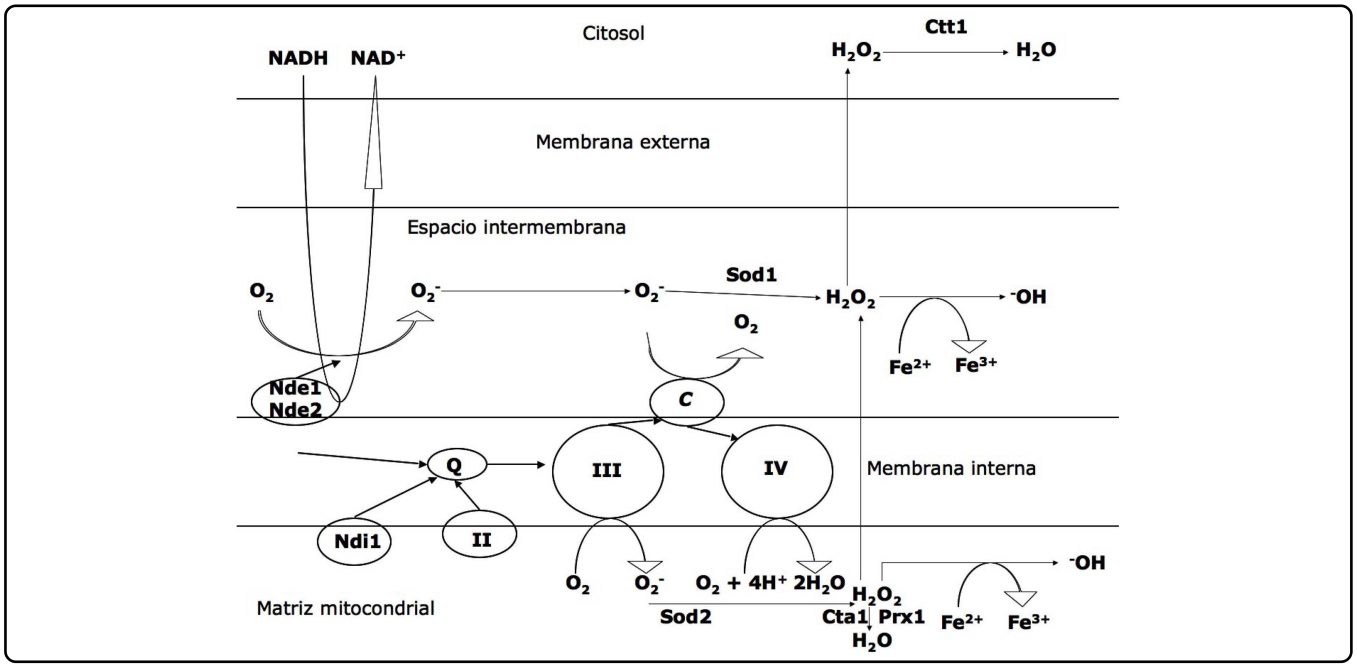


**Figura 4. Respresentación esquemática de los sitios de generación de especies reactivas de oxígeno y las enzimas que participan en la detoxificación en la mitocondria de *S. cerevisiae*. Ndi1, Nde1 y Nde2 (deshidrogenasas alternas); Q, (ubiquinona); complejos II, III y IV; cyt *c* (citocromo *c*); Prx1 (peroxiredoxina); Ctt1 y Cta1 (catalasas); Sod1 y Sod2 (superóxido dismutasas).**

En *S. cerevisiae*, las deshidrogenasas alternas que miran hacia el espacio intermembrana son las que probablemente promueven la generación de superóxido en lugar del complejo I[16] (Fig. 3). En este sentido, se ha demostrado que mitocondrias de *Neurospora crassa*, mutantes en Nde1 y Nde2, muestran un decremento importante en la generación de EROs[17]. Esto sugiere que las deshidrogenasas podrían ser una fuente significativa de EROs en organismos que presentan cadenas transportadoras de electrones alternativas como la de *N. crassa*[17].

La generación de superóxido en el complejo III se lleva a cabo a través del ciclo Q (Fig. 4), el cual acopla la transferencia de electrones de la ubiquinona (Fig. 5) al citocromo *c* con la translocación de protones.

El ciclo comienza cuando los electrones acarreados por las deshidrogenasas alternas y el complejo II son cedidos a la ubiquinona (Q), que al recibir dos electrones y dos protones se convierte en ubiquinol (QH2), el cual se dirige al centro $Q_o$ que está próximo al espacio intermembrana, en donde el complejo III transloca protones ($2H^+$) y el ubiquinol cede un electrón a la proteína Fierro-Azufre para transformarse en semi-ubiquinona (un estado intermediario), que a su vez cede un electrón que pasa al citocromo *c*1 y después al citocromo *c*, y finalmente al complejo IV. El electrón que porta la semi-quinona es cedido (para transformarse en ubiquinona) al citocromo *b* en donde pasa por dos grupos hemos ($b_L$ y $b_H$), hasta el sitio $Q_i$ que está próximo a la matriz mitocondrial. Ahí se concentra una ubiquinona, la cual al recibir dos protones y dos electrones acumulados a partir de los que son transportados por las deshidrogenasas alternas y el complejo II, vuelve a iniciar de nuevo el ciclo Q[18-20].

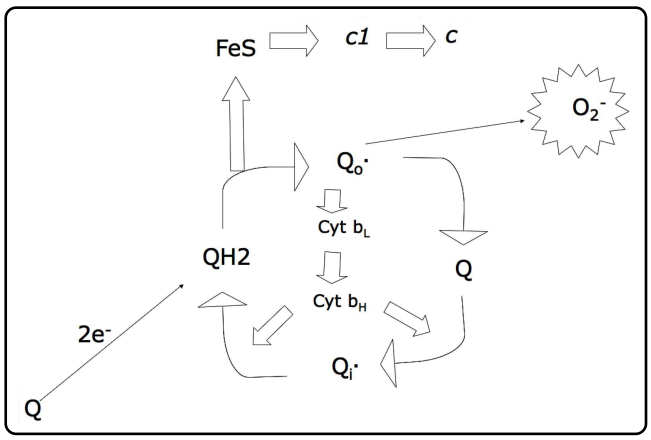


**Figura 5. Esquema del flujo de electrones a través del complejo III. Las flechas indican el flujo de electrones. Ubiquinona (Q); ubiquinol (QH2); semiquinona (Q·); centro $Q_o$ (sitio que mira hacia el espacio intermembrana); $Q_i$ (sitio que mira hacia la matriz mitocondrial); proteína Fierro-Azufre (FeS); citocromo *c*1 (*c*1); citocromo *c* (*c*); citocromo *b* (cyt $b_L$ y cyt $b_H$) y la posible generación de superóxido ($O_2^-$).**

Se han sugerido 2 sitios en los cuales se pueden generar el superóxido dentro del mecanismo del ciclo Q, en los cuales se encuentran electrones desapareados y oxígeno. Uno de ellos es cuando la ubiquinona ($Q_i$) recibe el electrón del citocromo $b_H$ y forma la semiquinona, un estado intermedio antes de formar el ubiquinol. El otro sitio es cuando el ubiquinol ($Q_o$) pierde los protones y cede los electrones al citocromo $b_L$, en este punto se vuelve a formar una semiquinona que puede llevar un electrón desapareado y, en contacto con el oxígeno, daría lugar a un radical superóxido[16,21-23].

En el complejo IV, que lleva acabo la reducción del $O_2$ a $H_2O$, se generan una serie de intermediarios con electrones en forma de singuletes, por lo que este complejo no es responsable de la generación de EROs en la mitocondria[8]. Sin embargo, en condiciones de hipoxia, el complejo IV sí produce óxido nítrico (NO)[24].

## Mecanismos de defensa ante las diferentes especies reactivas de oxígeno, producidas en las mitocondrias de *S. cerevisiae*

La primera defensa enzimática para combatir la producción del superóxido es la superóxido dismutasa, o Sod, y su función consiste en formar peróxido de hidrógeno, a partir de superóxido y agua. *S. cerevisiae* presenta dos enzimas la primera la Cu/ZnSod o SOD1 que se ubica en el citosol[25] y en el espacio intermembrana[26-27] con una masa molecular de 25.7 kD. Las mutantes que carecen de esta enzima tienen un crecimiento pobre en medios respiratorios[28], pierden la viabilidad en la fase estacionaria[29] y presentan una hipersensibilidad a la adición de oxidantes como el paraquat o la menadiona[30]. La otra superóxido dismutasa (Sod dependiente de Mn o SOD2) de *S. cerevisiae* se encuentra exclusivamente en la matriz mitocondrial y su función es dismutar los superóxidos producidos por la cadena transportadora de electrones[31-32]. Se ha establecido que levaduras mutantes que carecen de esta enzima son sensibles al oxígeno[33] y son incapaces de crecer en medios respiratorios.

La sobre-expresión de ambas superóxido dismutasas, o de cada una de ellas, incrementa en un 30 % la longevidad de las células, de tal forma que los superóxidos que se encuentran en el citosol y en el espacio intermembrana son dismutados por la SOD1 y los que se producen en la respiración por la SOD2. Así se puede mantener un equilibrio en las reacciones de óxido-reducción que se realizan en la mitocondria y retardar el posible envejecimiento que ocasionan dichas reacciones[34].

Para convertir el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno[35], *S. cerevisiae* contiene tres tipos de peroxiredoxinas, una de ellas se encuentra específicamente en la matriz mitocondrial. Esta enzima se denomina Prx1[36], la cual se caracteriza por ser un monómero y presentar un solo sitio activo con una cisteína[37]. Las mutantes de esta enzima presentan una mayor

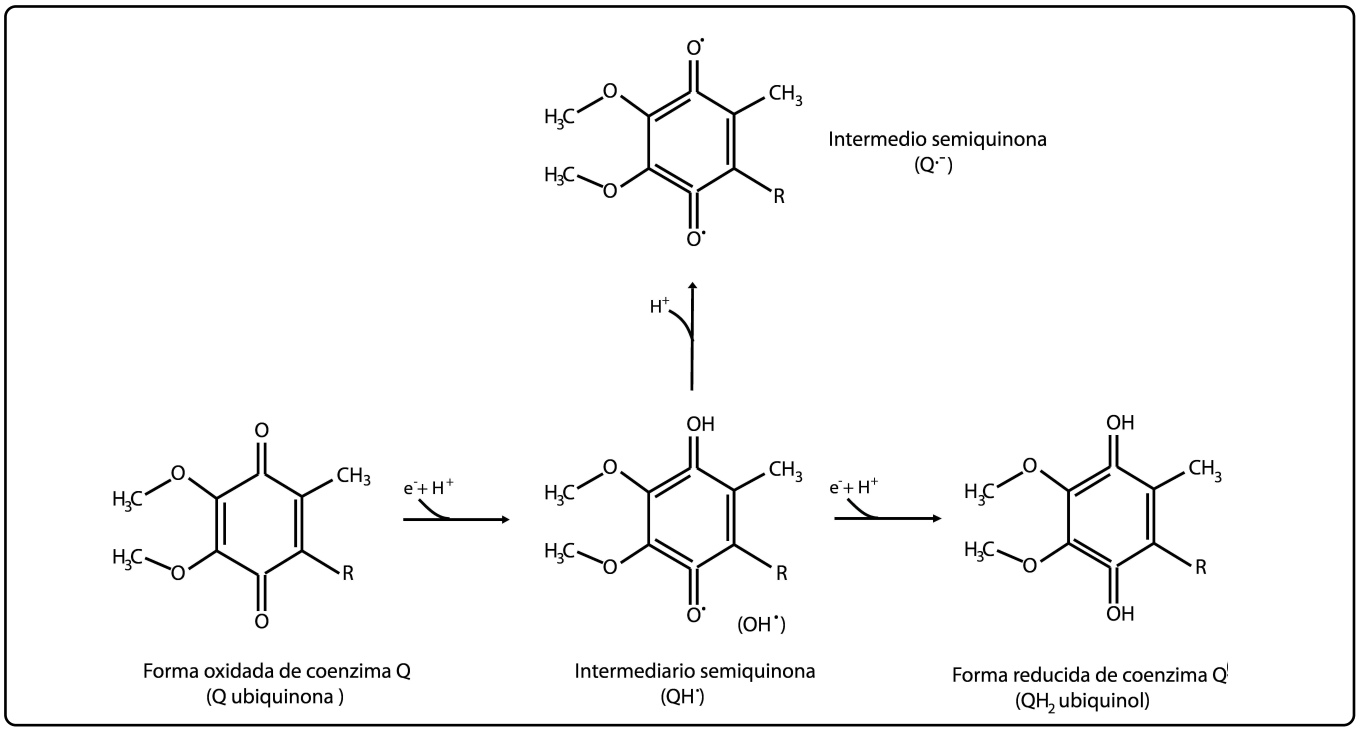


**Figura 6. Estados de oxidación de las quinonas. La reducción de la ubiquinona (Q) a ubiquinol ($QH_2$) se realiza a través de un intermediario semiquinona (QH·).**

susceptibilidad al $H_2O_2$ agregado o producido en la respiración durante el cambio diaúxico[36].

El $H_2O_2$ es más estable y es capaz de atravesar membranas, es degradado por una variedad de enzimas y moléculas de bajo peso molecular para prevenir el estrés oxidativo. Los sistemas que se encuentran en la mitocondria para la extinción de esta molécula, incluyen el sistema GSH/glutation peroxidasa (GPx), peroxiredoxinas, tioredoxinas y glutaredoxinas. Las catalasas también degradan el $H_2O_2$ pero sólo se utilizan cuando los niveles de peróxido alcanzan concentraciones elevadas[8].

*S. cerevisiae* contiene dos catalasas que transforman el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, Ctt1 y Cta1. Ctt1 se localiza exclusivamente en el citosol y Cta1 en los peroxisomas[38]. En condiciones de crecimiento usando medios en los cuales la fuente de carbono no es fermentable, o en medios de cultivo que contienen ácidos grasos como única fuente de carbono[39], Cta1 se localiza en la matriz mitocondrial[40] para contender con la formación de peróxido. En ambos medios de cultivo se favorece la formación de especies reactivas de oxígeno en este organelo, por lo que el direccionamiento de Cta1 a la mitocondria tiene un efecto protector.

La teoría mitocondrial del envejecimiento propone que las especies reactivas de oxígeno generadas dentro de la célula conducirán, con el tiempo, a cantidades crecientes de daño oxidativo a los diferentes componentes celulares. El sitio principal para la producción de EROs es la cadena respiratoria en la mitocondria y la acumulación de mutaciones del ADN mitocondrial (ADNmt) y alteraciones en la función de la cadena respiratoria se han asociado con enfermedades degenerativas y el envejecimiento. La teoría predice que la alteración de la función de la cadena respiratoria aumentará la producción de EROs y así incrementa la acumulación de mutación de ADNmt, que, a su vez, comprometerá la función de la cadena respiratoria y acelerará el envejecimiento de la célula[41-43].

## Conclusiones

El oxígeno es una molécula muy reactiva que se difunde libremente dentro de las mitocondrias de *S. cerevisiae* y es necesario como el aceptor final del flujo de electrones de la cadena transportadora de electrones. En este flujo de electrones se generan diferentes reacciones de óxido-reducción, en las cuales, en presencia de oxígeno y electrones desapareados, se puede generar el ión superóxido, una molécula también muy reactiva. Con las superóxido dismutasas se generan oxígeno y peróxido de hidrógeno, el peróxido se puede producir tanto en el espacio intermembrana como en la matriz mitocondrial. Para transformar el peróxido en agua y oxígeno, la mitocondria de *S. cerevisiae* presenta una peroxiredoxina que lleva a cabo dicha reacción, pero si el peróxido reacciona con un metal de transición, mediante la reacción de Haber-Weiss o Fenton, se forma el ión hidroxilo, uno de los oxidantes más fuertes de la

naturaleza. El hidroxilo puede reaccionar con el ADN, los lípidos o las proteínas presentes en la mitocondria y generar cambios en la forma, estructura y función de este organelo clave en el metabolismo.

## Agradecimientos

A los doctores que forman parte de mi comité tutoral de doctorado por sus críticas, sugerencias y observaciones para la mejora de este documento: Sobeida Sánchez-Nieto, Xóchitl Pérez-Martínez y Diego González-Halphen. A Alexa Villavicencio-Queijeiro por el apoyo en la edición de las imágenes. A los financiamientos económicos por parte del CONACyT (128110) y de la DGAPA (IN203311). A la Facultad de Química (UNAM) y al Instituto de Fisiología Celular (UNAM) por brindarme los espacios necesarios para mi formación. Al CONACyT por la beca (176940) otorgada para realizar mis estudios de doctorado.

## Referencias

1. Bartozs, G. Reactive oxigen species: Destroyers or mesengers? *Biochem. Pharmacol.* **77**, 1303-1315 (2009).
2. Halliwell, B. & Gutteridge, J.M.C. Free Radicals in Biology and Medicine (Oxford University Press, London, 1999).
3. Folch-Mallol, J.L., Garay-Arroyo, A., Lledías, F. & Covarrubias Robles, A.A. La respuesta al estrés en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. *Rev. Latinoam. Microbiol*. **(1-2)**, 24-46 (2004).
4. Halliwell, B. & Gutteridge, J.M. Oxigen toxicity oxigen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J*. **219**, 1-14 (1984).
5. Herrero, E., Ros, J., Bellí, G. & Cabiscol, E. Redox control and oxidative stress in the yeast cells. *Biochem. Biophys. Acta* **1780(11)**, 1217-1235 (2008).
6. Kehrer, P.J. The Haber–Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology* **149**, 43-50 (2000).
7. Czapski, G. & Goldstein, S. When do metal complexes protect the biological system from superoxide toxicity and when do they enhance it? *Free Rad. Res. Comms*. **1(3)**, 157-161 (1986).
8. Mailloux, J.R. & Harper, M.E. Mitochondrial proticity and ROS signaling: lessons from the uncoupling proteins. *Trends in Endocrinology and Metabolism.* En prensa (2012).
9. Bakker, M.B. *et al*. Stoichiometry and compartmentation of NADH metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiol. Rev*. **25**, 15-37 (2001).
10. Lemire, D.B. & Oyedotun, S.K. The *Saccharomyces cerevisiae* mitochondrial succinate:ubiquinone oxidoreductase. *Biochem. Biophys. Acta*. **1553**, 102-116 (2002).
11. Clarke, F.C., Williams, W. & Teruya, H.H. Ubiquinone Biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae. J. Biol. Chem.* **266 (25)**, 16636-16644 (1991).
12. Power, S.D., Lochrie, M.A., Severino, K.A., Patterson, T.E. & Poyton, R.O. The nuclear-coded subunits of yeast cytochrome *c* oxidase. *J. Biol. Chem*. **259(10)**, 6564-6570 (1984).
13. Grivennokova, V.G. & Vinogradov, A.D. Generation of superoxide by the mitochondrial complex I. *Biochem. Biophys. Acta* **1757**, 553-561 (2006).
14. Hirst, J., King, M.S. & Pryde, K.R. The production of reactive oxygen species by complex I. *Biochem. Soc. Trans.* **36**, 976-980 (2008).
15. Turrens, J.F. Superoxide production by the mitochondrial respiratory chain. *Bioscience Reports* **17(1)**, 3-8 (1997).
16. Fang, J. & Beattie, D.S. External alternative NADH deshidrogenase of *Saccharomyces cerevisiae*: a potential source of superoxide. *Free Radic. Biol. Med.* **34(4)**, 478-488 (2003).
17. Carneiro, P., Duarte, M. & Videira, A. Disruption of alternative NAD(P)H dehidrogenases leads to decreased mitochondrial ROS in *Neurospora crassa*. *Free Radical Biology and Medicine*. **52**, 402-409 (2012).
18. Trumpower, B.L. The protonmotive Q cicle. *J. Biol. Chem.* **265(20)**, 11409-11412 (1990).
19. Quinland, L.C., Gerencser, A.A., Treberg, R.J. & Brand, D.M. The mechanism of superoxide production by the antimycin-inhibited mitochondrial Q-cycle. *J. Biol. Chem*. **286(36)**, 31361-31372 (2011).
20. Hamanaka, B.R. & Chandel, S.N. Mitochondrial reactive species regulate cellular signaling and dictate biological outcomes. *Trends in Biochemical Sciences*. **35**, 505-513 (2010).
21. Boveris, A., Cadenas, E. & Stoppani, A.O.M. Role of ubiquinone in the generation of Hydrogen peroxide. *Biochem. J*. **156**, 135-144 (1976).
22. Turrens, J.F., Alexandre, A. & Lehninger, A.L. Ubisemiquinone is the electron donor for superoxide formation by complex III of heart mitochondria. *Arch. Biochem. Biophys.* **237(2)**, 408-414 (1985).
23. Nohl, H., Gille, L. & Staniek, K. Intracellular generation of reactive oxygen species by mitochondria. *Biochem. Pharmacol*. **69**, 719-723 (2005).
24. Castello, R.P., David, S.P., McClure, T., Crook, Z. & Poyton, O.R. Mitochondrial citochrome oxidase produces nitric oxide under hypoxic conditions: implications for oxigen sensing and hipoxic signaling in eucaryotes. *Cell Metabolism* **3(4)**, 277-287 (2006).
25. Bermingham-McDonogh, O., Gralla, E.B. & Valentine, S.J. The copper, zinc-superoxide dismutase gene of *Saccharomyces cerevisiae*: Cloning, sequencing, and biological activity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **85**, 4789-4793 (1988).
26. Sturtz, A.L., Diekert, K., Jensen, T.L., Lill, R. & Culotta, C.V. A Fraction of Yeast Cu,Zn-Superoxide Dismutase and Its Metallochaperone, CCS, Localize to the Intermembrane Space of Mitochondria. *J. Biol. Chem.* **276(41)**, 38084-38089 ( 2001).
27. Han, D., Williams, E. & Cadenas, E. Mitochondrial respiratory chain-dependent generation of superoxide anion and its release into the intermembrane space. *Biochem. J*. **353**, 411-416 (2001).
28. Liu, X.F. *et al*. Yeast lacking superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.* **267(26)**, 18298-18302 (1992).
29. Costa, V., Amorim, A.M., Reis, E., Quintanilha, A. & Moradas-Ferreira, P. Mitochondrial superoxide dismutase is essential for ethanol tolerante of *Saccharomyces cerevisiae* in the post-diauxi phase. *Microbiology* **143**, 1649-1656 (1997).
30. Gralla, B.E. & Valentine, S.J. Null mutants of *Saccharomyces cerevisiae* Cu,Zn Superoxide dismutase: Characterization and spontaneous mutantion rates. *J. Bacteriol.* **173(18)**, 5918-5920 (1991).
31. Guidot, D.M., McCord, J.M., Wright, R.M. & Repine, J.E. Absence of Electron Transport (Rho° State) Restores Growth of a Manganese-Superoxide Dismutase-deficient *Saccharomyces cerevisiae* in Hyperoxia. *J. Biol. Chem*. **268(35)**, 26699-26703 (1993).
32. Marres, M.A.C. *et al*. Nucleotide sequence analysis of the nuclear gene coding for manganese superoxide dismutase of yeast

mitochondria, a gene previously assumed to code for the Rieske iron-sulphur protein. *Eur. J. Biochem*. **147**, 153-161 (1985).
33. van Loon, A.P., Pesold-Hurt, B. & Schatz, G. A yeast mutant lacking mitochondrial manganese–superoxide dismutase is hypersensitive to oxygen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **83(11)**, 3820-3824 (1986).
34. Fabrizio, P. *et al*. Sod2 functions downstream of Sch9 to extend longevity in yeast. *Genetics* **163**, 35-46 (2003).
35. Munhoz, D.C. & Soares Netto, L.E. Cytosolic Thioredoxin Peroxidase I and II Are Important Defenses of Yeast against Organic Hydroperoxide Insult. *J. Biol. Chem.* **279(34)**, 35219-35227 (2004).
36. Pedrajas, R.J., Miranda-Vizuete, A., Javanmardy, N., Gustafsson, A.N. & Spyrou, G. Mitochondria of *Saccharomyces cerevisiae* Contain One-conserved Cysteine Type Peroxiredoxin with Thioredoxin Peroxidase Activity. *J. Biol. Chem.* **276(21)**, 16296-16301 (2000).
37. Park, G.S., Cha, M.K., Jeong, W. & Kim, I.H. Distinct Physiological Functions of Thiol Peroxidase Isoenzymes in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem*. **275(8)**, 5723-5732 (2000).
38. Hiltunen, K.J. *et al*. The biochemistry of peroxisomal ß-oxidation in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiology Reviews* **27**, 35-64 (2003).
39. Filipits, M., Simon, M.M., Rapatz, W., Hamilton, B. & Ruis, H. A *Saccharomyces cerevisiae* upstream activating sequence mediates activation of peroxisome proliferation by fatty acids. *Gene* **132**, 49-55 ( 1993).
40. Petrova, Y.V., Drescher, D., Kujumdzieva, V.A. & Schmitt, J.M. Dual targeting of yeast catalase A to peroxisomes and mitochondia. *Biochem. J.* **380**, 393-400 (2004).
41. Sohal, S.R., Mockett, J.R. & Orr, C.W. Mechanims of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radical Biology and Medicine* **33(5)**, 575-586 (2002).
42. Rattan, S.I.S. Theories of biological aging: Genes, proteins and free radicals. *Free Radical Research* **40(12)**, 1230-1238 (2006).
43. Muller, L.F., Lustgarten, S.M., Jang, Y., Richarson, A. & Van Remmen, H. Trends in oxidative aging theories. *Free Radical Biology* **43**, 477-503 (2007).