

Organizmy modelowe - drożdże

Saccharomyces cerevisiae i nie tylko



Materiały z prezentacji

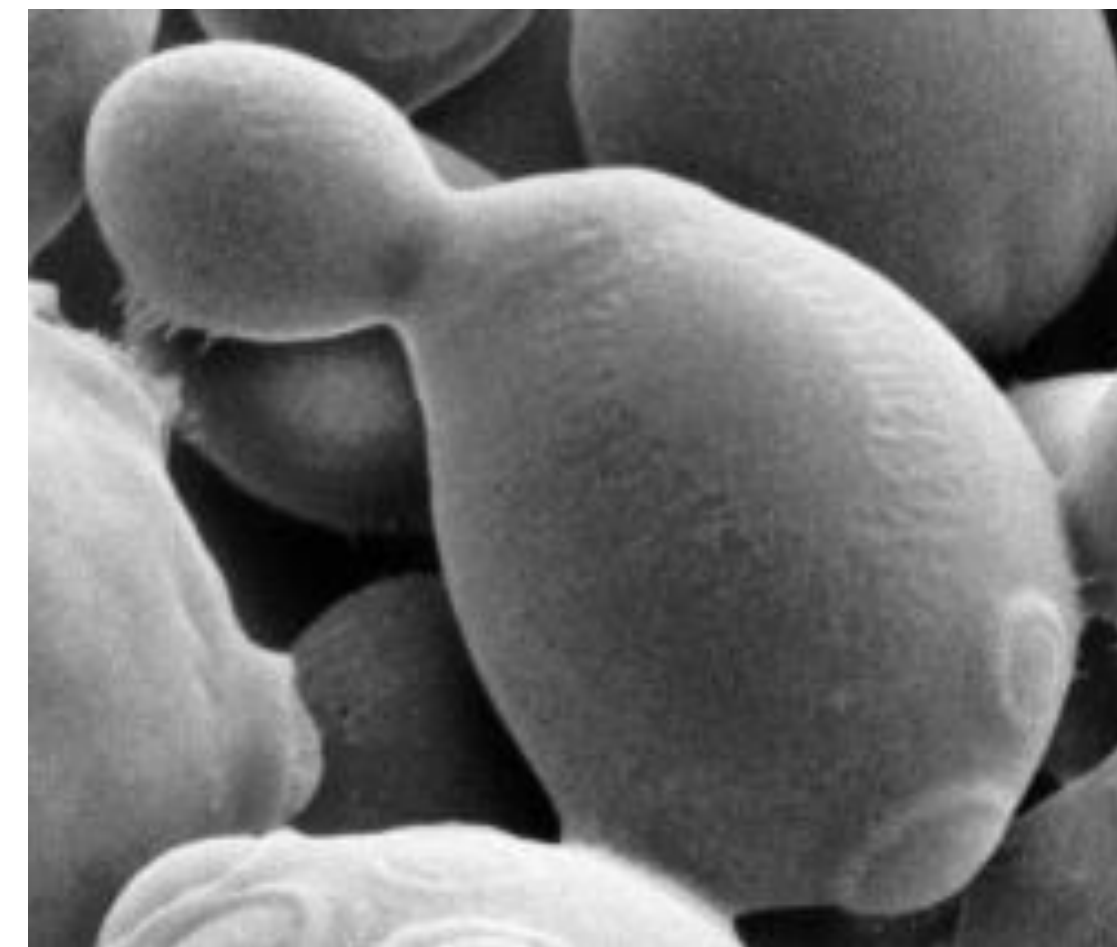
- <http://www.igib.uw.edu.pl/>

Co to są drożdże?

- Mikroorganizmy eukariotyczne zaliczane do grzybów
- Jednokomórkowe (lub z istotnym stadium jednokomórkowym w cyklu życiowym)
- Nie stanowią grupy taksonomicznej – grupa nieformalna
 - podział grzybów na wielkoowocnikowe, pleśnie i drożdże
- Organizmy typu “drożdży” występują wśród workowców i podstawczaków
 - W większości dyskusji ogranicza się pojęcie “drożdży” do przedstawicieli workowców

Co to są drożdże

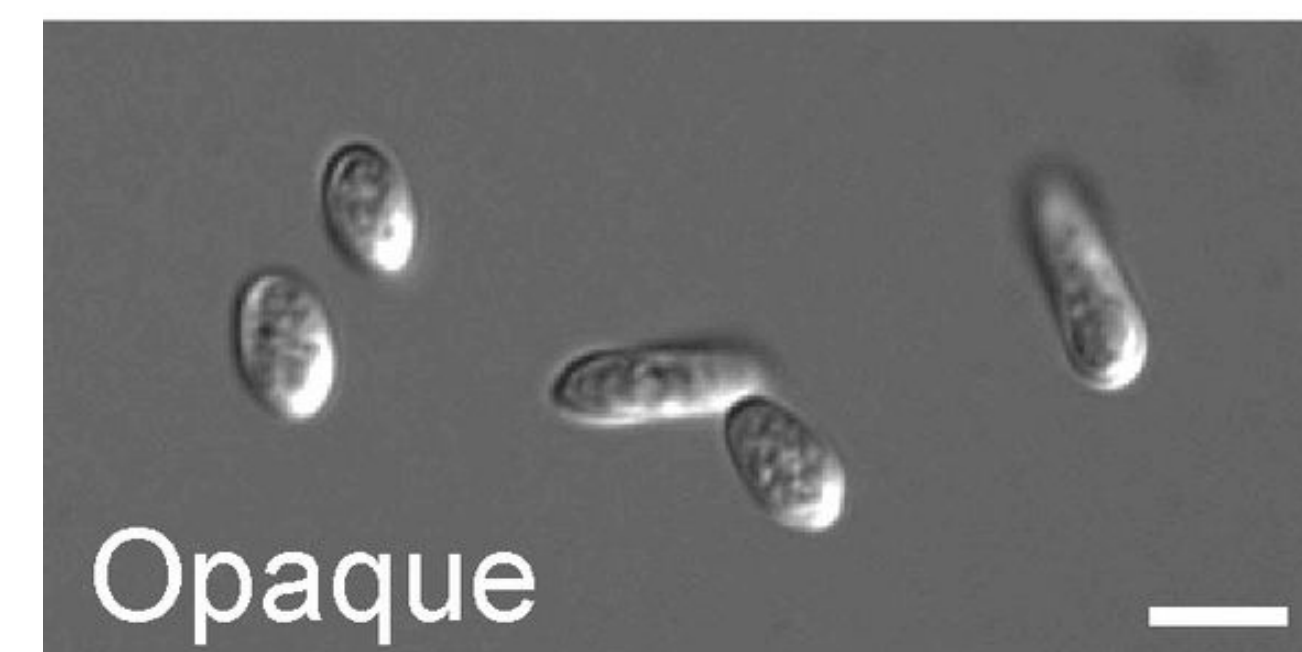
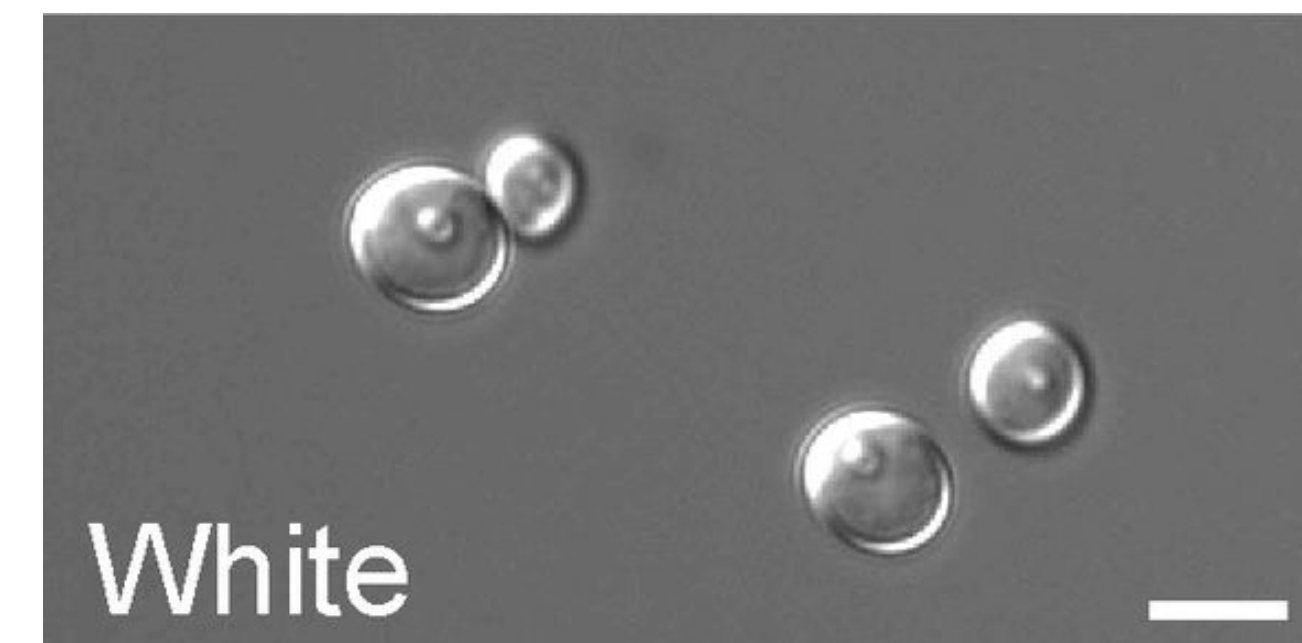
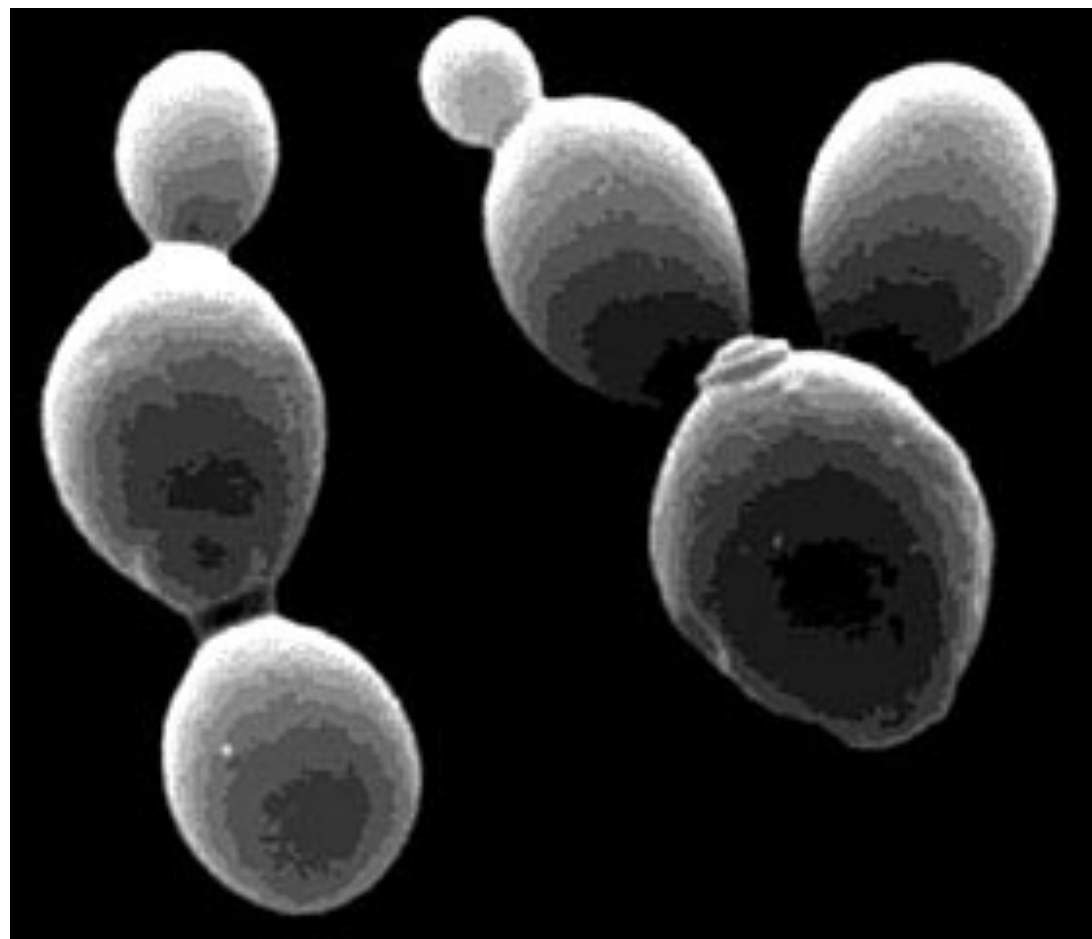
Typowe skojarzenie u biologa molekularnego i kucharza:



Saccharomyces cerevisiae

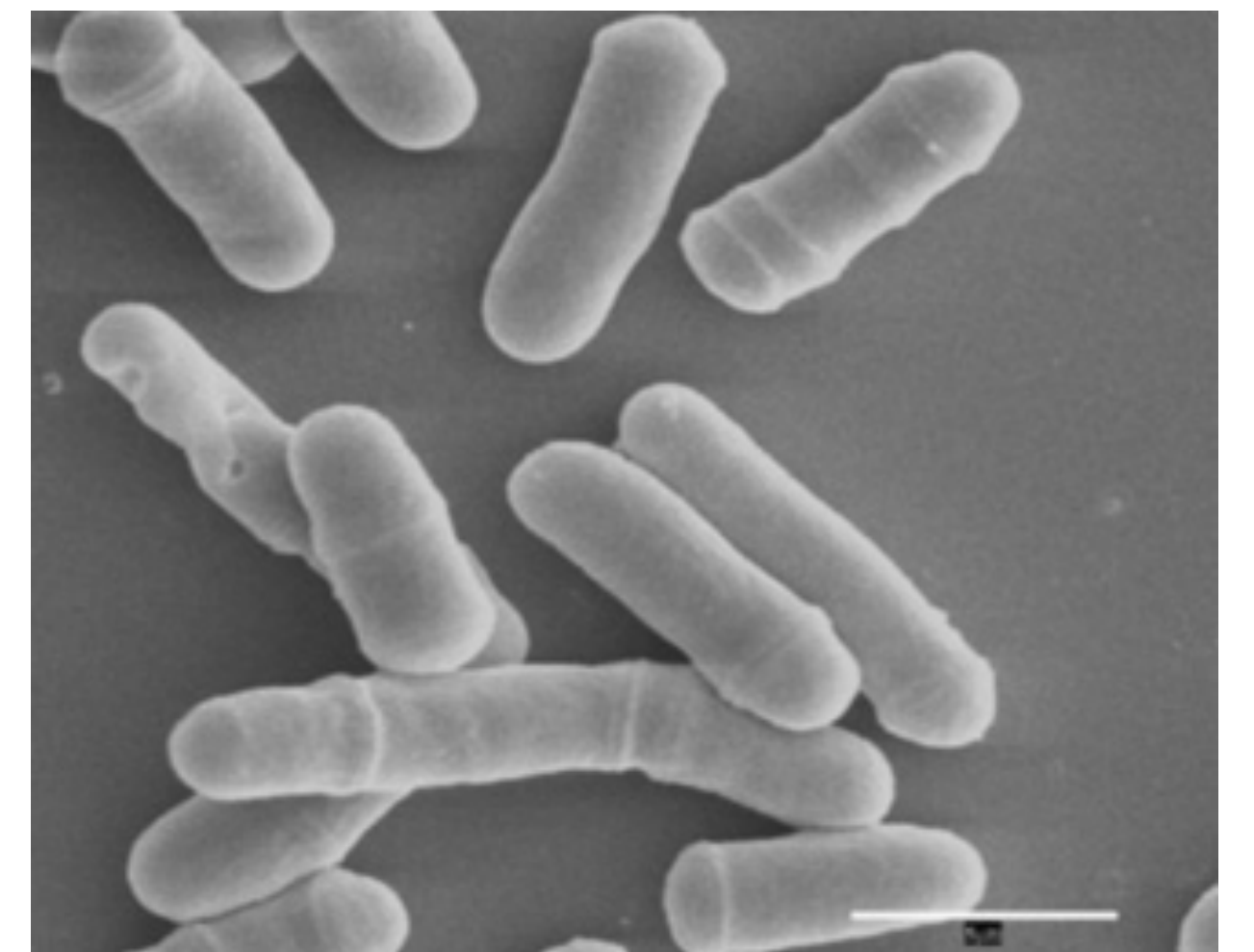
Drożdże modelowe

- Przedstawiciele workowców
- typ Saccharomycotina, klasa Saccharomycetes (drożdże pączkujące, drożdżaki)
 - np. *S. cerevisiae*, *Candida albicans*



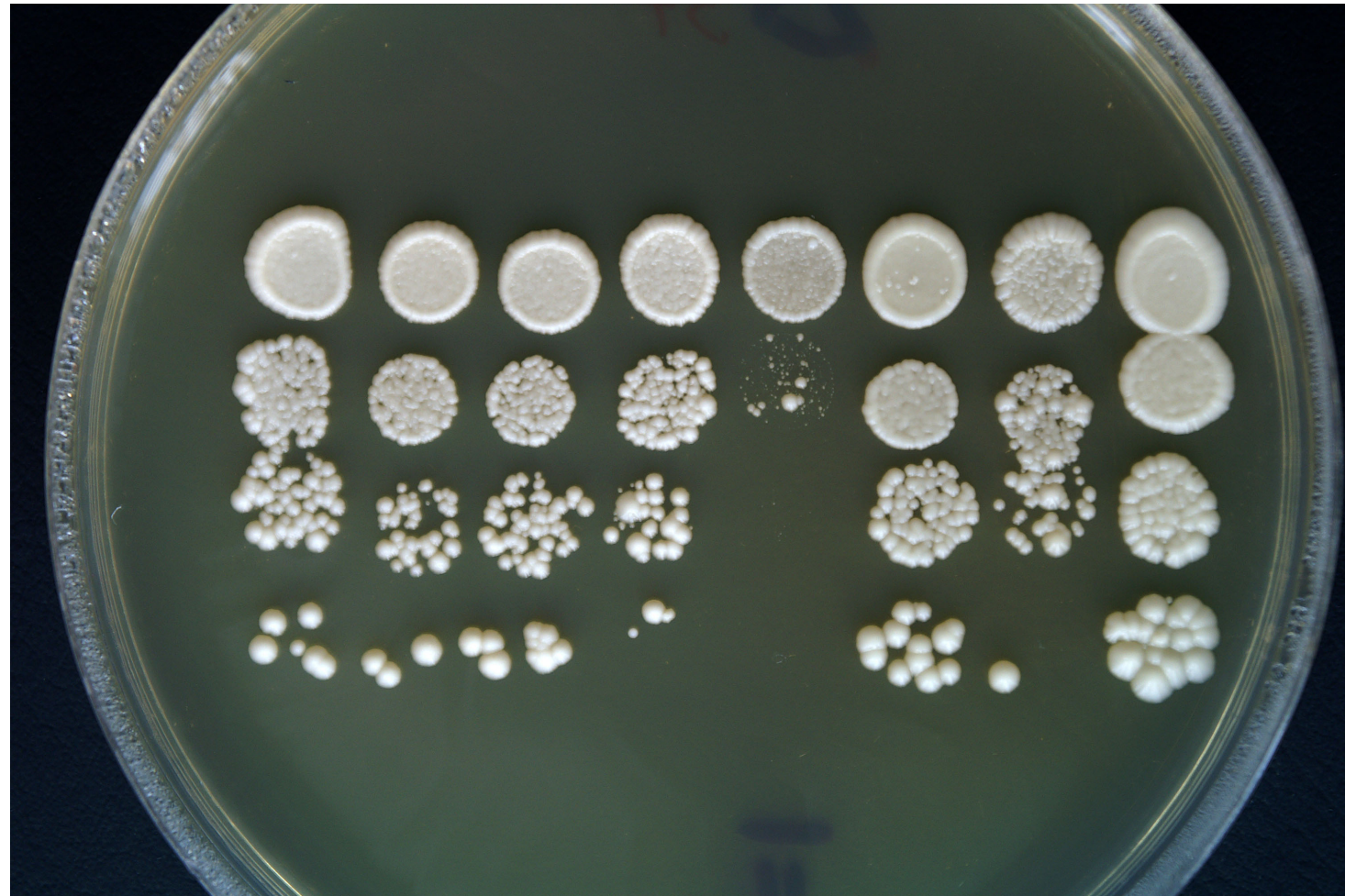
Drożdże modelowe

- Przedstawiciele workowców
- ale też typ Taphrinomycotina
 - *Schizosaccharomyces pombe* (drożdże rozszczepkowe, ang. *fission yeast*)

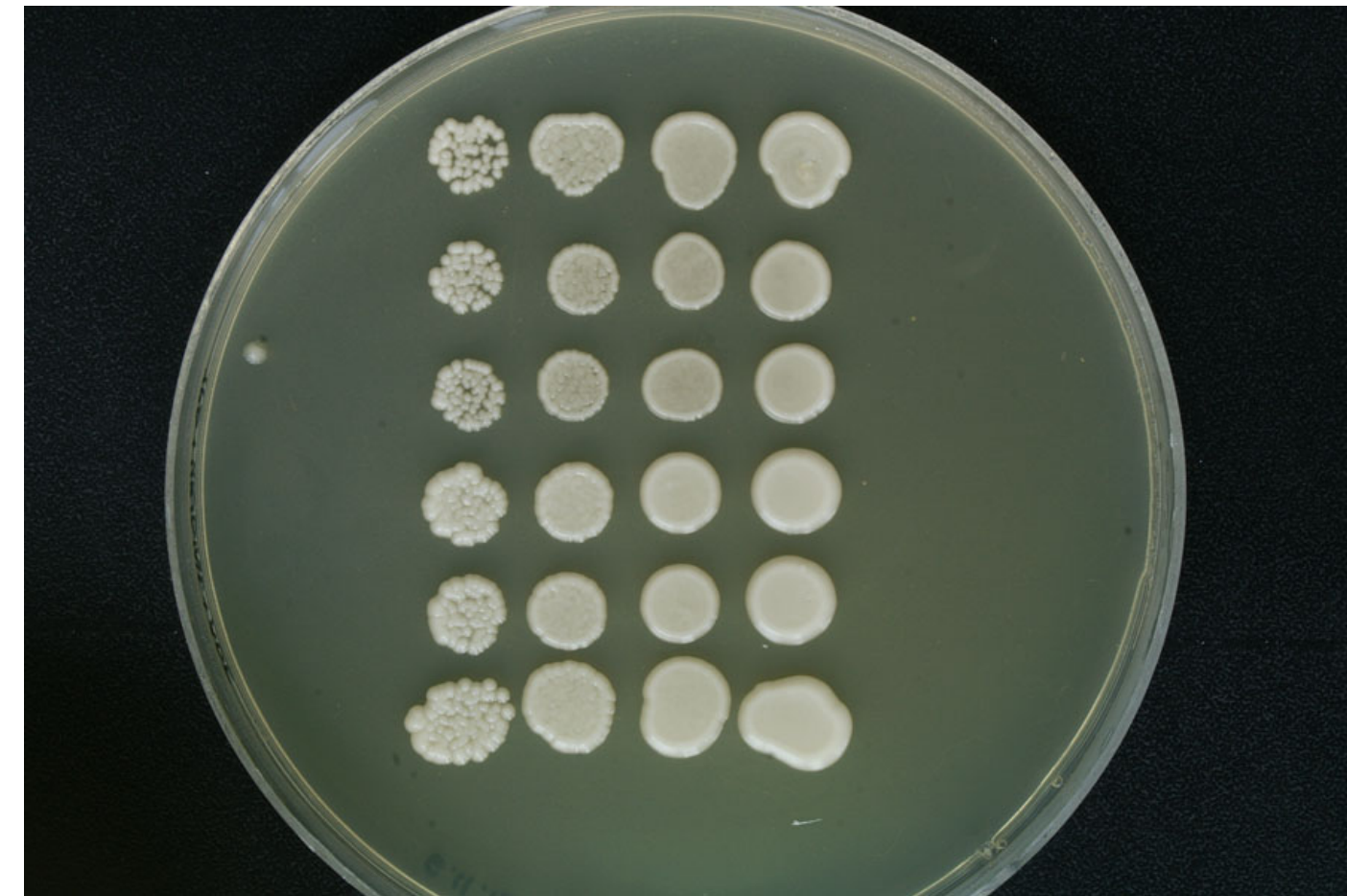


Różne drożdże

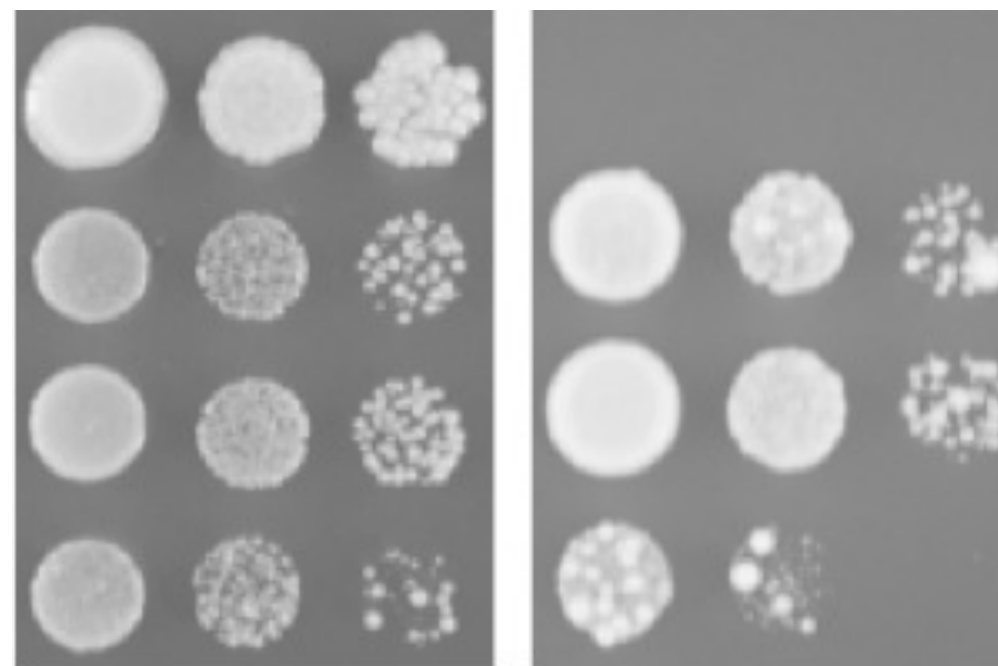
W laboratorium wyglądają podobnie



S. cerevisiae



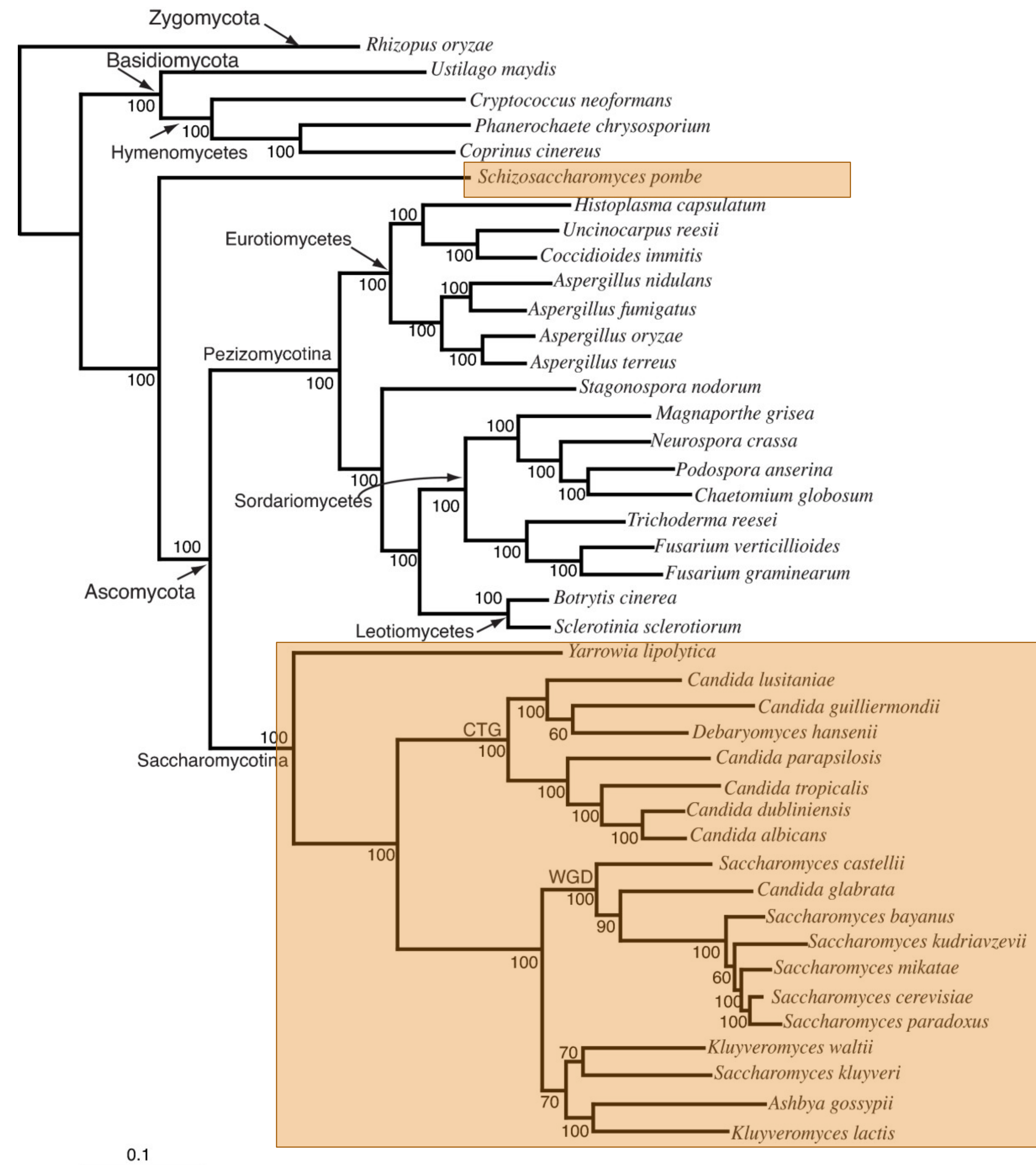
C. albicans



S. pombe

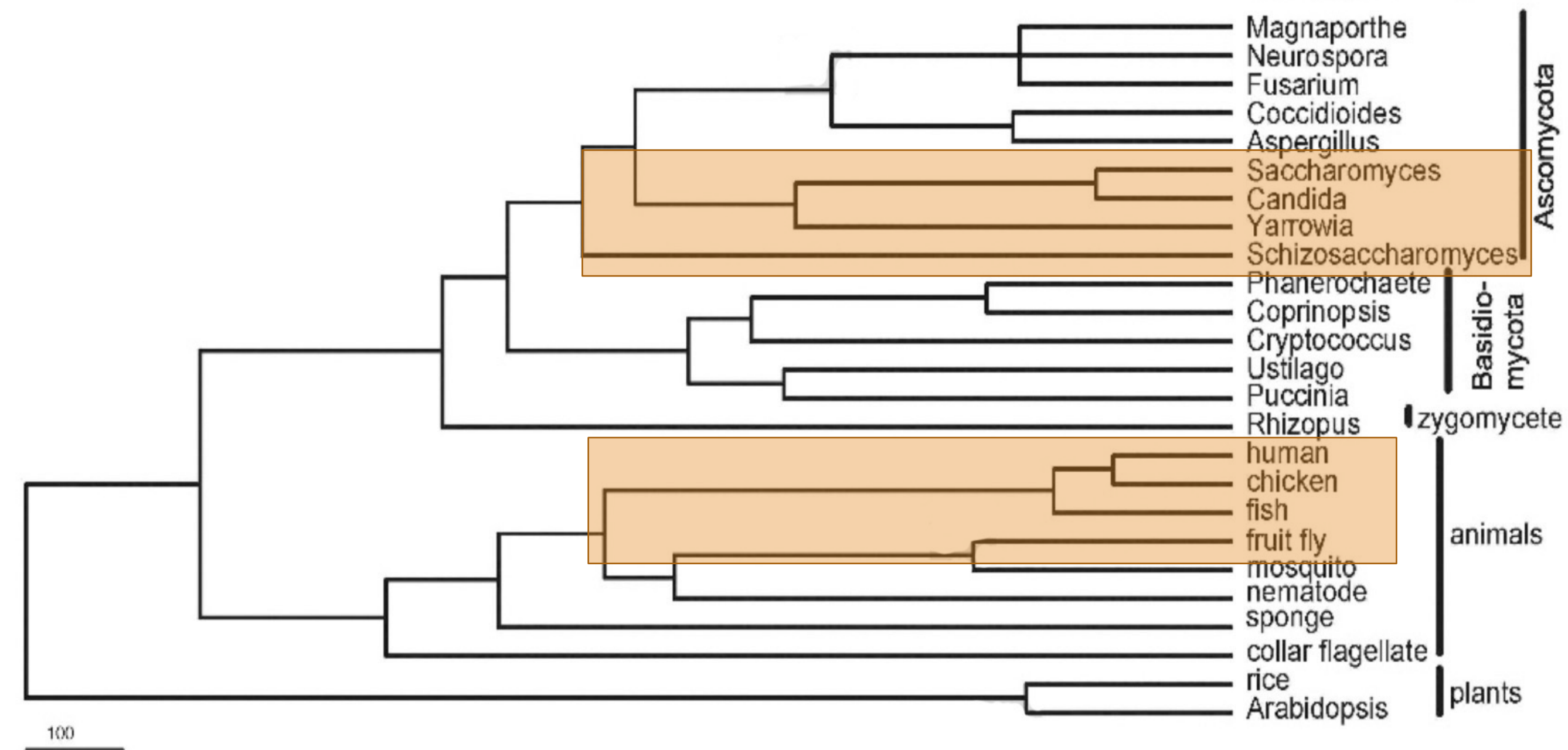
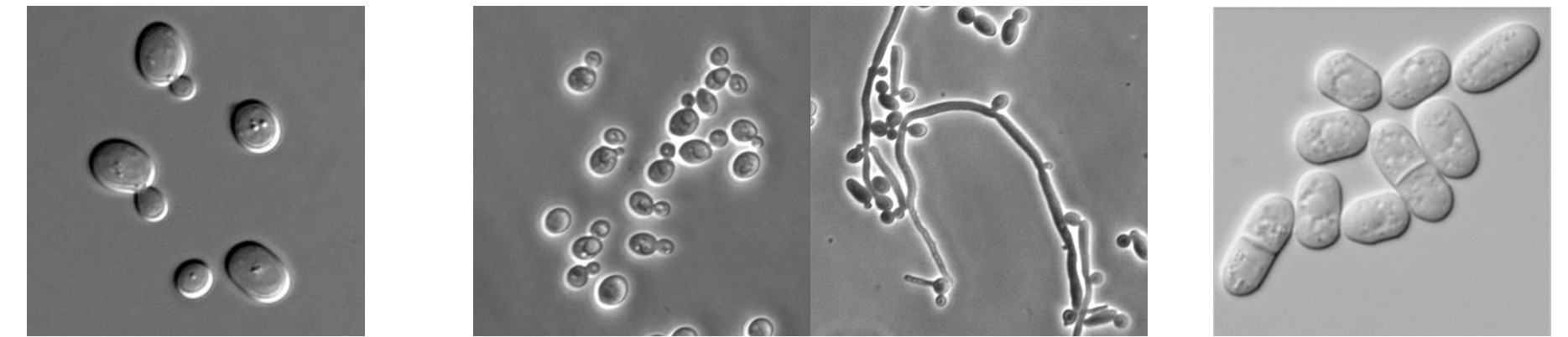
Różnorodność drożdży

- Drożdże są starą i zróżnicowaną grupą



Różnorodność drożdży

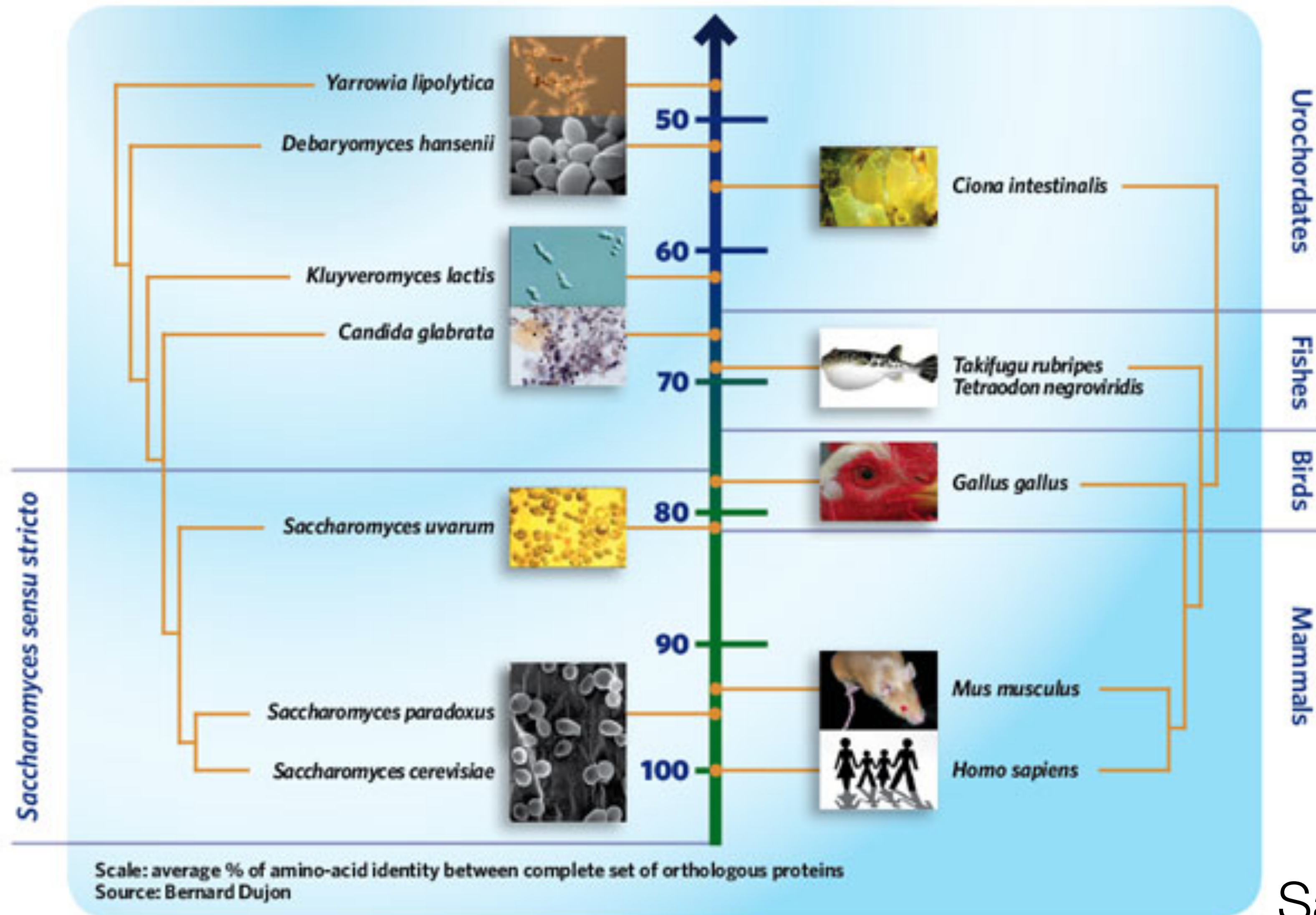
- Odległość od *Saccharomyces* do *Schizosaccharomyces* podobna jak człowiek – *Drosophila*
- Odległość *Saccharomyces* do *Candida albicans* jak między różnymi gromadami kręgowców



Taylor and Berbee, *Mycologia* 2006 98:838-49



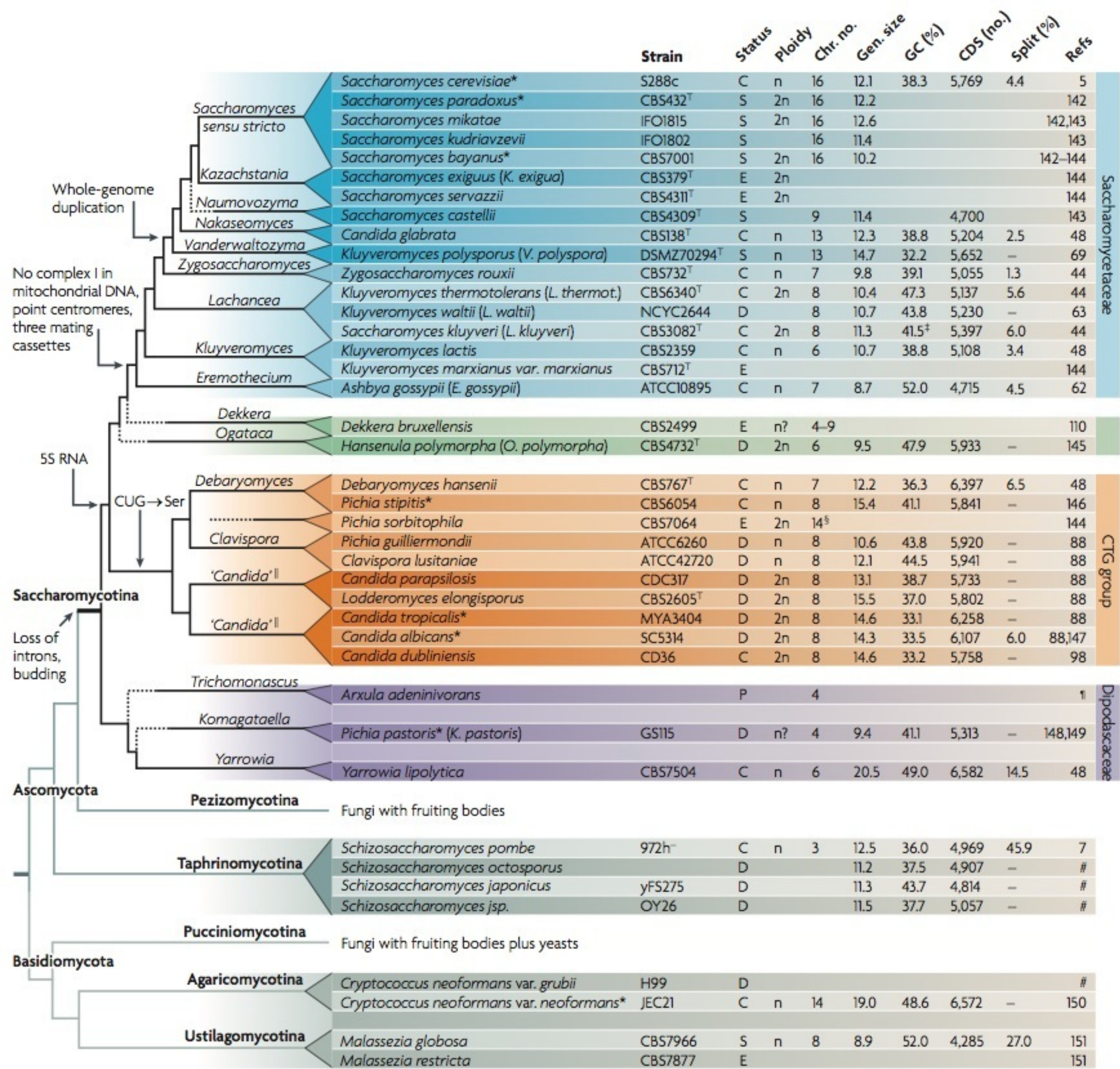
Różnorodność drożdży



Saccharomycotina a strunowce

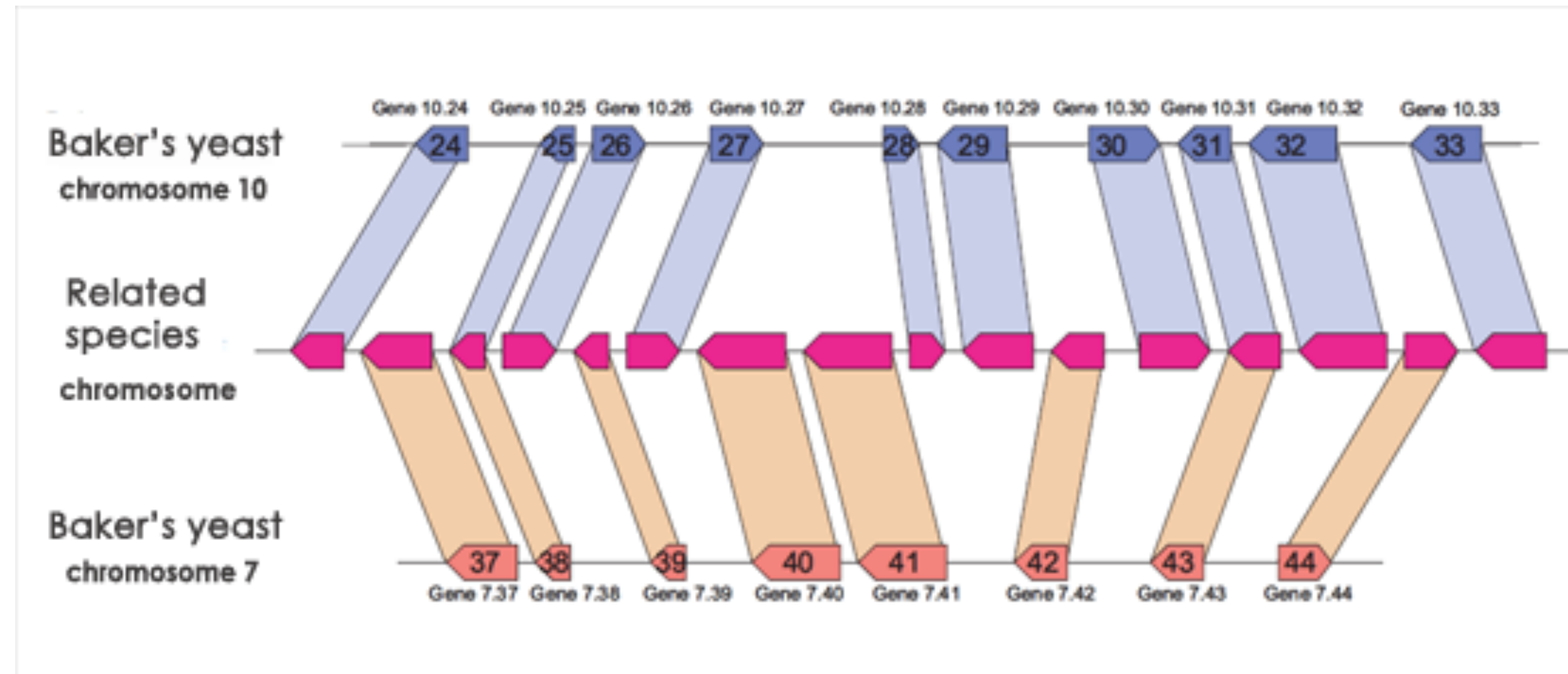
Genomika ewolucyjna drożdży

- Znane są sekwencje genomów wielu gatunków drożdży
- Wydarzenia ewolucyjne
 - utrata intronów
 - duplikacja całego genomu
- *S. cerevisiae* jest gatunkiem wysoce wyspecjalizowanym i nietypowym



Duplikacja genomu - efekty

- Gatunki przed WGD - 8 chromosomów
- Po WGD - 16 chromosomów
- Większość zduplikowanych genów zaniknęła
- Ale wiele paralogów po WGD odpowiada za specyfikę metabolizmu *Saccharomyces sp.* (fermentacja)

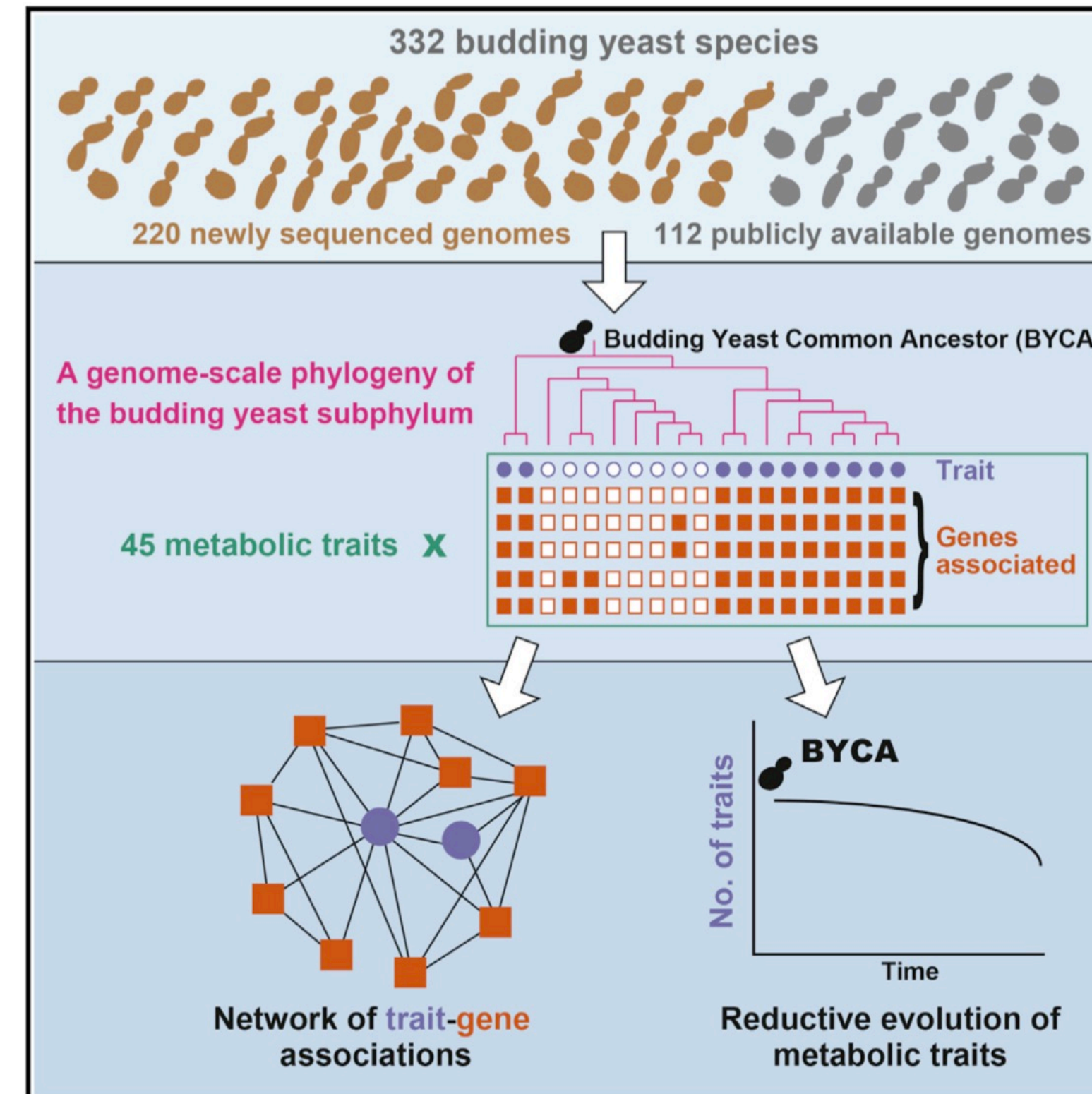


Ewolucja Saccharomycotina

- Na podstawie sekwencji 332 genomów (ok. 1/3 znanych gatunków)
- Odtworzenie cech metabolizmu wspólnego przodka (złożony, wiele cech)
- Ewolucja przez redukcję repertuaru cech metabolicznych w wyspecjalizowanych liniach

Tempo and Mode of Genome Evolution in the Budding Yeast Subphylum

Graphical Abstract



Authors

Xing-Xing Shen, Dana A. Opulente, Jacek Kominek, ..., Cletus P. Kurtzman, Chris Todd Hittinger, Antonis Rokas

Correspondence

cthittinger@wisc.edu (C.T.H.),
antonis.rokas@vanderbilt.edu (A.R.)

In Brief

An integrated phylogeny of over 300 budding yeast species encompasses the natural diversity and history of diversification of Saccharomycotina with insights into a metabolically complex common ancestor and common reductive evolution leading to metabolic specialization.

Shen et al., 2018, Cell 175, 1–13
November 29, 2018 © 2018 Elsevier Inc.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.10.023>

S. cerevisiae jako organizm modelowy

- Łatwa hodowla i testy fenotypowe
- Fizjologia typowa dla mikroorganizmów
- Bezpieczne i nieszkodliwe dla środowiska
- Dobrze poznana genetyka klasyczna (analiza tetrad, mapy)
- Łatwe manipulacje genetyczne (“odwrotna genetyka”, plazmidy)
- Stabilna faza haploidalna oraz diplodialna
- Znana od 1996 sekwencja genomu (12,5 Mb)

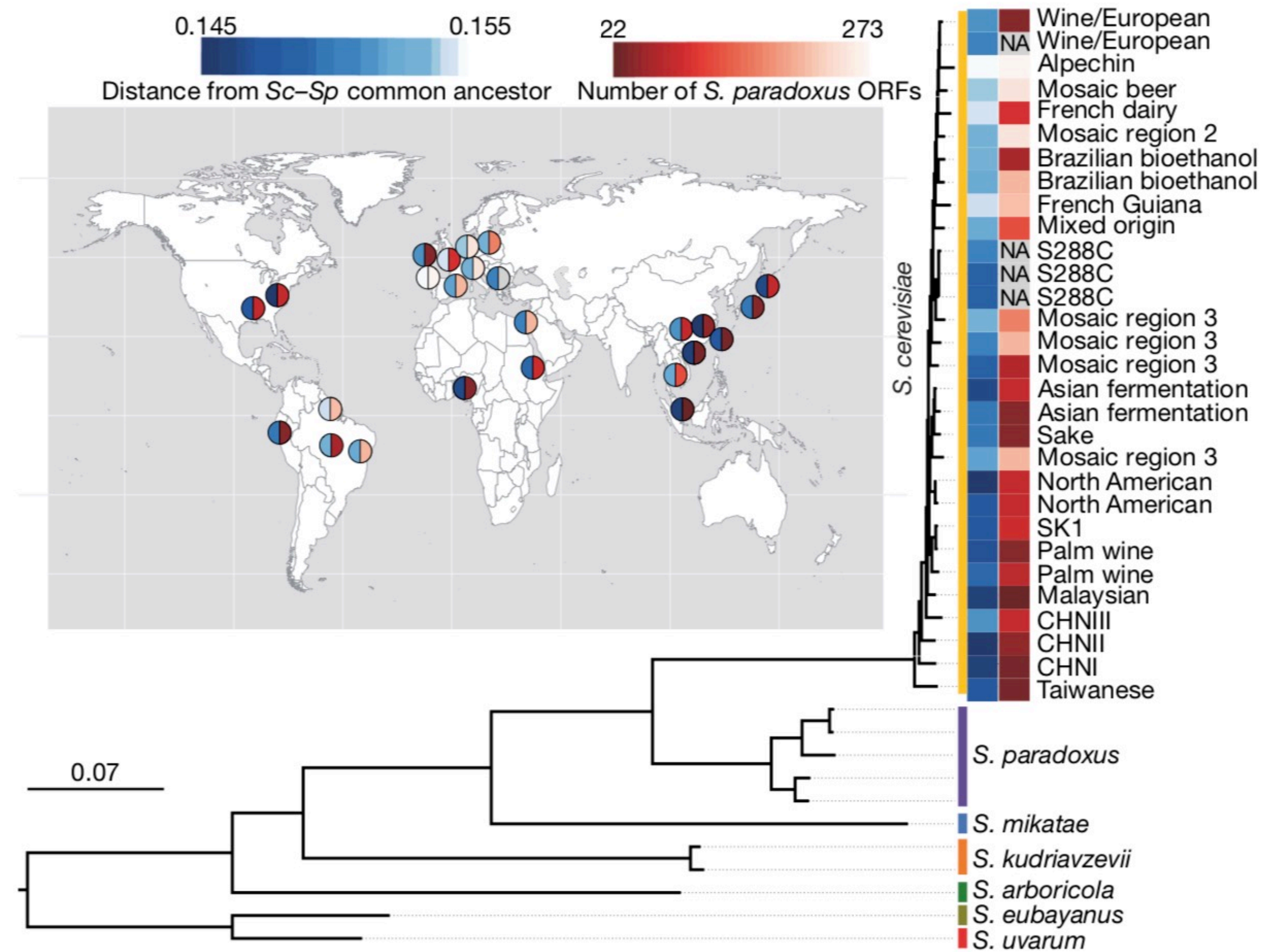
Skąd pochodzi *S. cerevisiae*?

- Analiza sekwencji genomów 1011 szczepów wskazuje na pochodzenie z Chin

Genome evolution across 1,011 *Saccharomyces cerevisiae* isolates

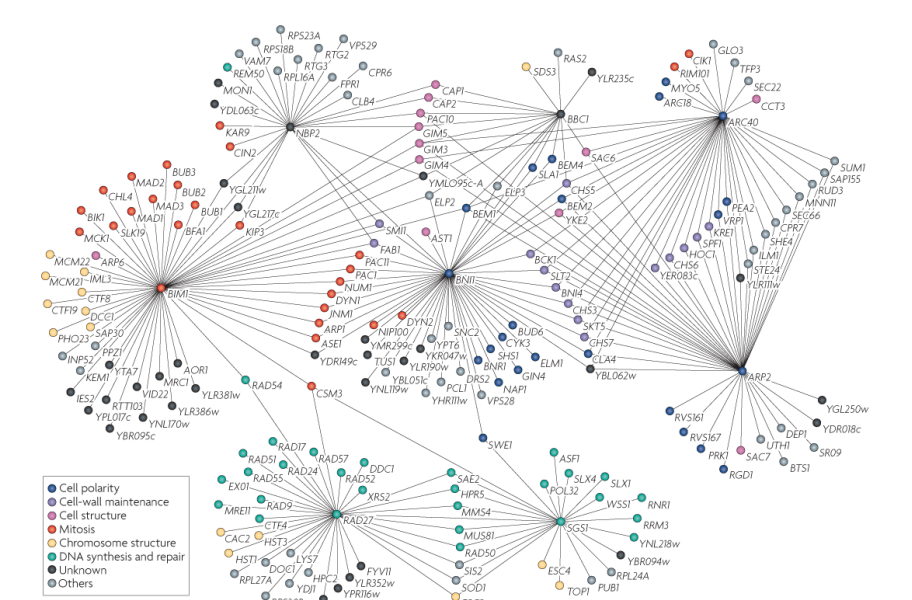
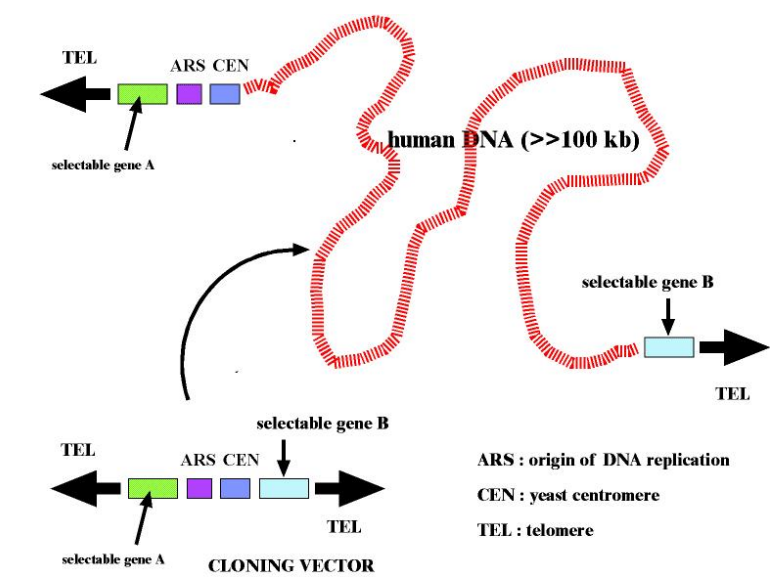
Jackson Peter^{1,6}, Matteo De Chiara^{2,6}, Anne Friedrich¹, Jia-Xing Yue², David Pflieger¹, Anders Bergström², Anastasie Sigwalt¹, Benjamin Barre², Kelle Freel¹, Agnès Llored², Corinne Cruaud³, Karine Labadie³, Jean-Marc Aury³, Benjamin Istace³, Kevin Lebrigand⁴, Pascal Barbry⁴, Stefan Engelen³, Arnaud Lemainque³, Patrick Wincker^{3,5,7}, Gianni Liti^{2,7*} & Joseph Schacherer^{1,7*}

19 APRIL 2018 | VOL 556 | NATURE | 339

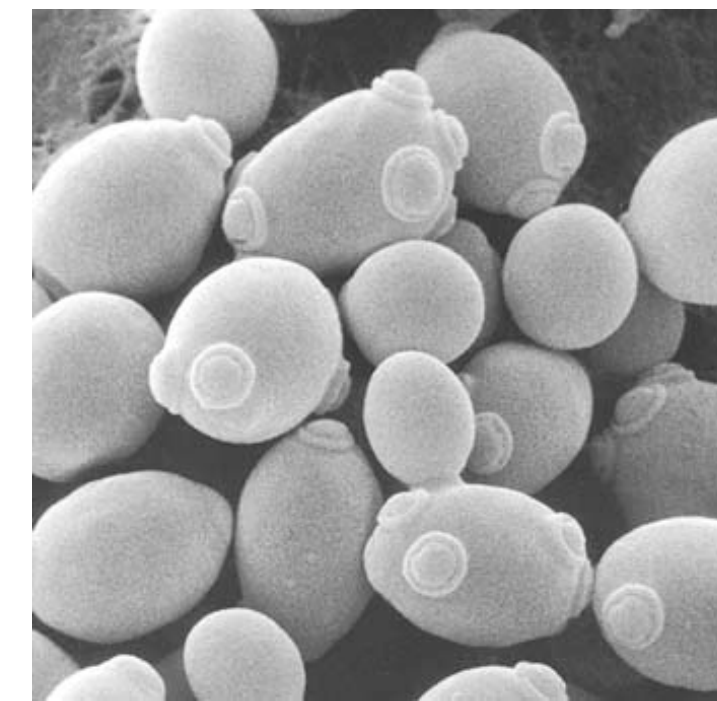
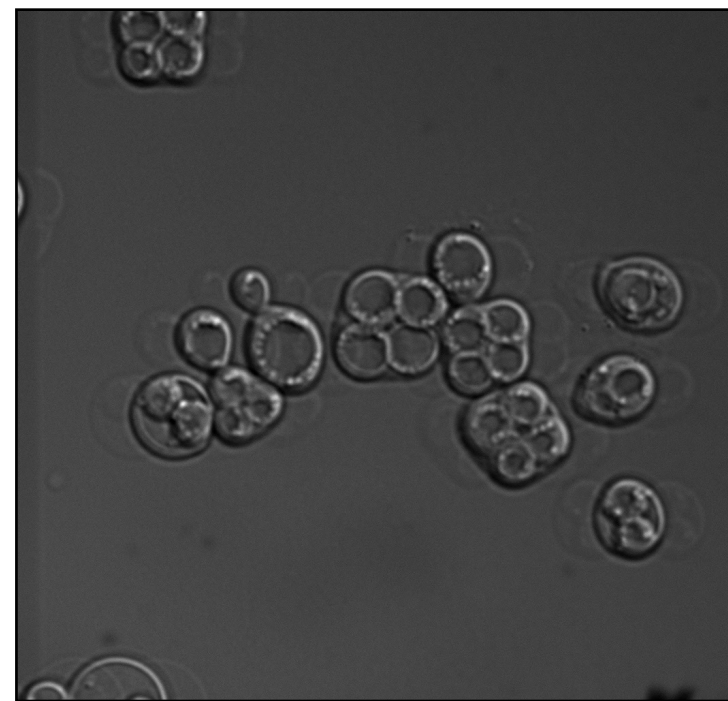
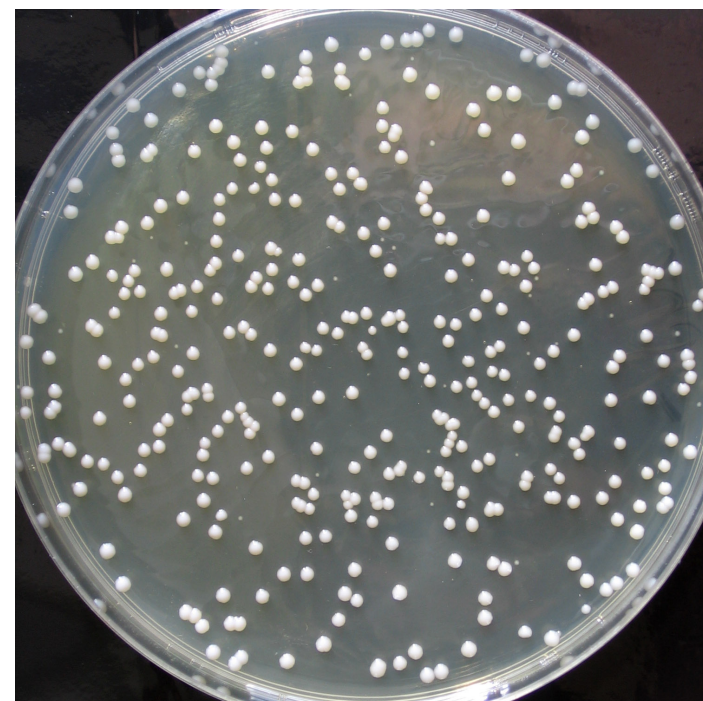
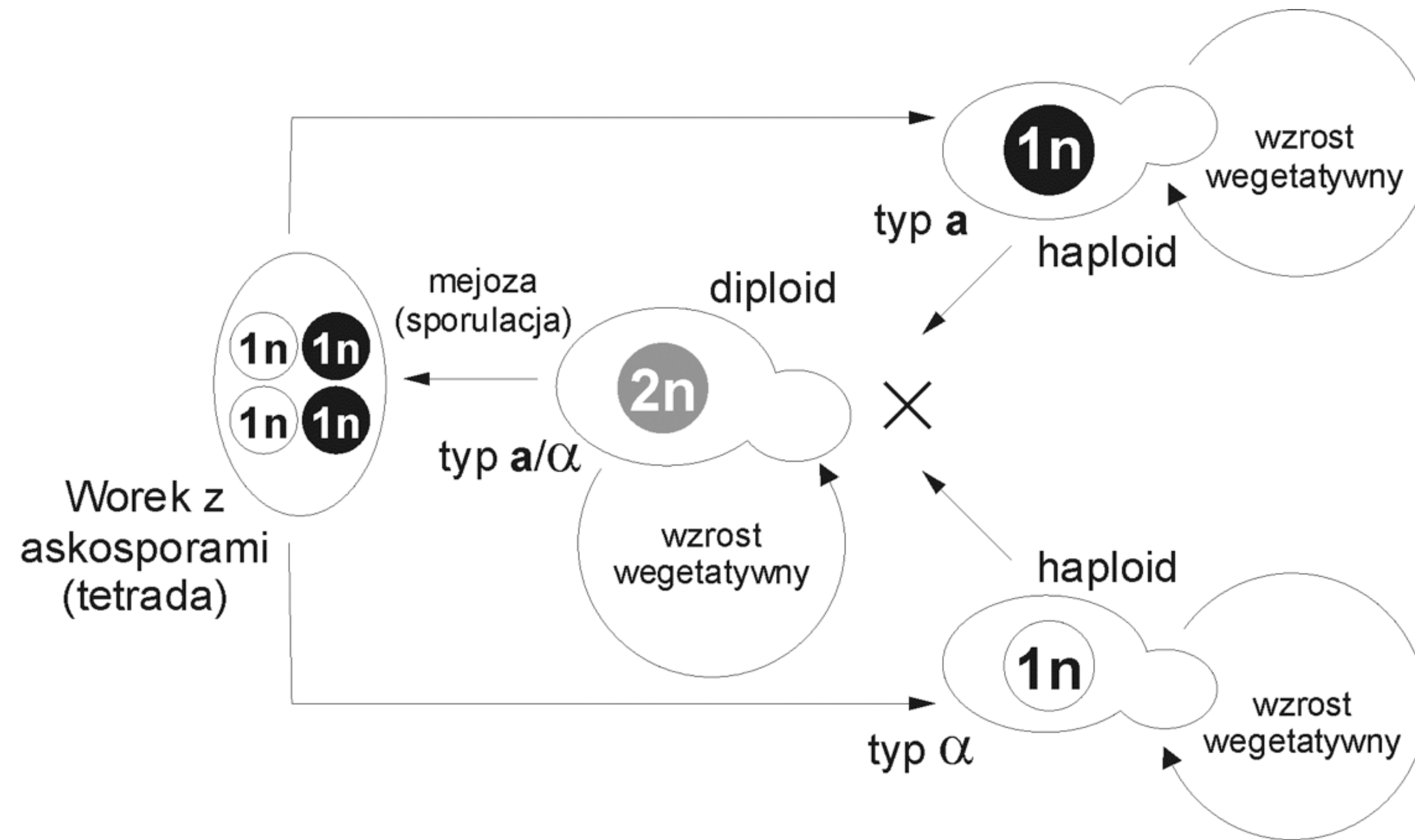


S. cerevisiae - zastosowania

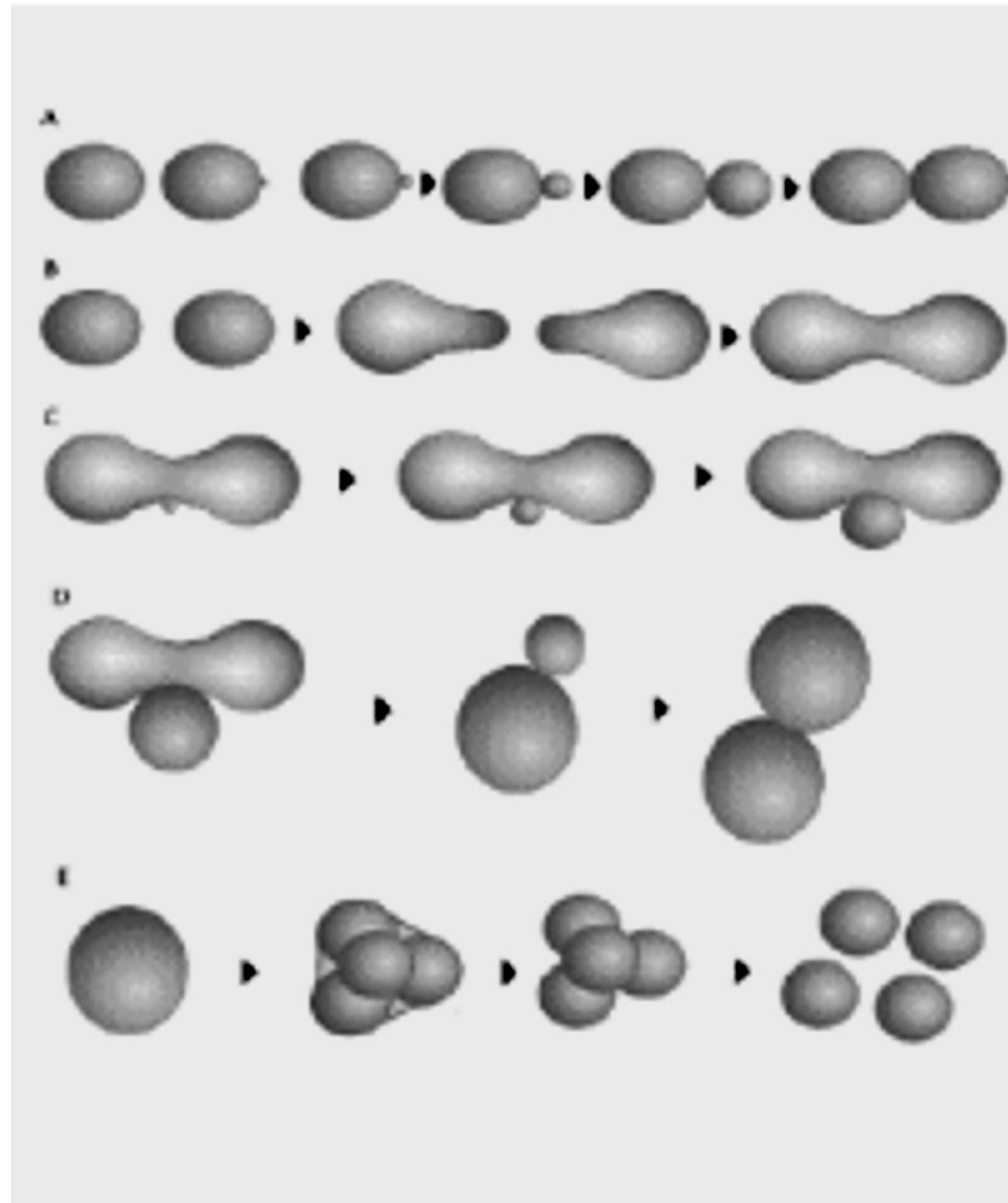
- Codzienna biotechnologia
 - piekarnictwo, fermentacja alkoholowa
- Zaawansowana biotechnologia
 - Systemy klonowania, w tym sztuczne chromosomy
 - Systemy ekspresji białek (też *Pichia sp.*)
- Badania podstawowe
 - genetyka klasyczna i molekularna
 - biologia komórki, biochemia
 - genomika, biologia systemów



Saccharomyces cerevisiae



S. cerevisiae – cykl życiowy



Pączkowanie (mitoza)

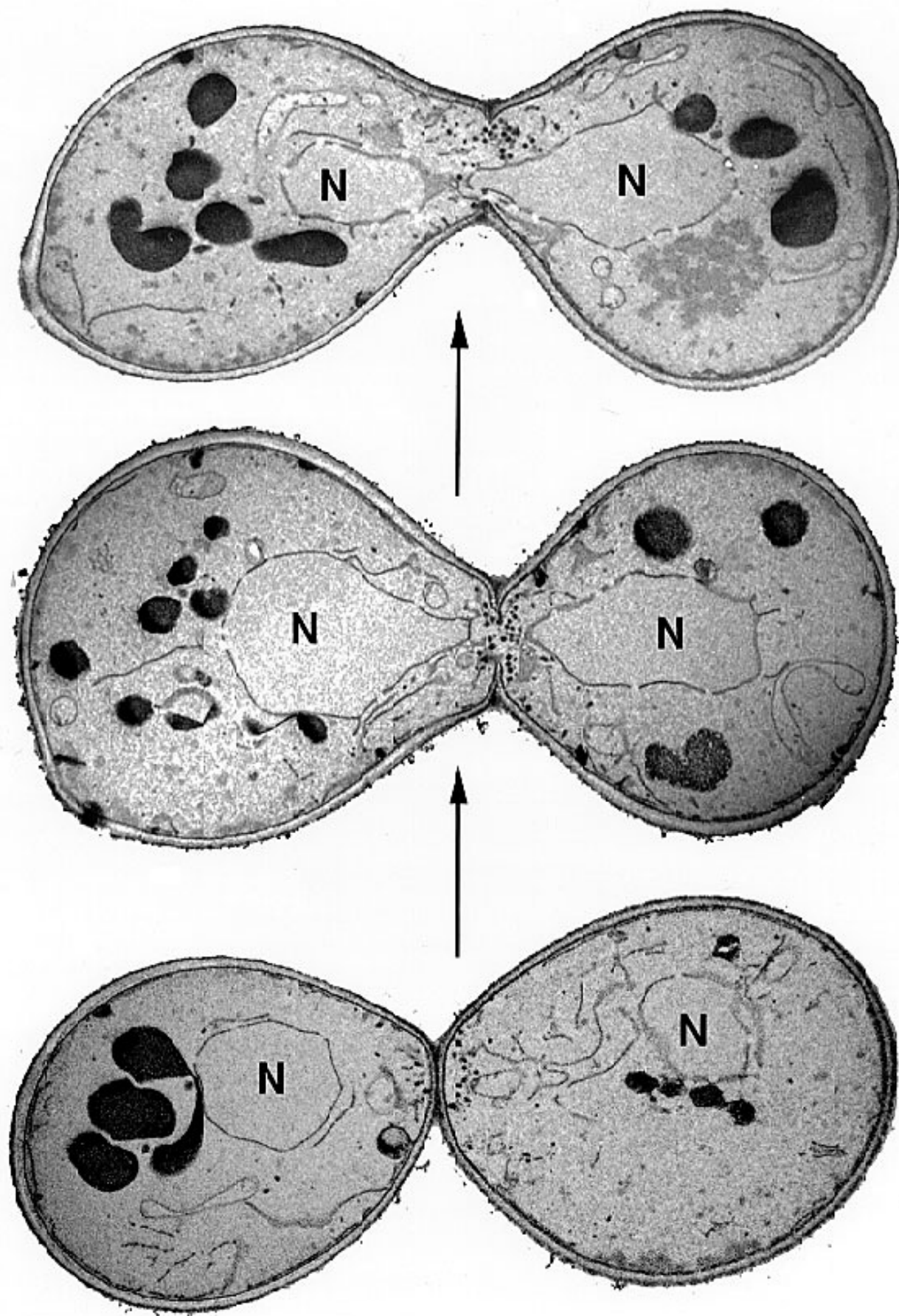
Koniugacja

1. pączkowanie zygoty po koniugacji

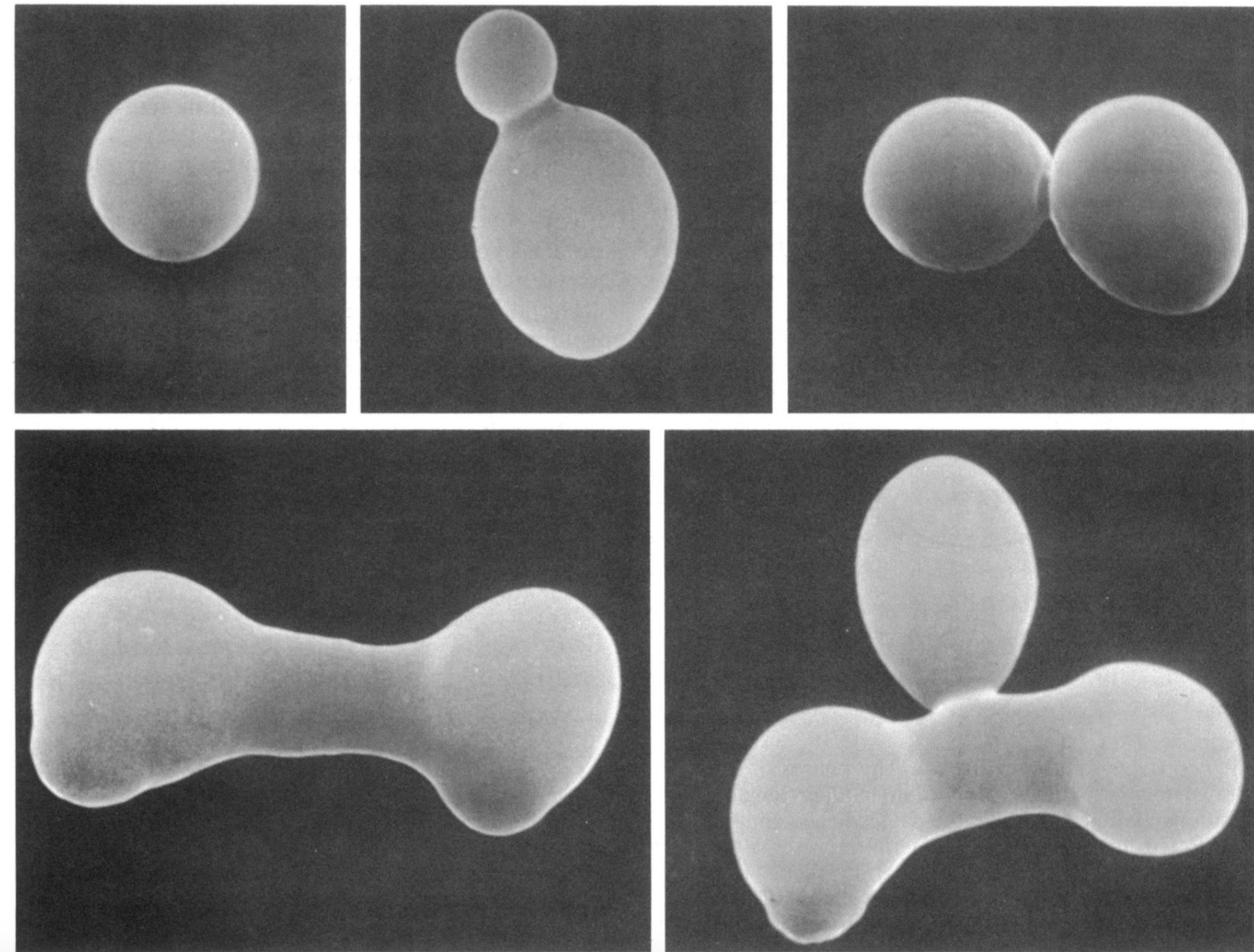
Sporulacja

S. cerevisiae – cykl życiowy

Pączkowanie (mitoza)



Koniugacja



Zygota

1. pączkowanie zygoty
po koniugacji

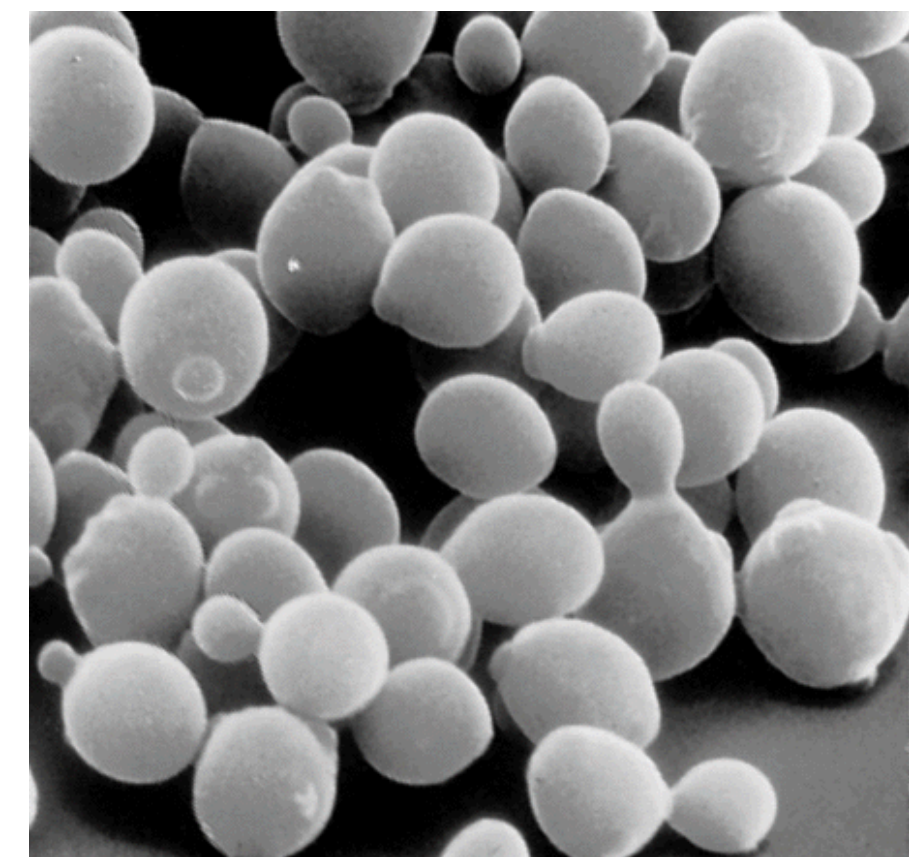
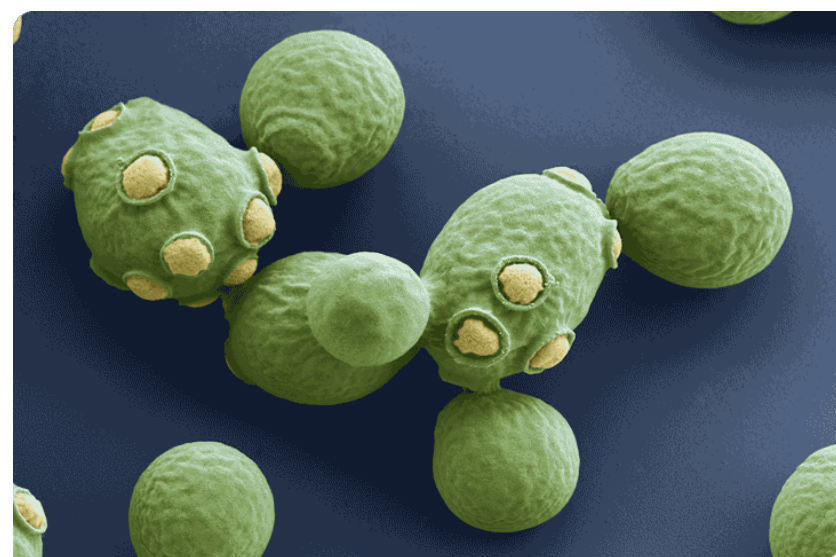
Hershkovitz, 1988,
Microb Rev, 52:536-53

Mutacja *Kar1-1*

- Blokuje kariogamię - łączenie jąder po koniugacji
- Tworzy się “zygota” $n + n$
- Podział odtwarza haploidalne komórki
- Dochodzi do wymieszania zawartości cytoplazm
- Stosowane do przenoszenia elementów cytoplazmatycznych z tła jednego genomu jądrowego do innego
 - mitochondria i mtDNA (cytodukcja)
 - elementy prionowe

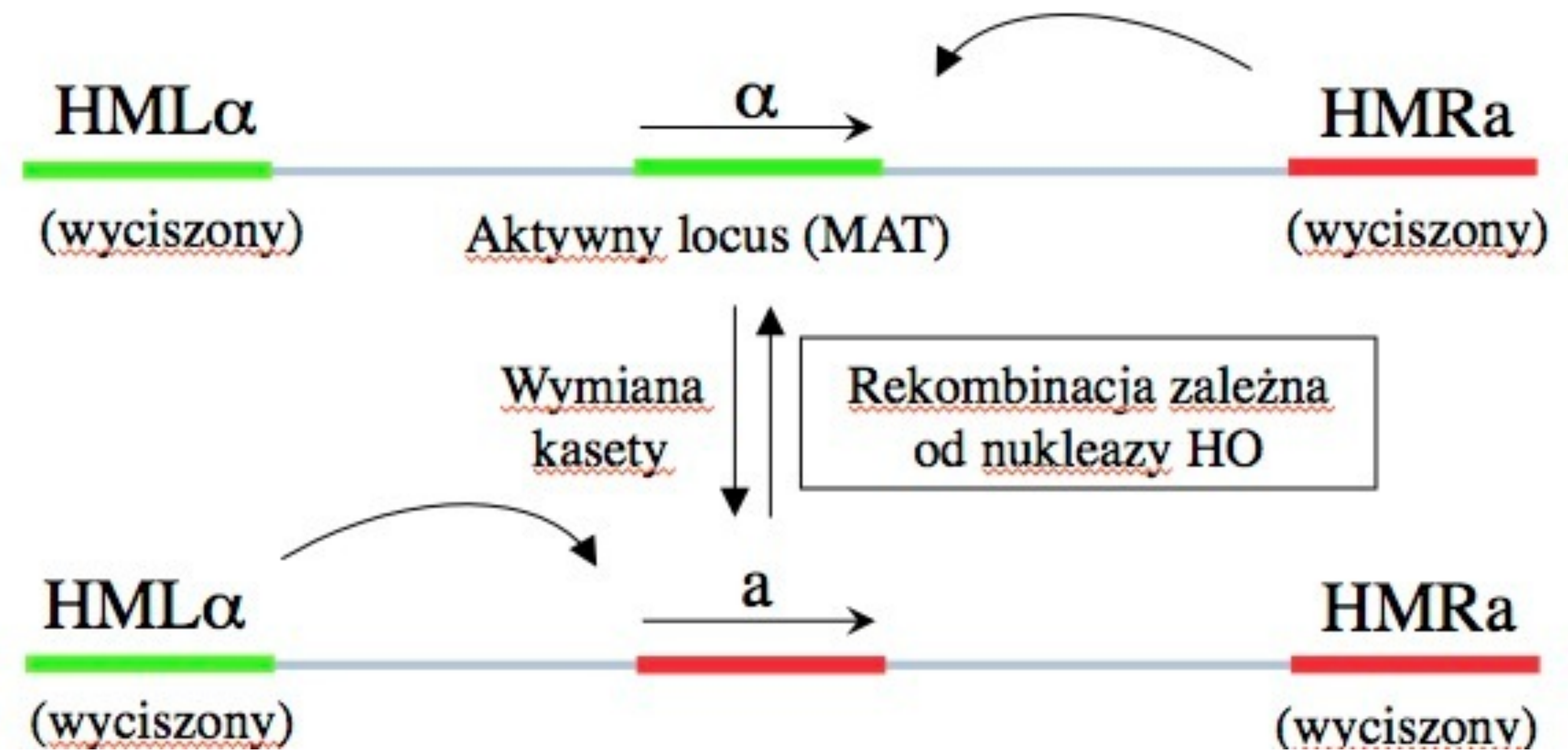
S. cerevisiae – rozmnażanie przez mitozę

- Zarówno komórki haploidalne, jak i diploidalne rozmnażają się wegetatywnie
- Czas generacji (w bogatym podłożu): ~ 100 minut
- Podział asymetryczny – pączkowanie
- Liczba podziałów komórki – matki ograniczona (25-30) – tzw. starzenie replikatywne

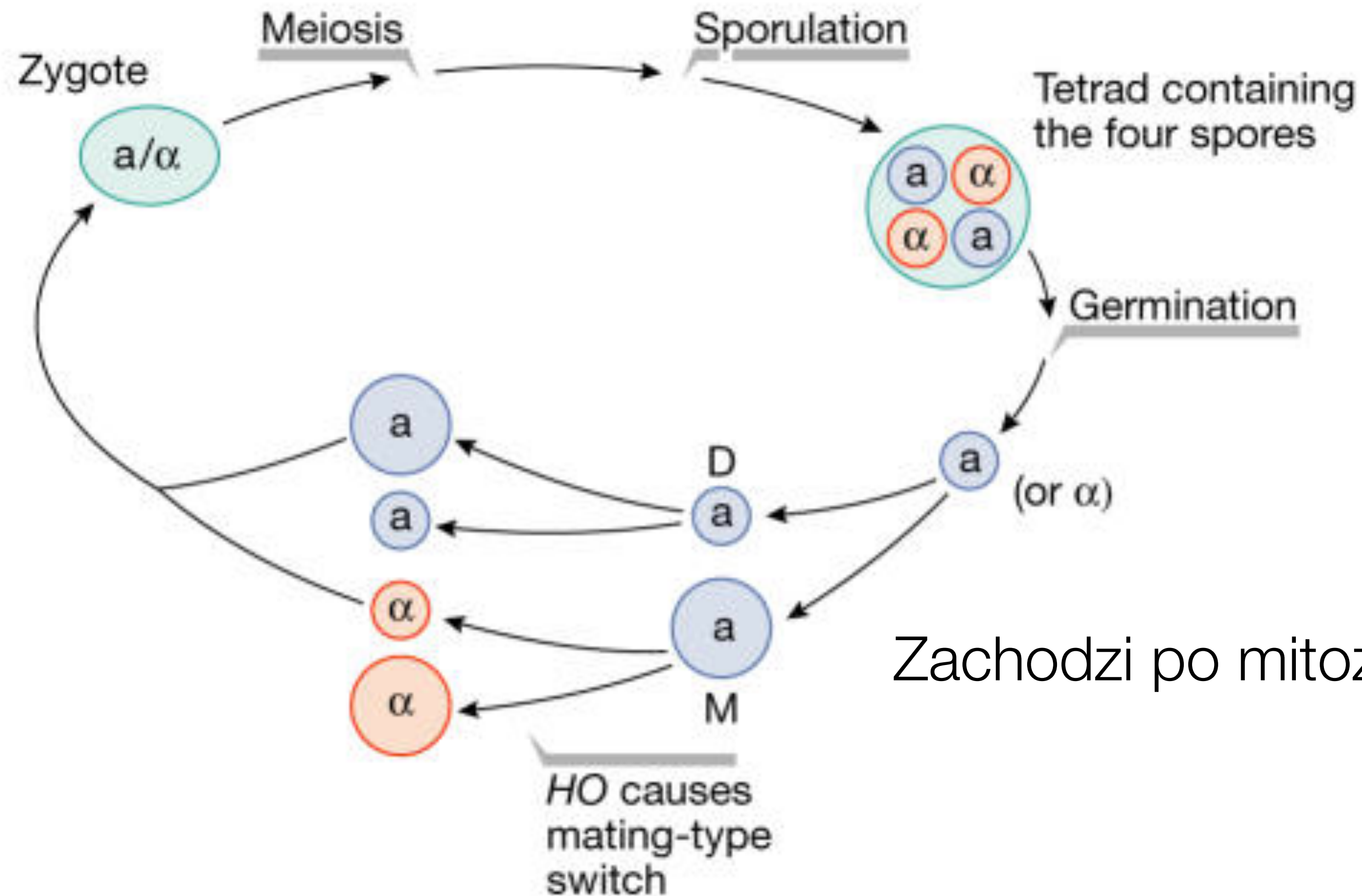


S. cerevisiae –typy płciowe

- Dwa typy płciowe α i a determinowane przez allele locus MAT
- W dzikich szczepach możliwe przełączenie typu płciowego
- mechanizm: konwersja genu przez rekombinację umiejscowioną, zależna od endonukleazy HO



Przełączenie typu płciowego



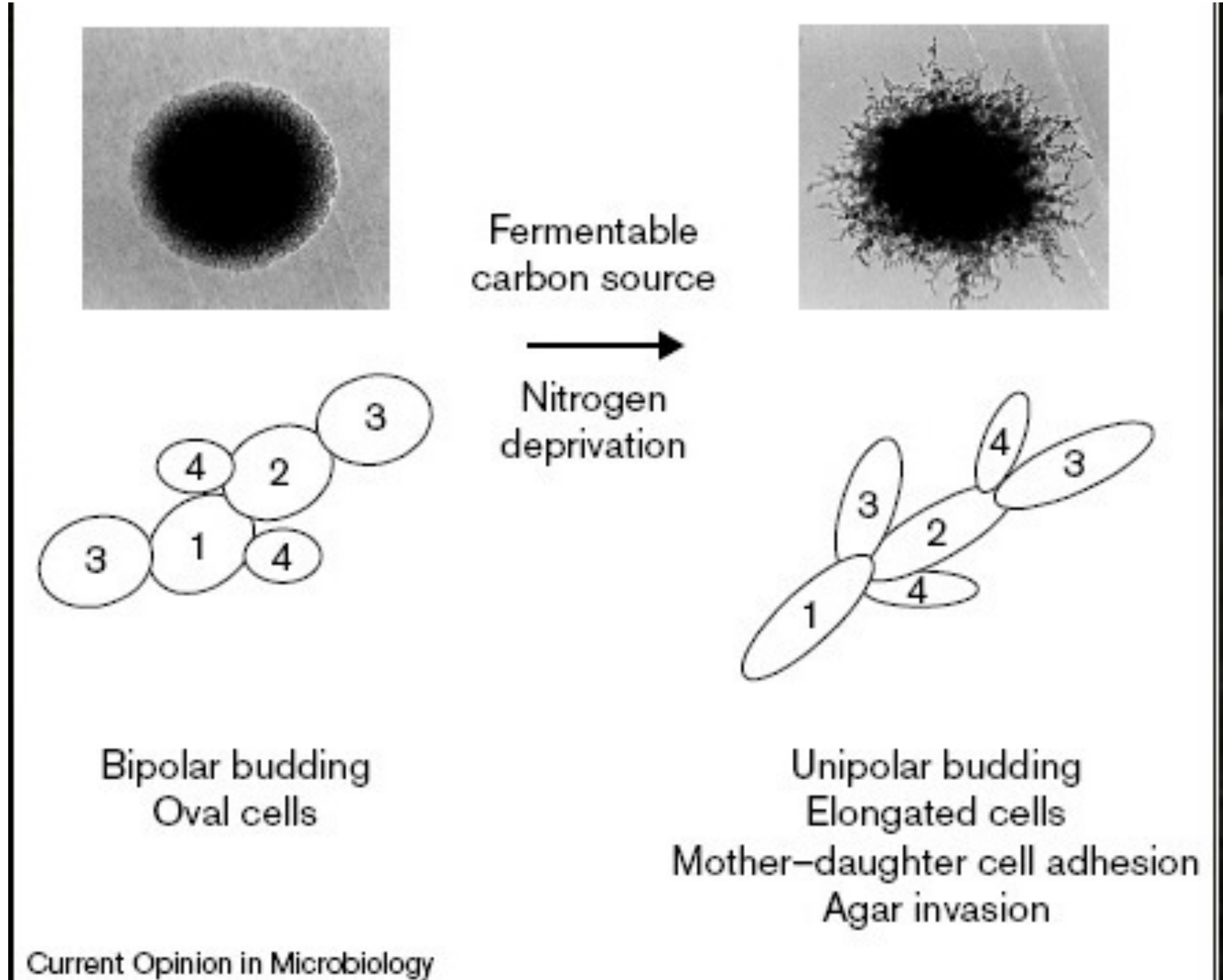
Zachodzi po mitozie, tylko w komórce matce

Typy płciowe w praktyce

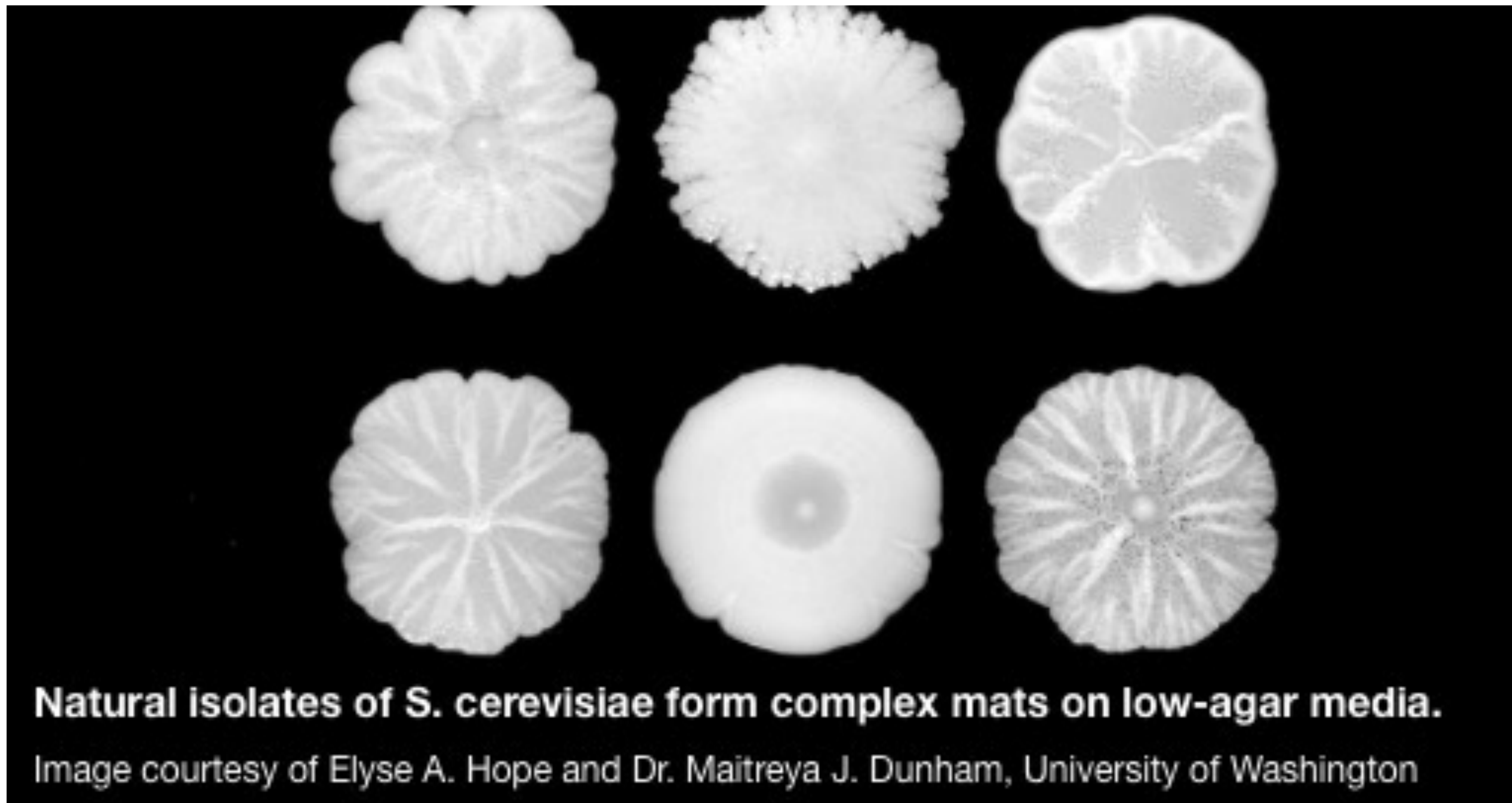
- Przełączanie typu płciowego w dzikich szczepach powoduje, że nie da się utrzymać linii haploidalnych
- Szczepy laboratoryjne mają nieaktywną nukleazę HO i nie są zdolne do przełączania typu płciowego
- Można wprowadzić gen *HO* na plazmidzie i zaindukować zmianę typu płciowego

Inne modyfikacje w szczepach laboratoryjnych

- Dzikie szczepy (2n) tworzą w pewnych warunkach pseudostrzępki (*pseudohyphae*)
 - nie dochodzi do rozdzielania się komórki
 - matki od pączka
- Flokulacja – tworzenie agregatów komórek
- Większość szczepów laboratoryjnych nie flokuluje (mutanty *flo*) i nie tworzy pseudostrzępek, co ułatwia izolację pojedynczych klonów i transformację



Dzikie drożdże



Narzędzia genetyki drożdżowej - auksotrofie

- Dzikie szczepy to prototrofy, zdolne do fermentacji lub oddychania tlenowego
- markery
 - auksotrofie (leu, his, ura, trp, met, lys, ade)
 - zwykle wiele różnych genów: np. *ade1* i *ade2* albo *his1* i *his3*
 - współcześnie stosowane szczepy – mutanty delecyjne (nie ma problemu rewersji)

Markery oporności

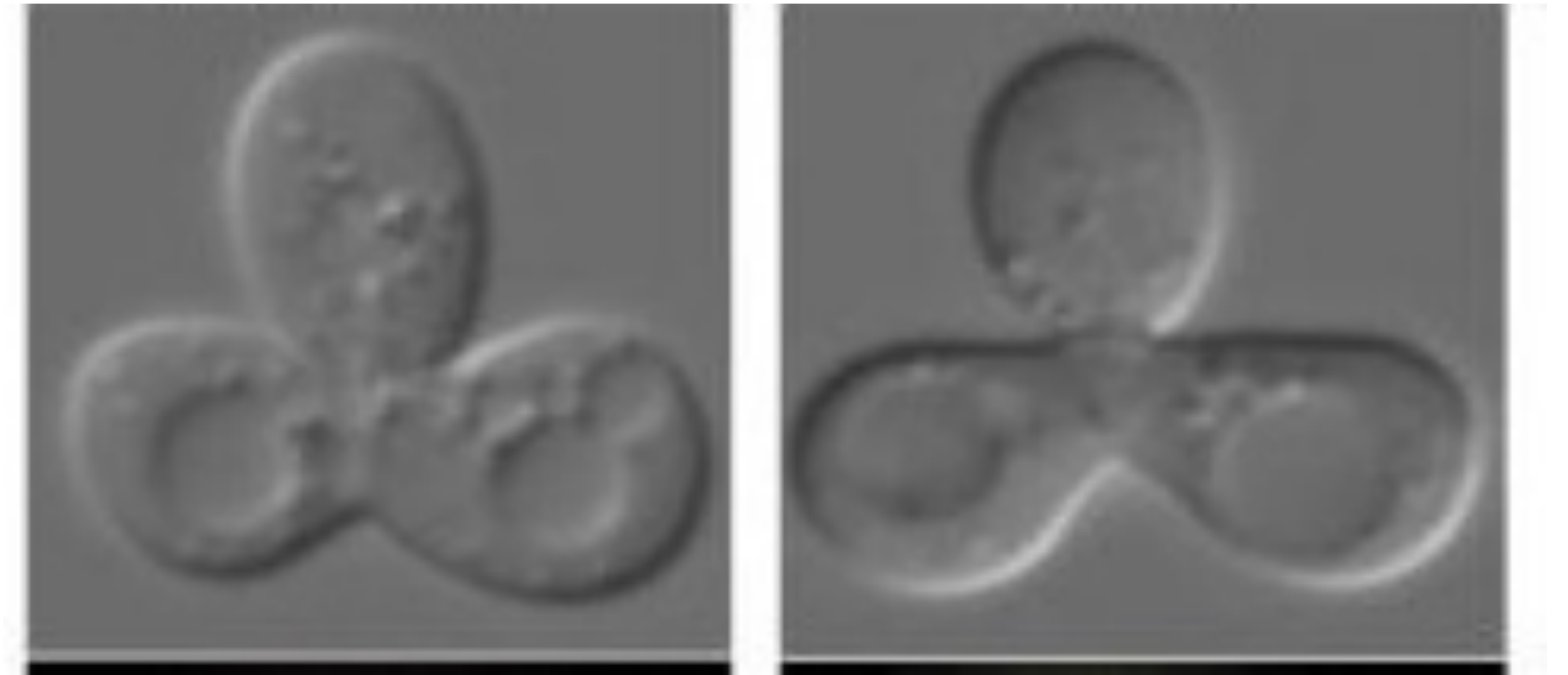
- G418 (genetycyna), nurseotrycyna itp. – geny nadające oporność nie pochodzą z drożdży (bakteryjne)
- oligomycyna, erytromycyna, chloramfenikol, paromamycyna – oporność nadają mutacje w genomie mitochondrialnym

Narzędzia genetyki drożdżowej

- Podłoża selekcyjne
 - kompletne (YP – ekstrakt drożdżowy + pepton)
 - + różne źródła węgla, fermentowalne (glukoza) i niefermentowalne (glicerol, mleczan, etanol)
 - minimalne (sole nieorganiczne, źródło azotu, źródło węgla)
 - syntetyczne kompletne (tzw. dropout) – minimalne z szeregiem uzupełnień, pozbawiane konkretnego składnika
 - np. SC –leu (wszystko oprócz leucyny)
- z antybiotykami (zwykle kompletne)

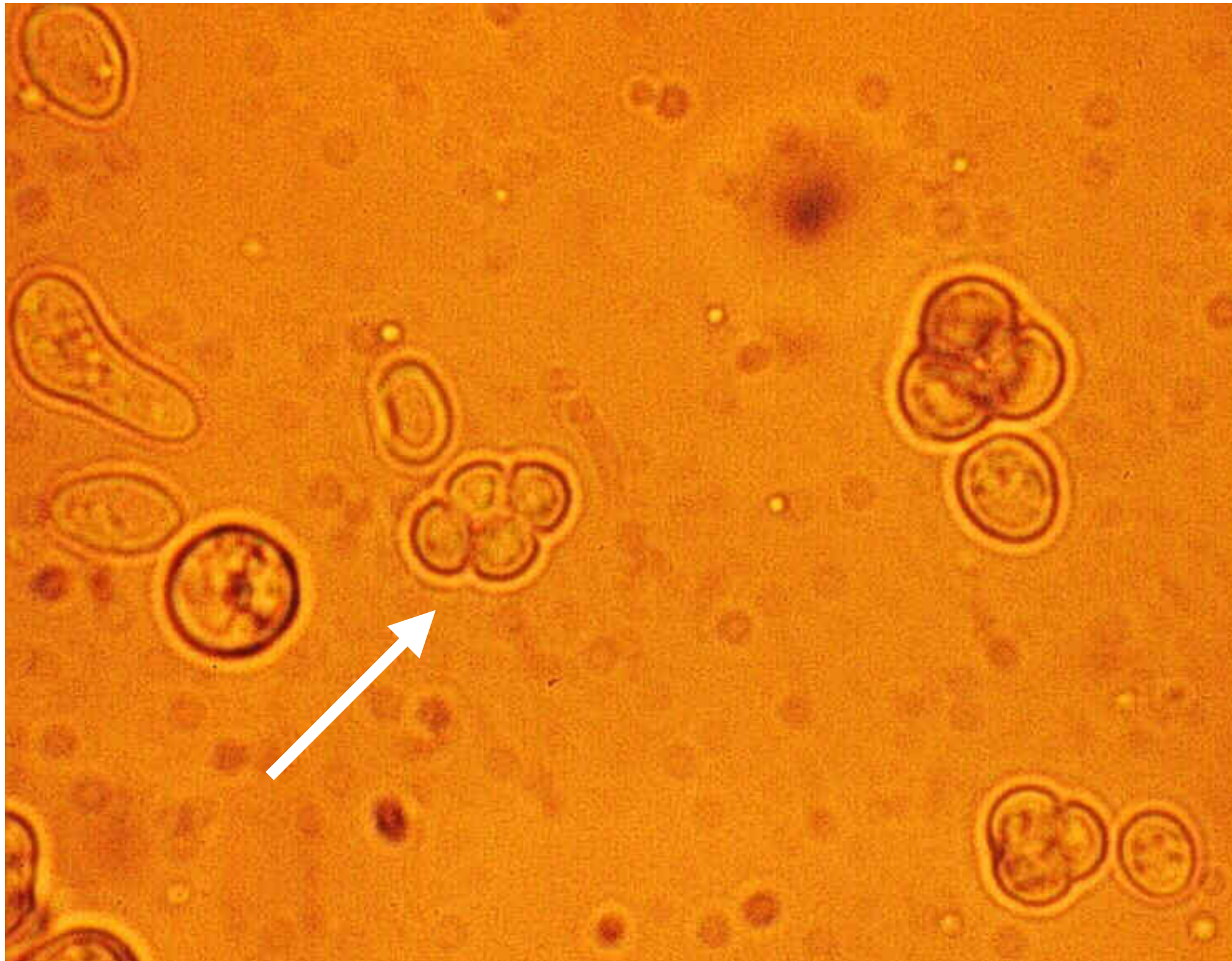
Narzędzia genetyki drożdżowej

- Krzyżowanie – wystarczy hodować szczepy a i α razem
- Selekcja diploidów – za pomocą markerów (komplementacja) albo przez mikromanipulację
- Sporulacja diploidów (specjalne ubogie podłoże)
- Analiza tetrad (mikromanipulacja)



zygoty w trakcie 1. podziału

Analiza tetrad



www.phys.ksu.edu



Singer Instruments

Analiza tetrad

Tetrad	Spore	MAT	leu	ura	his
1	A	a	+	+	-
1	B	alpha	+	-	+
1	C	a	-	-	-
1	D	alpha	-	+	+
2	A	a	-	-	-
2	B	a	+	+	+
2	C	alpha	+	-	+
2	D	alpha	-	+	-



Allele pojedynczych genów segregują 2:2

Typy tetrad

Brak sprzężenia: PD = NPD,
PD:NPD:TT = 1:1:4

LEU2 his3 × *leu2 HIS3*

sprzężenie: PD>NPD

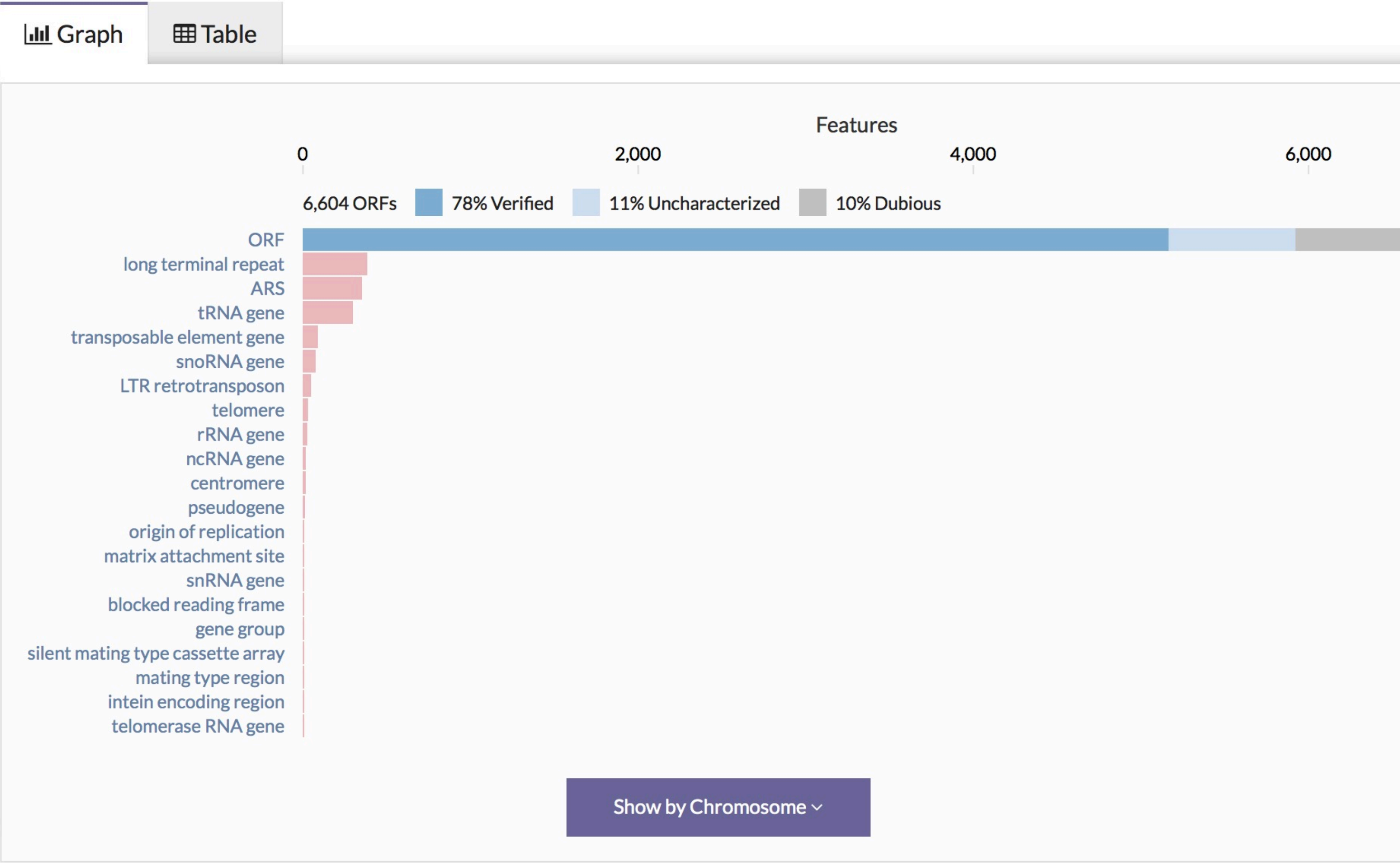
PD	NPD	TT
(parental ditype)	(non-parental ditype)	(tetratype)
<i>LEU2 his3</i>	<i>LEU2 HIS3</i>	<i>LEU2 his3</i>
<i>LEU2 his3</i>	<i>LEU2 HIS3</i>	<i>leu2 HIS3</i>
<i>leu2 HIS3</i>	<i>leu2 his3</i>	<i>leu2 his3</i>
<i>leu2 HIS3</i>	<i>leu2 his3</i>	<i>LEU2 his3</i>

Sztuka selekcji

- Dwie strategie izolowania mutantów drożdżowych (i nie tylko):
 - skринing (*screening*) – przeszukiwanie kolejno klonów, aż znajdzie się właściwy
 - repliki, hodowle w płytkach 96 i 384, roboty
- selekcja
 - zaprojektowana tak, by bezpośrednio wyselekcjonować pożądane klony

Genom *S. cerevisiae*

- Około 12,5 Mb
- *E. coli* – ~4,2 Mb; *Drosophila* ~160 Mb; człowiek ~3 000 Mb
- Około 6500 genów kodujących białka



Summary of Gene Ontology (GO) Annotations (as of 3/6/2017)

Genom *S. cerevisiae*

- Genom zwarty, oszczędnie upakowany
 - Introny bardzo nieliczne (~200, 4% genów) i krótkie
 - Sekwencje regulatorowe dosyć krótkie
 - ~70% genomu to sekwencje kodujące białka
 - niewiele elementów repetytywnych
 - 52 kopie transpozonu TY, ~250 pojedynczych LTR

Baza danych genomu drożdżowego

- SGD (Saccharomyces Genome Database) www.yeastgenome.org
- Bardzo kompletna i starannie utrzymywana
- Personel SGD utrzymuje m. in. standaryzację nazw genów, referencyjną sekwencję genomu, anotację funkcji itp.
- GO - *Gene Ontology* - system hierarchicznych terminów opisujących funkcje, procesy biologiczne, lokalizację

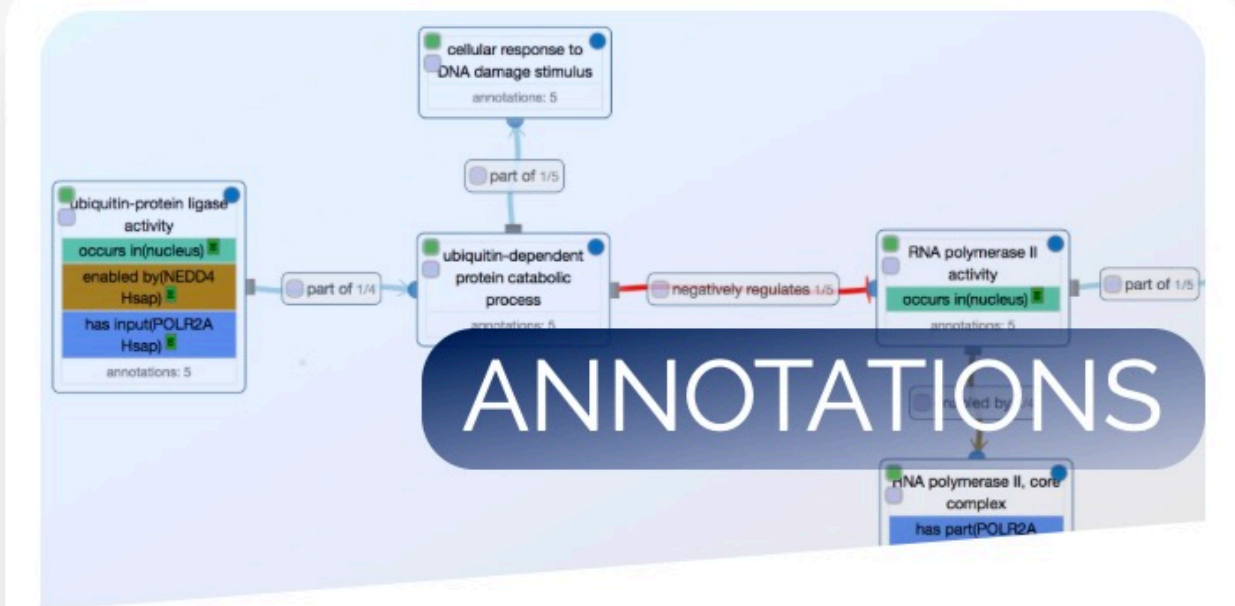
Standaryzacja

- Nomenklatura genów
 - gen: *ABC1*, mutant *abc1*, białko Abc1p
- Opis funkcji (GO - gene ontology)



The network of biological classes describing the current best representation of the “universe” of biology. The molecular functions, cellular locations, and processes gene products may carry out.

 [Browse Ontology](#)
 [Download Ontology](#)



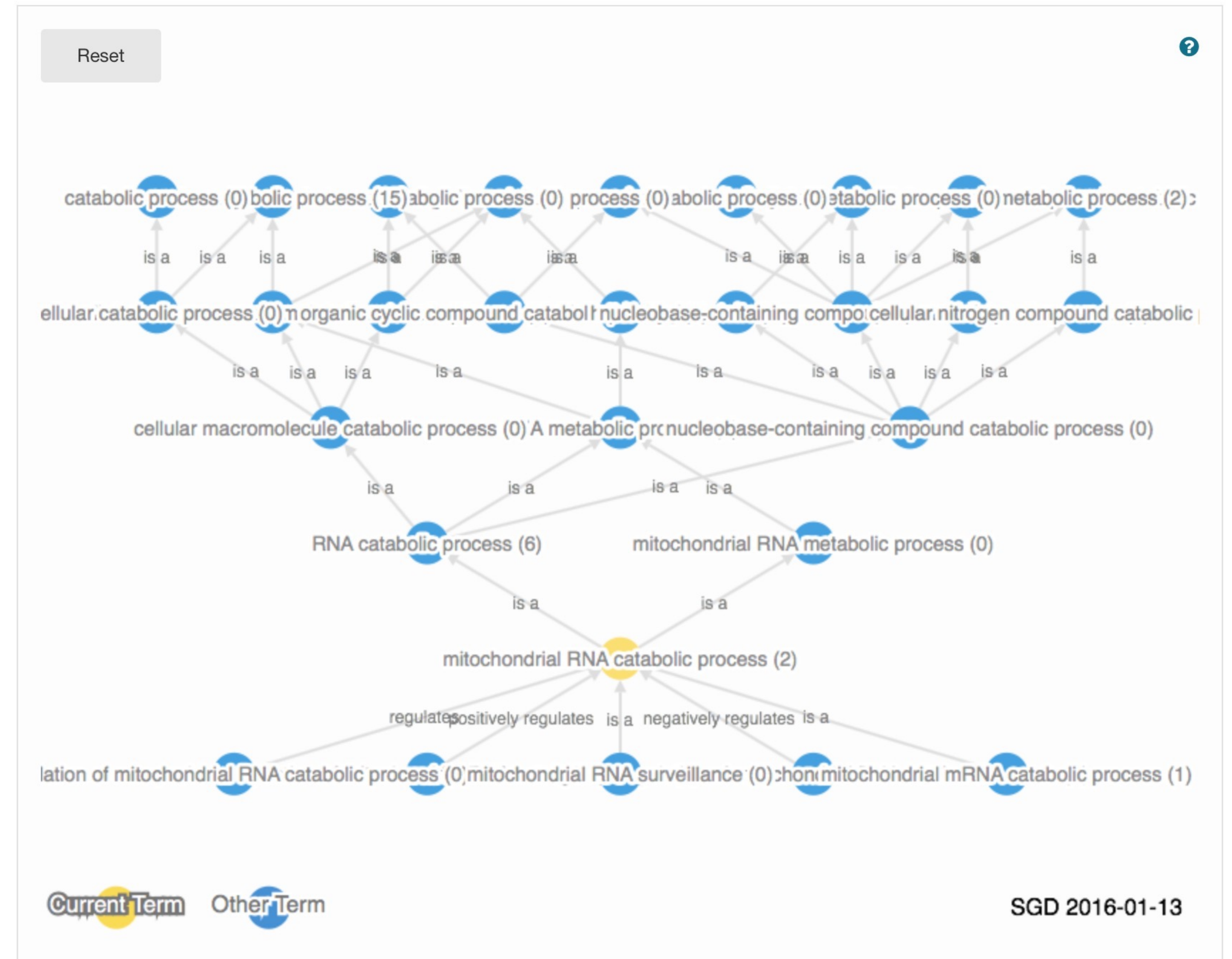
Statements, based on specific, traceable scientific evidence, asserting that a specific gene product is a real exemplar of a particular GO class.

 [Browse Annotations](#)
 [Download Annotations](#)

Gene Ontology

- Cenne narzędzie w analizach wysokoprzepustowych
- Np. w analizie ekspresji
 - *term enrichment* - czy wśród genów o zmienionej ekspresji jest istotne wzbogacenie określonych kategorii funkcjonalnych

Ontology Diagram



Gene ontology (GO)

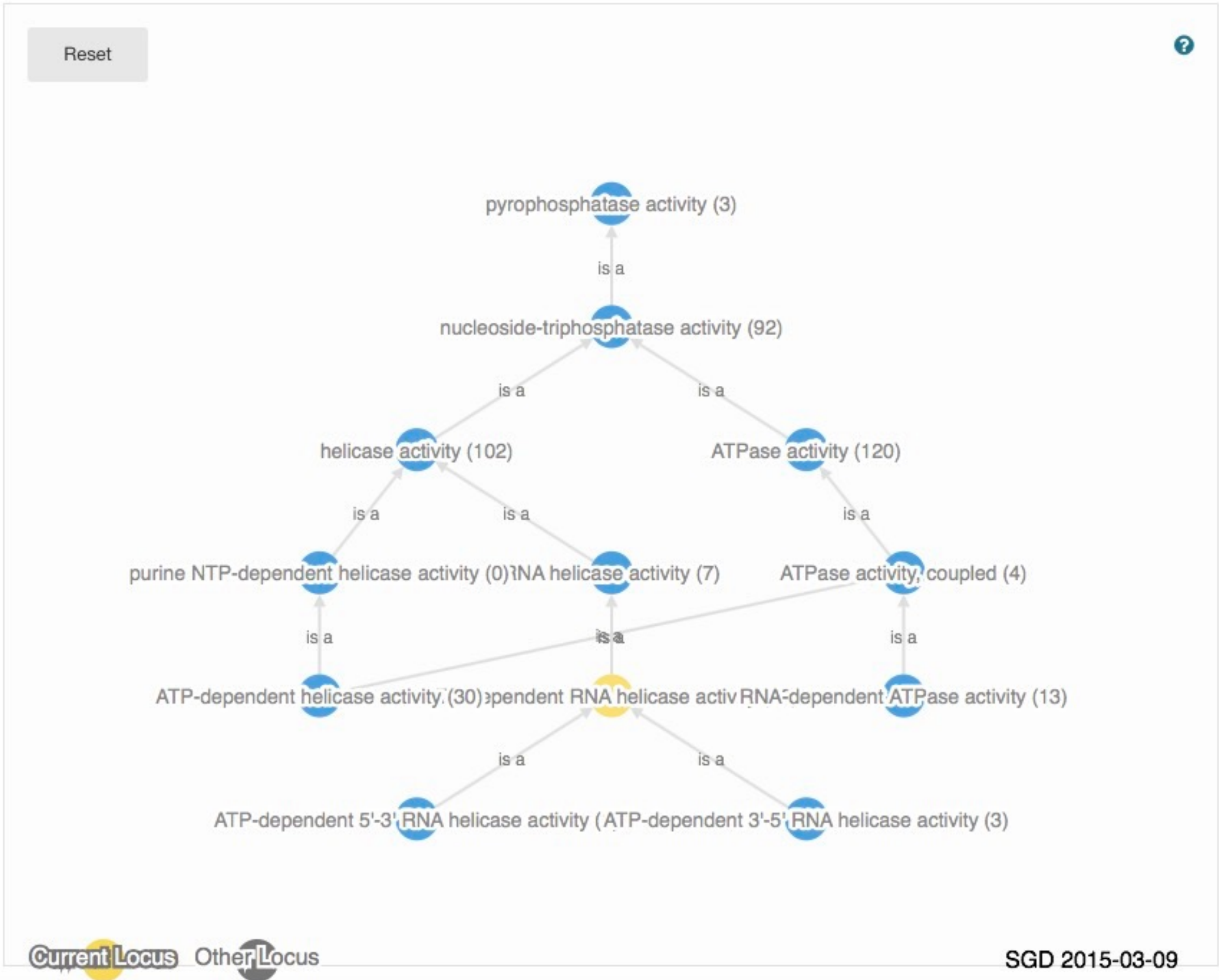
Gene Ontology Term: **ATP-dependent RNA helicase activity**

Overview

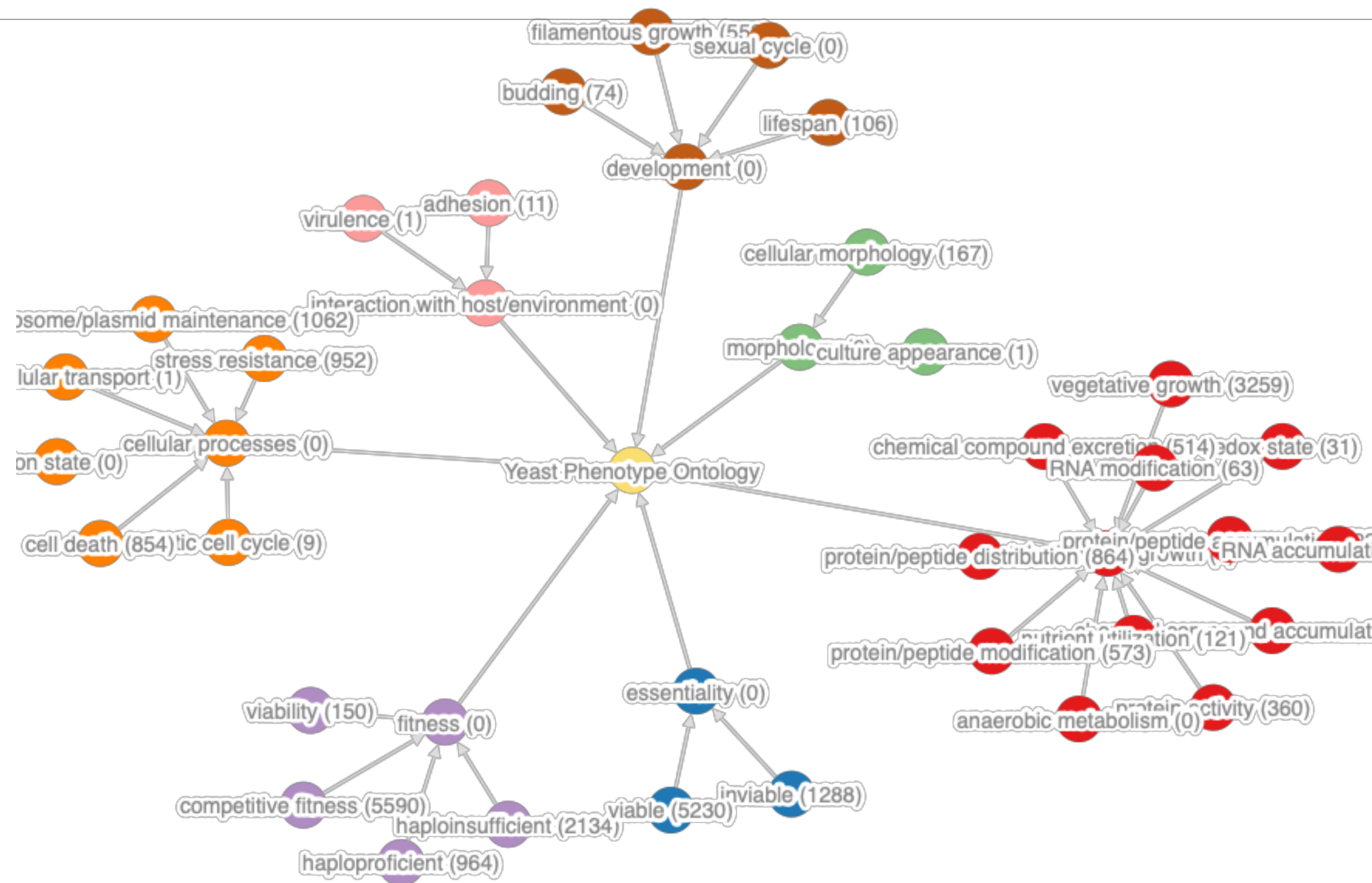
GO ID:	GO:0004004 ↗
Aspect:	Molecular Function
Description:	Catalysis of the reaction: ATP + H2O = ADP + phosphate; this reaction drives the unwinding of an RNA helix.

[View GO Annotations in other species in AmiGO](#) [↗](#)

Ontology Diagram

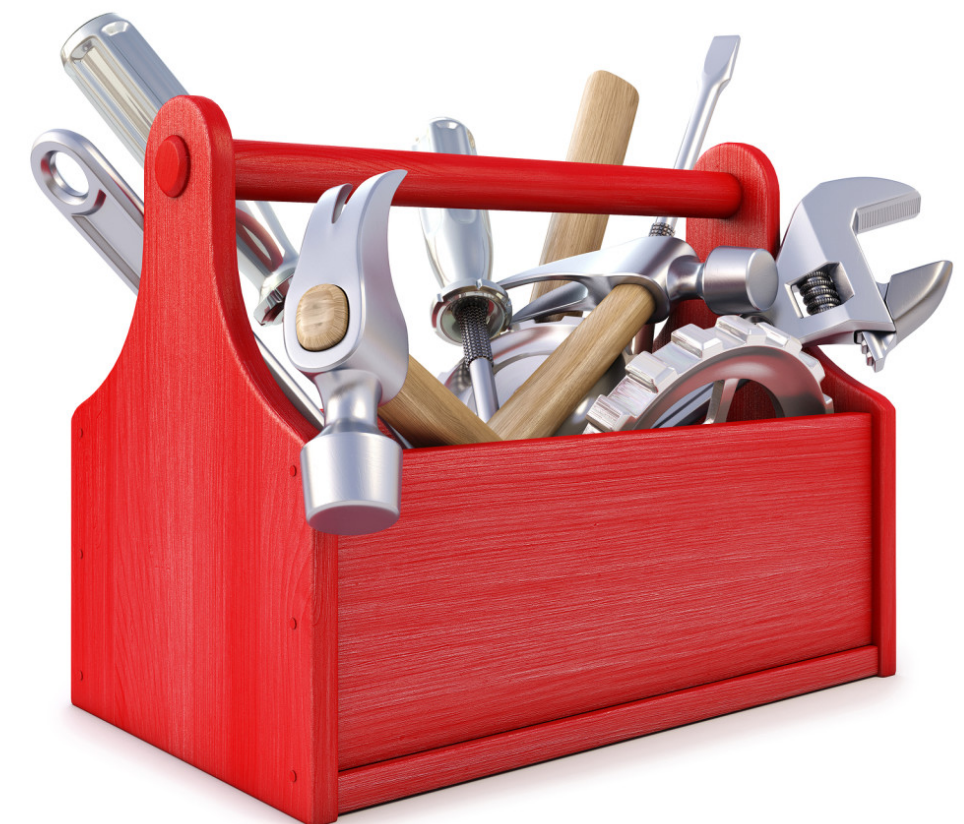


Najlepiej poznany genom eukariotyczny

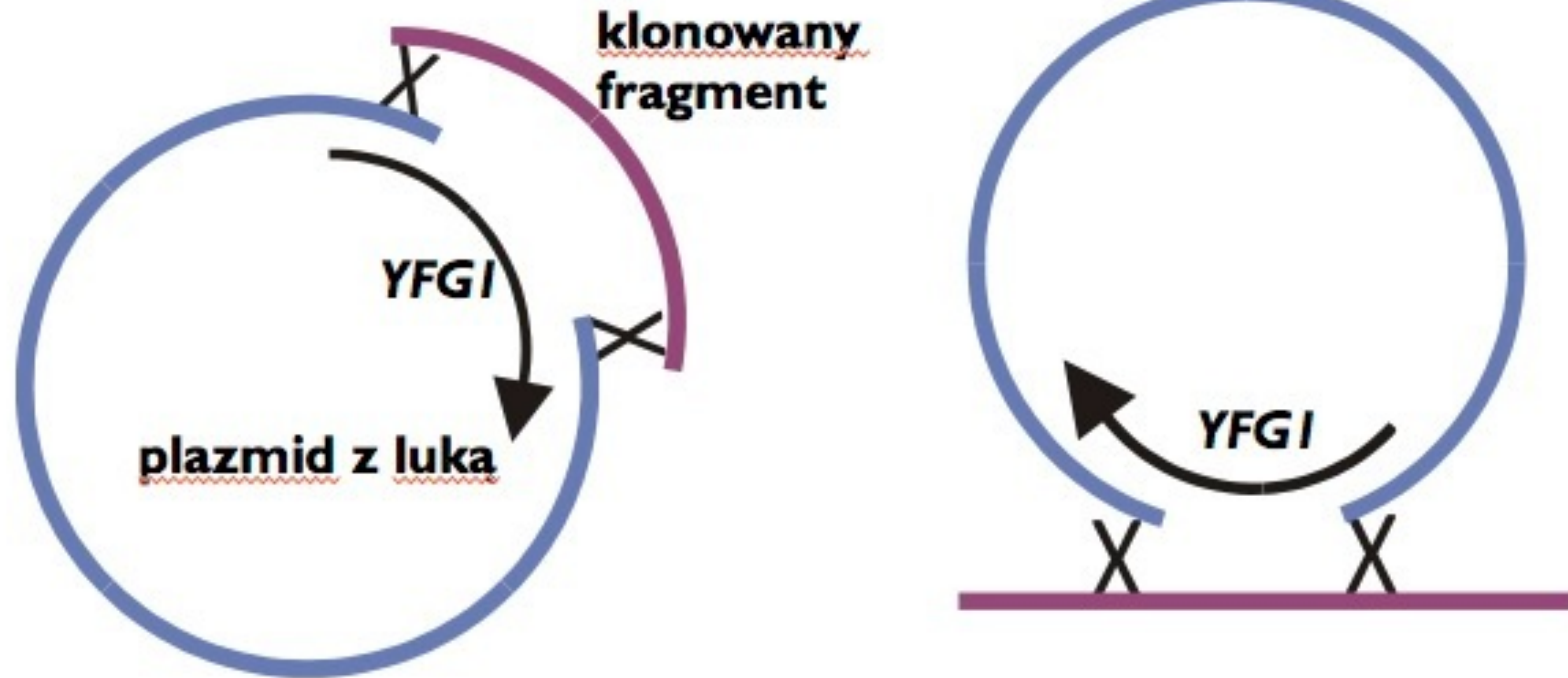


Narzędzia genetyki molekularnej drożdży

- *S. cerevisiae* to jeden z najłatwiejszych w manipulowaniu organizmów
- Podstawowe właściwości
 - **bardzo wysoka wydajność rekombinacji homologicznej**
 - łatwość ukierunkowanej manipulacji genomem



Klonowanie *gap repair*



Wykorzystanie rekombinacji do klonowania bez ligazy

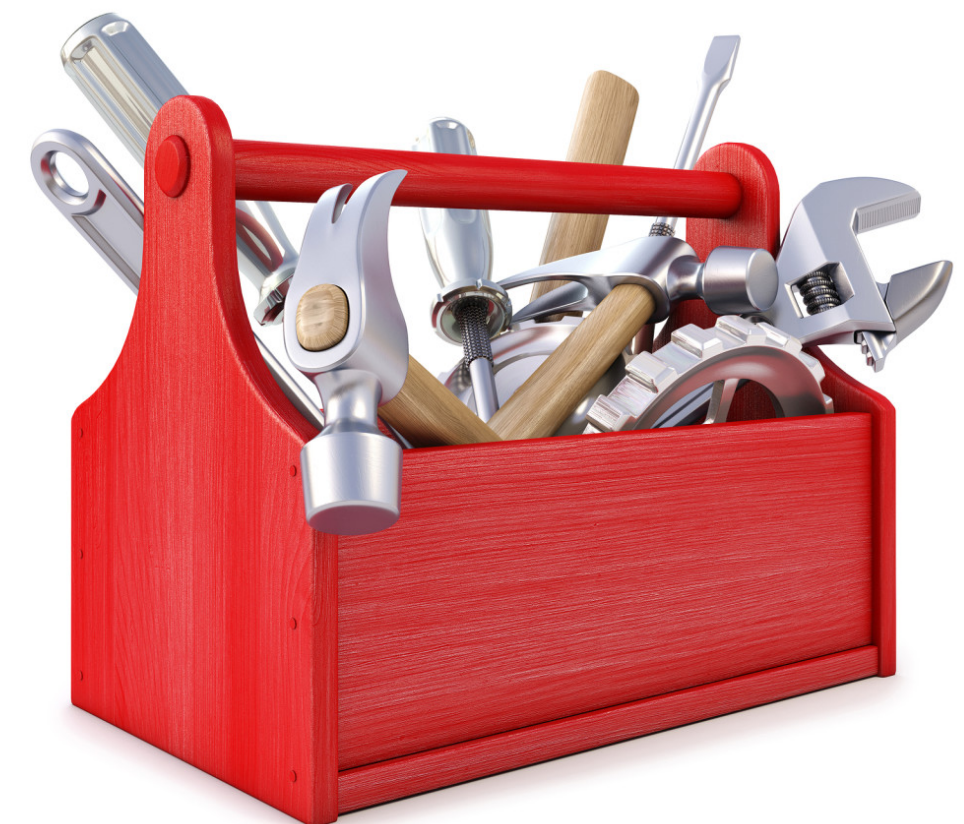
Narzędzia genetyki molekularnej drożdży

- Podstawowe właściwości
 - obecność autonomicznych plazmidów
 - wszechstronny repertuar wektorów
- praktycznie brak intronów
 - łatwa izolacja sekwencji kodujących bez etapu cDNA
- wysoka wydajność transformacji ($\sim 10^4$ - $10^5/\mu\text{g}$ DNA)
- możliwość transformowania mitochondriów



Wektory drożdżowe

- Wektory bifunkcjonalne (*E. coli* i *S. cerevisiae*)
- Podstawowe grupy
 - integracyjne
 - centromerowe (niskokopijne)
 - episomalne (wysokokopijne)
 - sztuczne chromosomy drożdżowe (YAC)

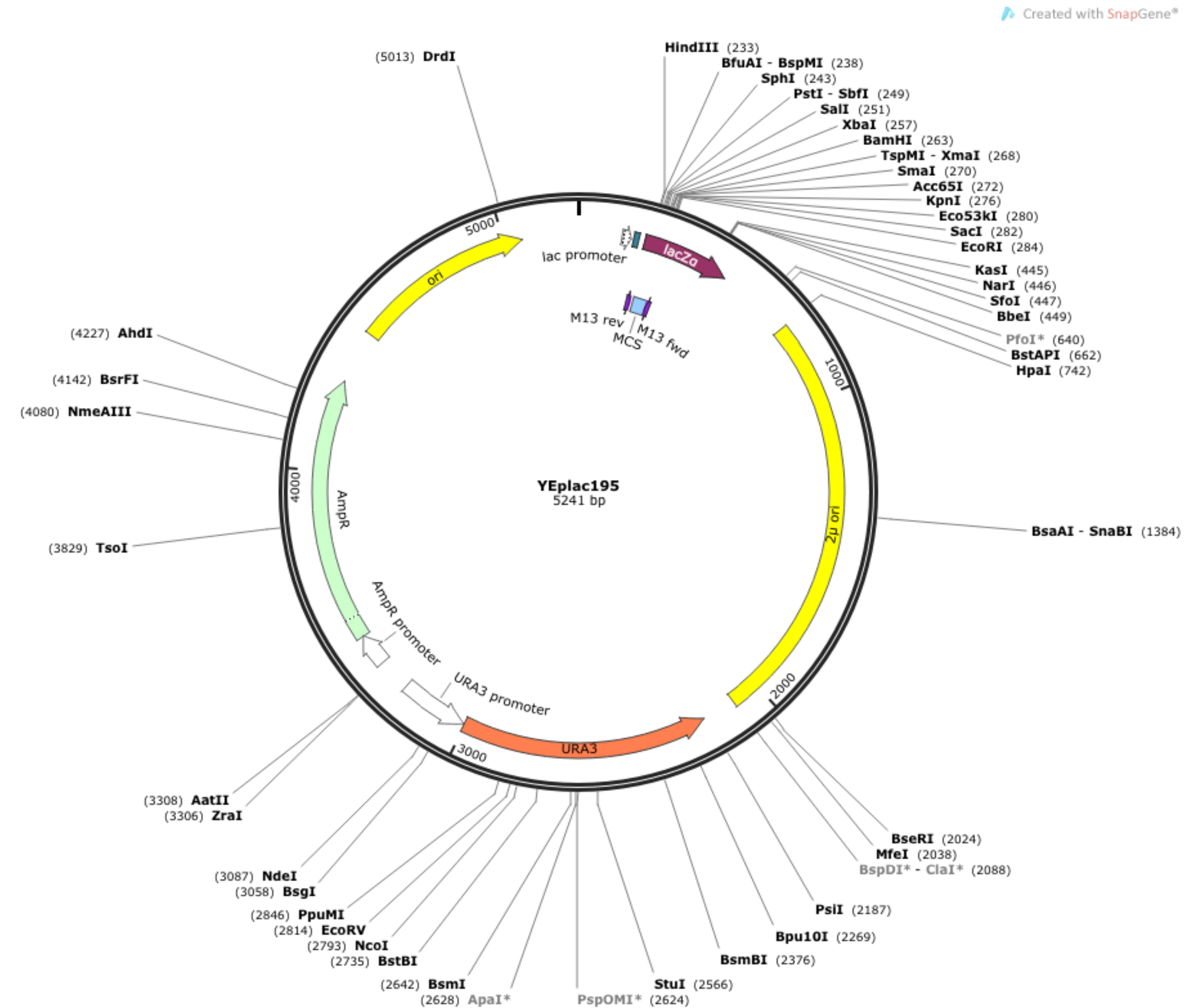


Inne drożdże

- Nie wszystkie narzędzia dostępne dla *S. cerevisiae* są równie łatwo dostępne dla innych drożdży
- Rekombinacja homologiczna - niższa wydajność
- Plazmidy - brak u niektórych drożdży (np. *C. albicans*)
- Krzyżowanie i sporulacja - brak u *Candida sp.*

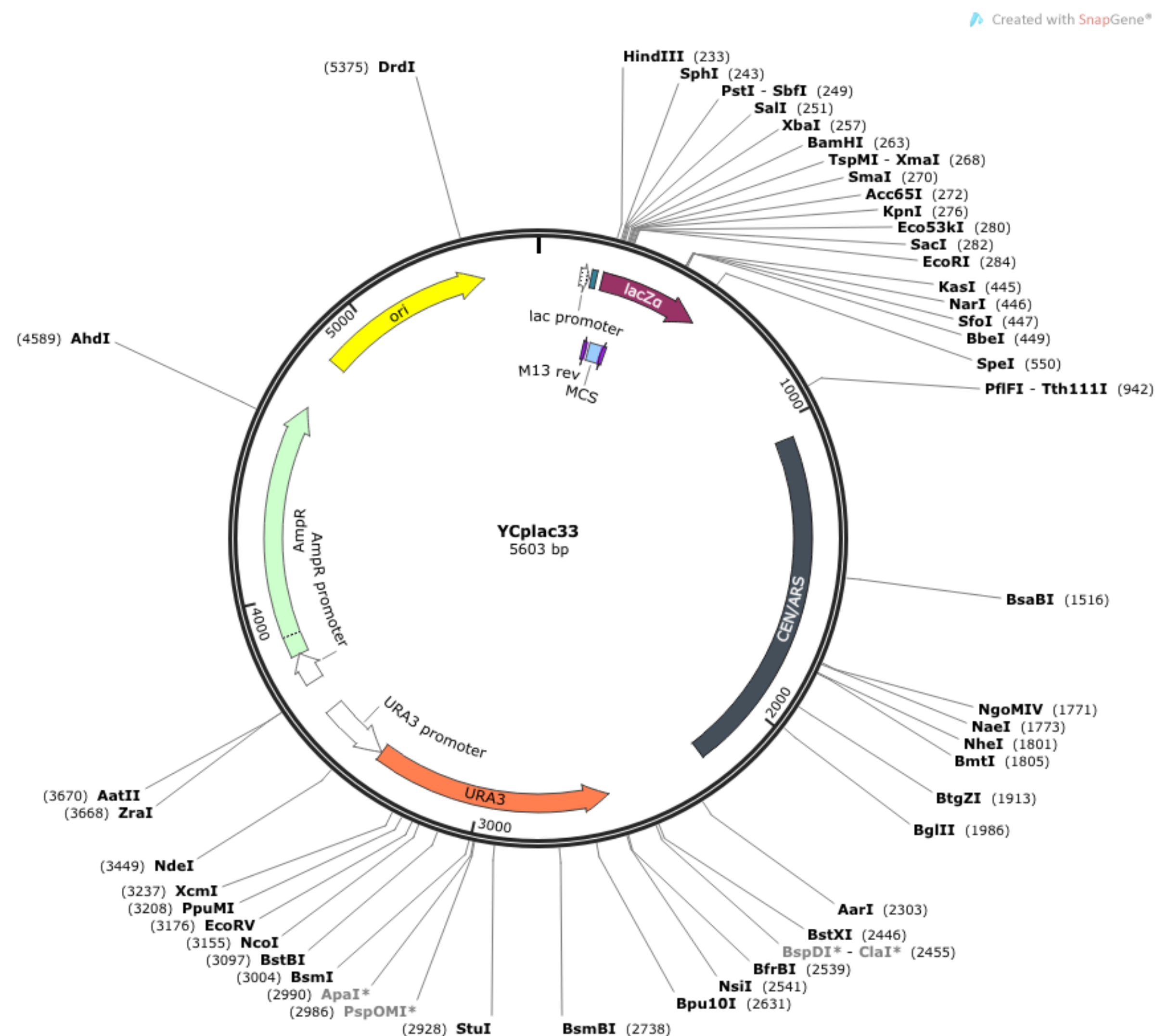
Wektory episomalne

- Szkielet wektora bakteryjnego
- ori drożdżowego plazmidu 2 μ (50-200 kopii/komórkę)
- markery
- Nadekspresja sklonowanego genu dzięki dużej liczbie kopii
- Mniej stabilne (wymagane podtrzymywanie selekcji)



Wektory centromerowe

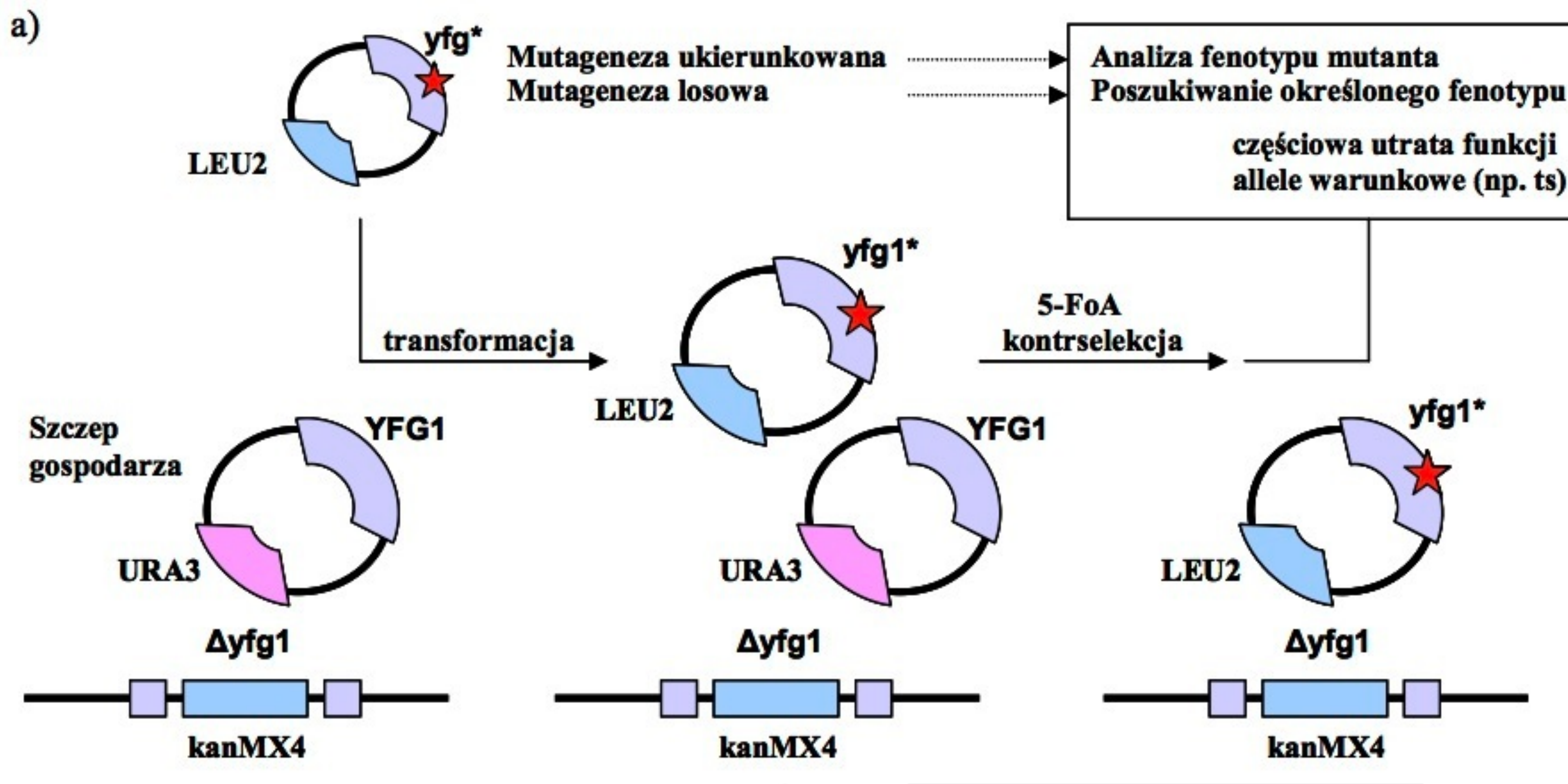
- Szkielet wektora bakteryjnego
- sekwencja ARS (start replikacji chromosomu) i CEN (centromer)
- markery
- 1-3 kopie/komórkę – ekspresja sklonowanego genu na poziomie bliskim natywnemu
- stabilne



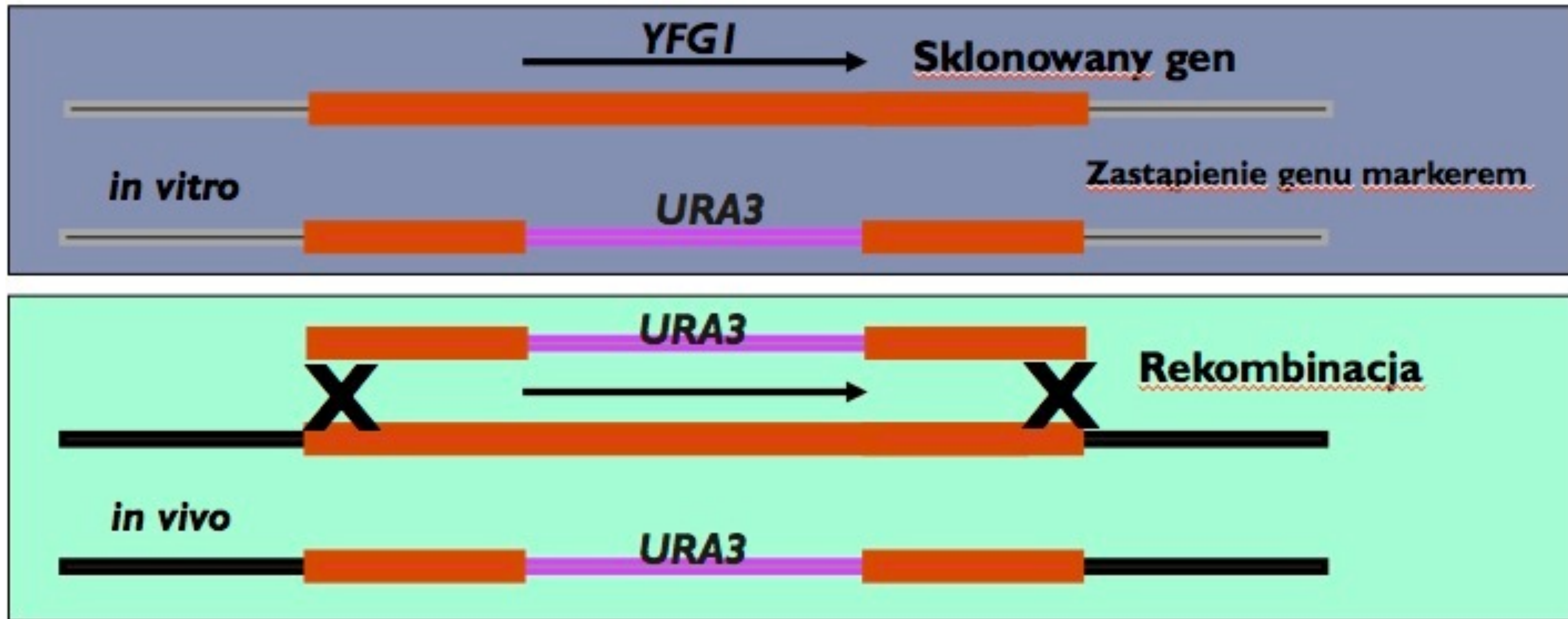
Tasowanie plazmidów

- Sposób na szybką wymianę allelu w przypadku, gdy delecja jest letalna
- Wykorzystywany jest system kontrselekcji, najczęściej *URA3/5-FOA*
 - kwas 5-fluoroorotowy – zabójczy dla komórek *URA3*⁺, nieszkodliwy dla komórek *ura3*⁻
 - można najpierw wprowadzić plazmid z markerem *URA3* a potem, kiedy potrzeba, selekcjonować komórki, które go straciły

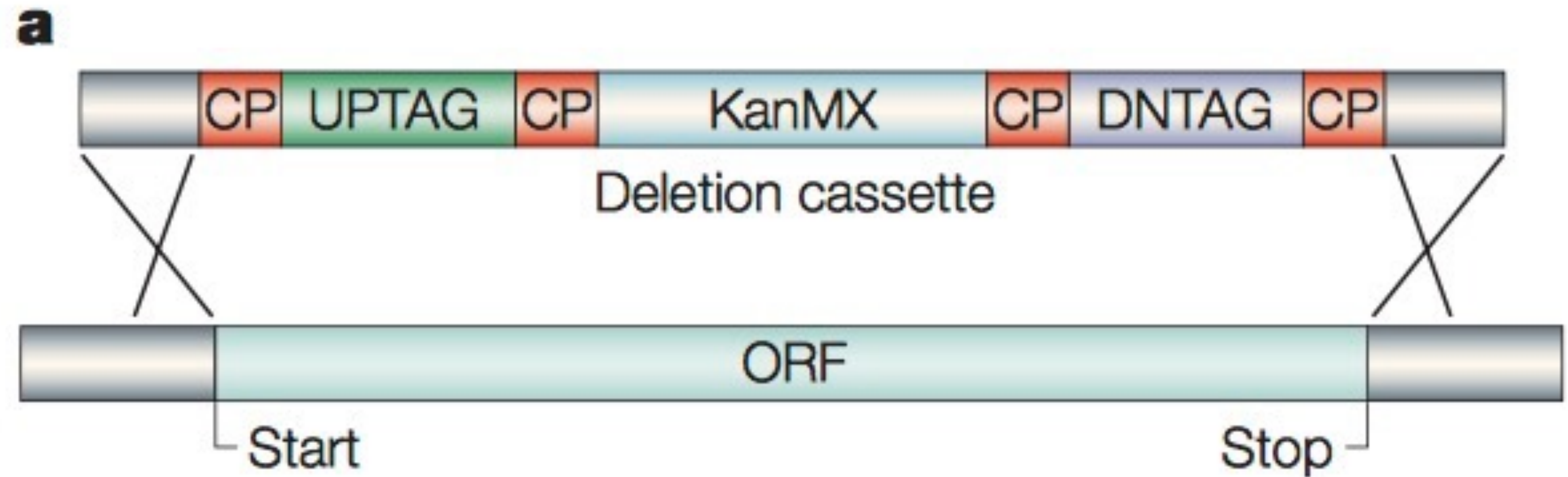
Tasowanie plazmidów w analizie genów niezbędnych do życia



Delecja genu przez rekombinację



Tzw. dysrupcja genu



Steinmetz & Davis, 2004, Nat. Rev. Genet. 5: 190–201

CP - Common Primer - wspólny starter
UPTAG, DNTAG - “kody kreskowe”, unikatowe sekwencje

Kolekcje

- Dostępne kolekcje szczepów delecyjnych
- Diploidalne heterozygotyczne >6000
- Homozygotyczne ~4000
 - reszta – letalne u homozygot

Kolekcje

- Inne kolekcje
 - fuzje ze znacznikami powinowactwa
 - ORF pod regulowanym promotorem
 - nadekspresja ORF ze znacznikiem powinowactwa
 - i wiele innych

System CRISPR/Cas9

- u *S. cerevisiae* ograniczona przydatność - dostępne techniki rekombinacyjne są równie wydajne i tańsze
- wielkie projekty biologii syntetycznej
- analiza rekombinacji
- bardzo przydatny u innych drożdży

GENETIC MAPPING

CRISPR-directed mitotic recombination enables genetic mapping without crosses

Meru J. Sadhu,* Joshua S. Bloom,* Laura Day, Leonid Kruglyak*

Genome engineering in *Saccharomyces cerevisiae* using CRISPR-Cas systems

James E. DiCarlo^{1,2}, Julie E. Norville², Prashant Mali², Xavier Rios², John Aach² and George M. Church^{2,*}

¹Department of Biomedical Engineering, Boston University, Boston, MA 02215, USA and ²Department of Genetics, Harvard Medical School, Boston, MA 02115, USA

RESEARCH ARTICLE

MOLECULAR GENETICS

A *Candida albicans* CRISPR system permits genetic engineering of essential genes and gene families

Valmik K. Vyas,¹ M. Inmaculada Barrasa,¹ Gerald R. Fink^{1,2,*}

2015 © The Authors, some rights reserved; exclusive licensee American Association for the Advancement of Science. Distributed under a Creative Commons Attribution NonCommercial License 4.0 (CC BY-NC). 10.1126/sciadv.1500248



Altmetric: 2 Views: 6,408 Citations: 27 [More detail >>](#)

Article

Implementation of the CRISPR-Cas9 system in fission yeast

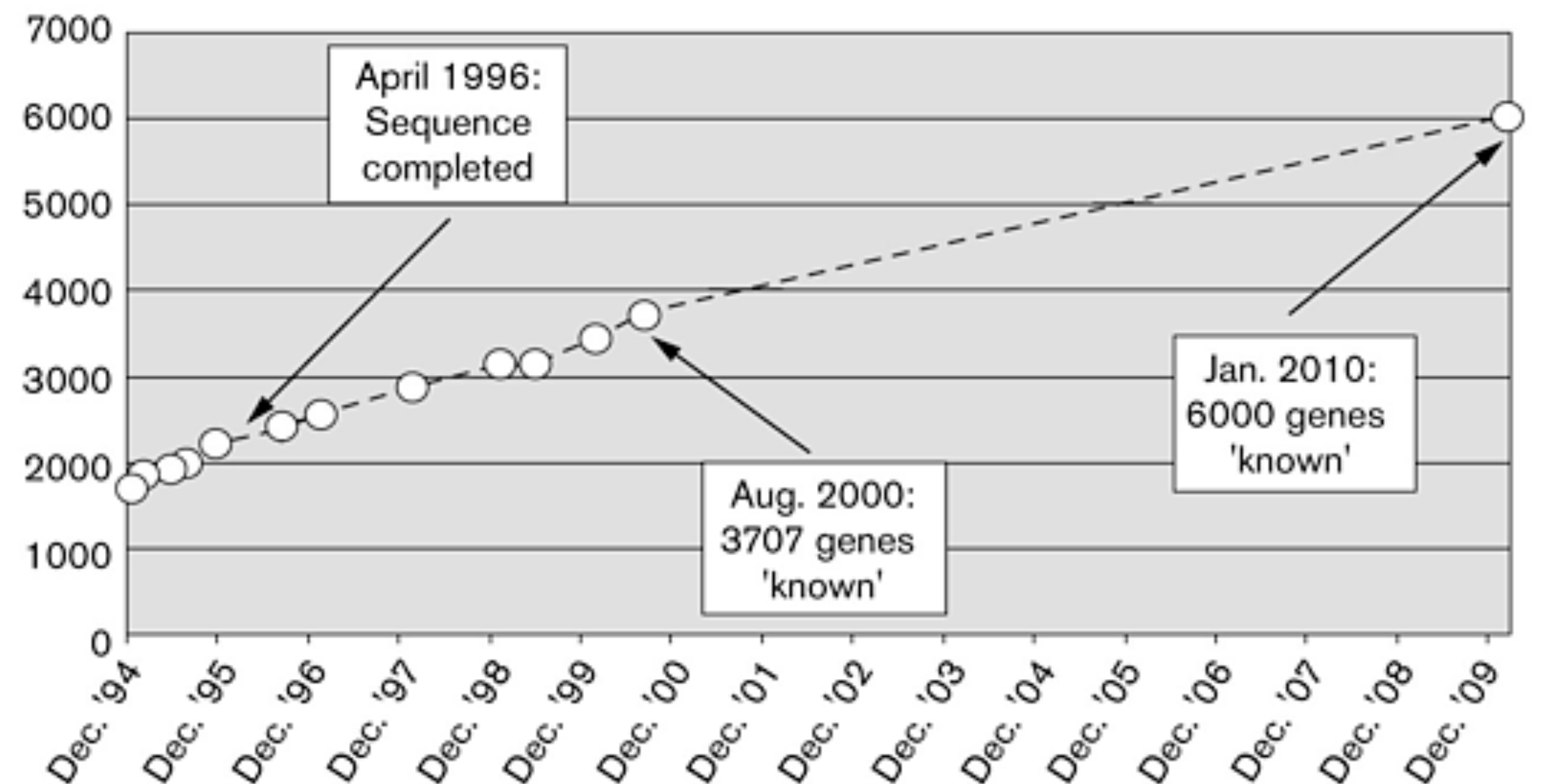
[Jake Z. Jacobs](#), [Keith M. Ciccaglione](#), [Vincent Tournier](#) & [Mikel Zaratiegui](#) ✉

Nature Communications 5,
Article number: 5344 (2014)
doi:10.1038/ncomms6344

Received: 21 March 2014
Accepted: 22 September 2014
Published online: 29 October 2014

Postępy analizy funkcjonalnej

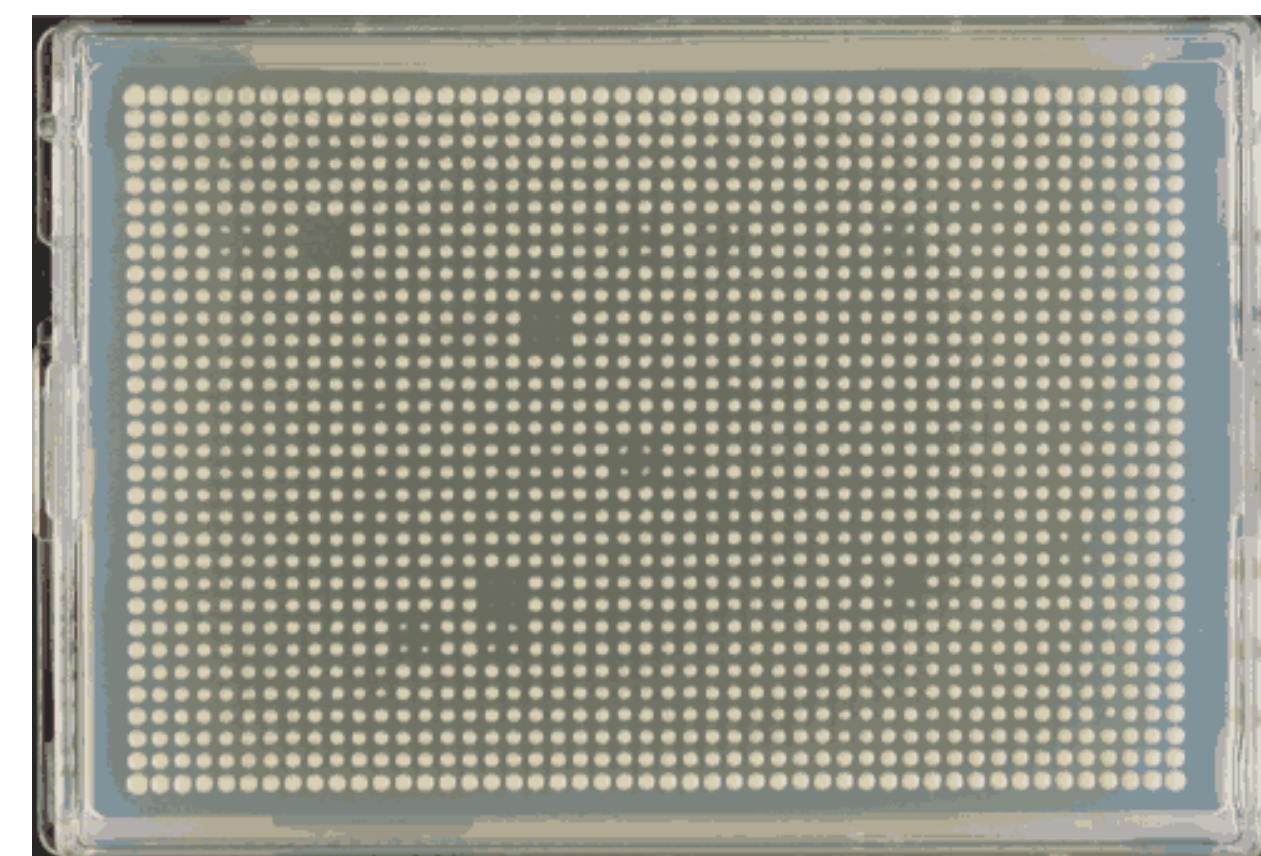
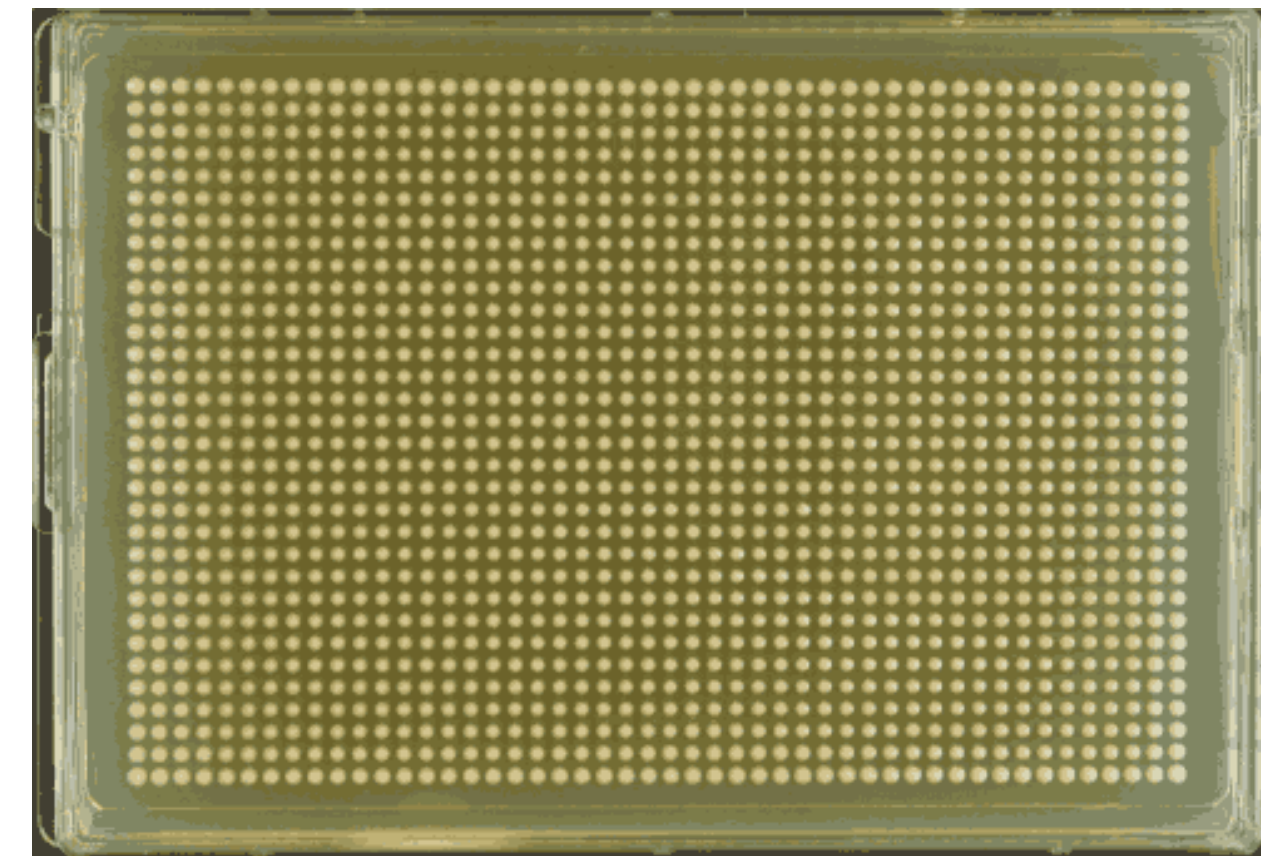
- Od lat 90. projekt badania fenotypów delecji genowych
- Wiele innych projektów na skalę genomu
- Najbardziej zaawansowana analiza funkcjonalna na skalę genomową wśród eukariontów



Postępy analizy funkcjonalnej

- Funkcje większości genów *S. cerevisiae* są znane
 - nie zawsze dokładnie, nie zawsze ze znajomością mechanizmów
 - czy drożdże zostaną wkrótce poznane (“rozwiązane”)?

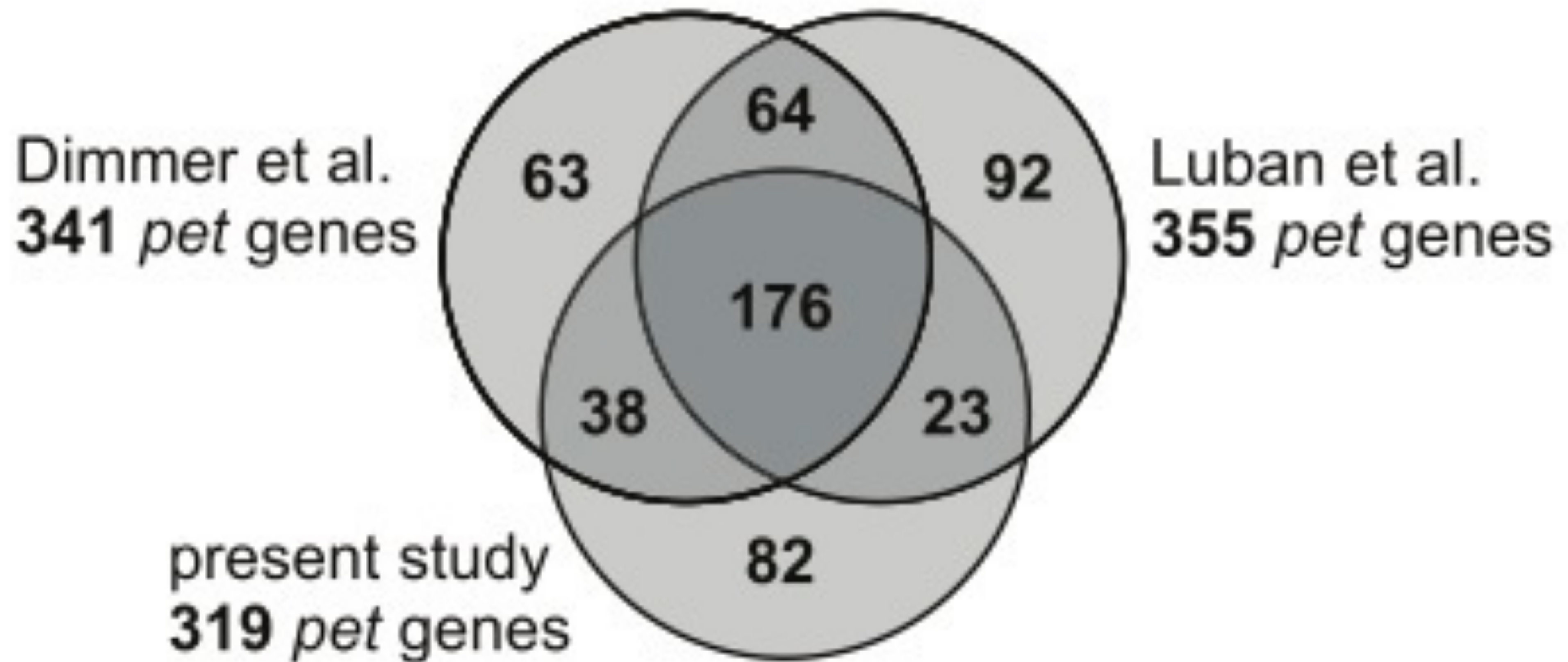
Analizy wysokoprzepustowe – roboty laboratoryjne



©Singer Instruments, UK

Problem analiz wysokoprzepustowych

(a)



Geny *pet* (niezbędne do oddychania)

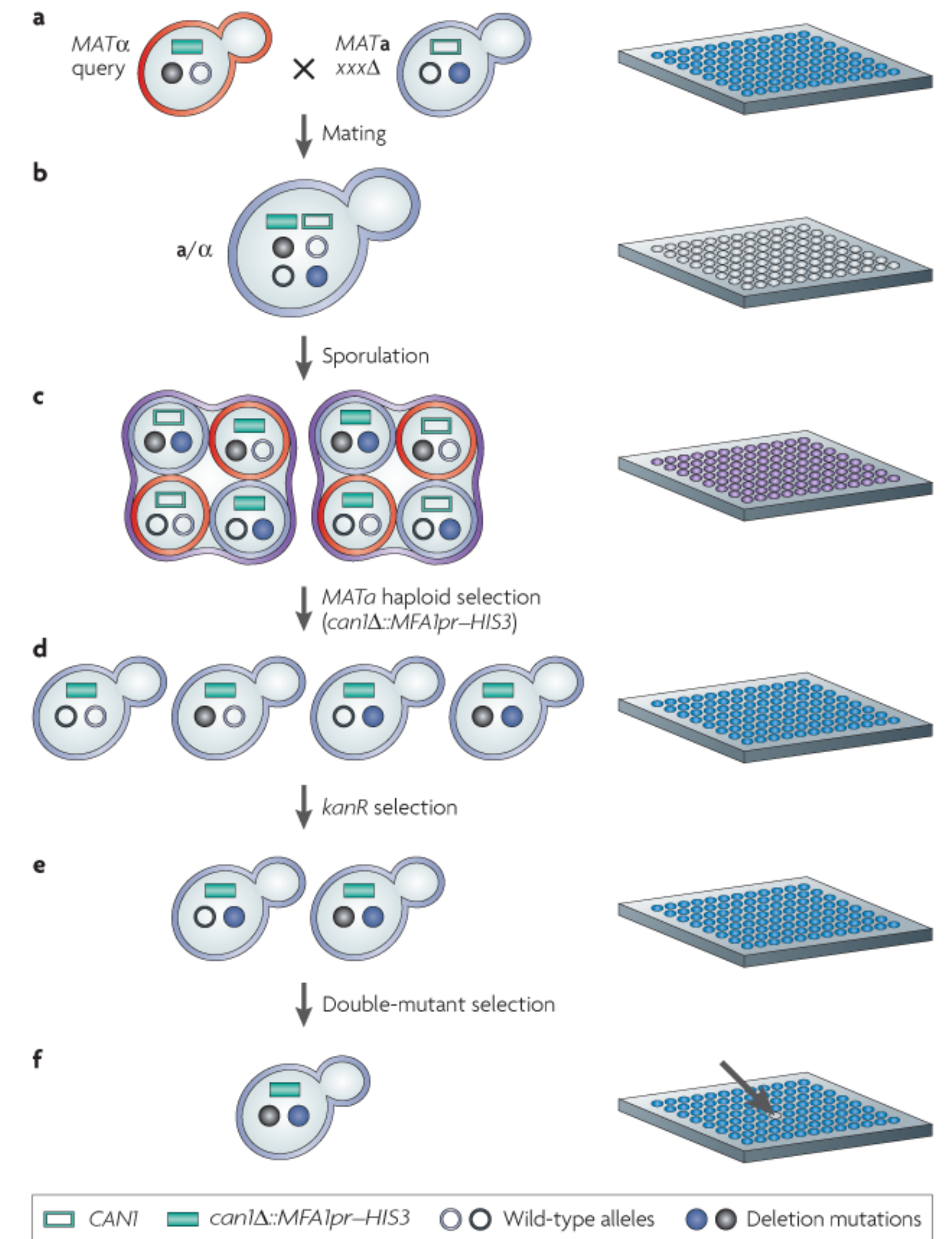
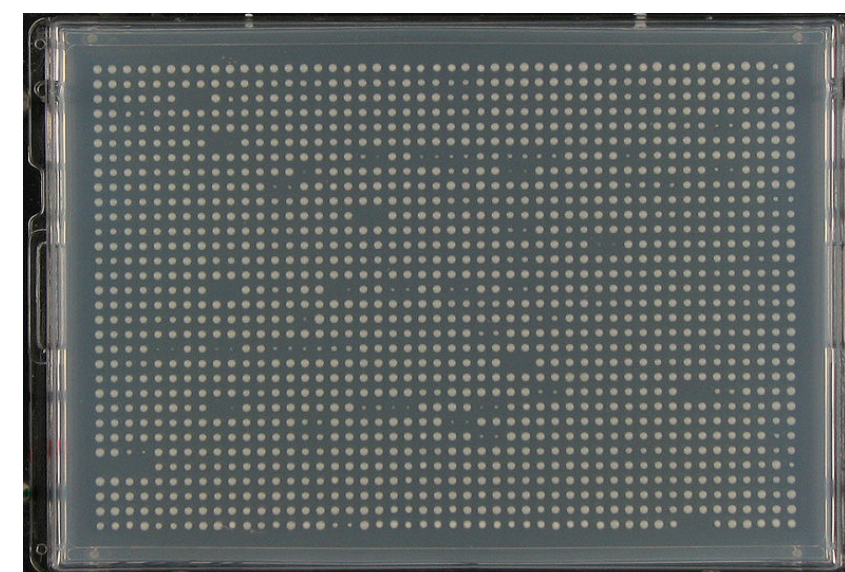
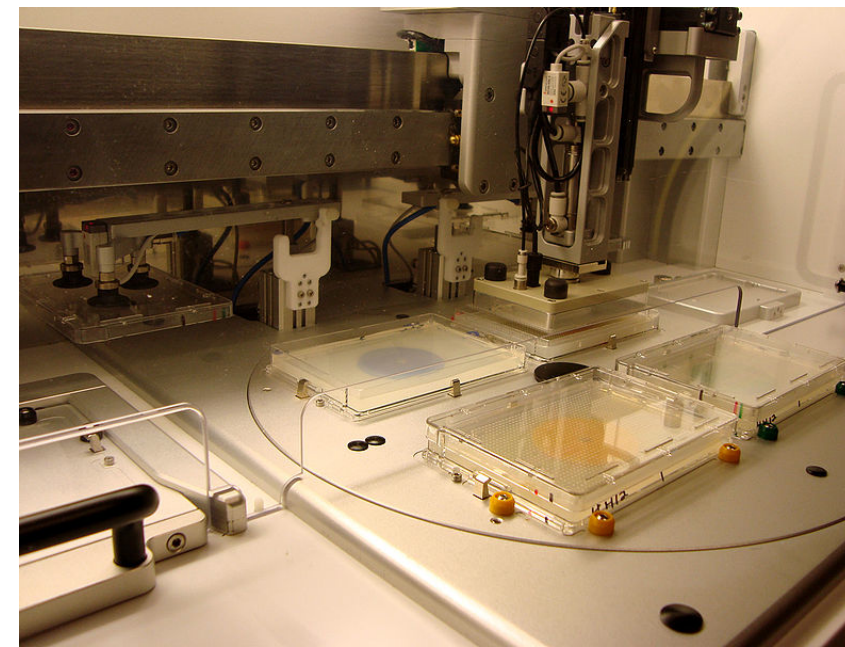
Merz & Westermann, 2009

Poszukiwanie interakcji genetycznych

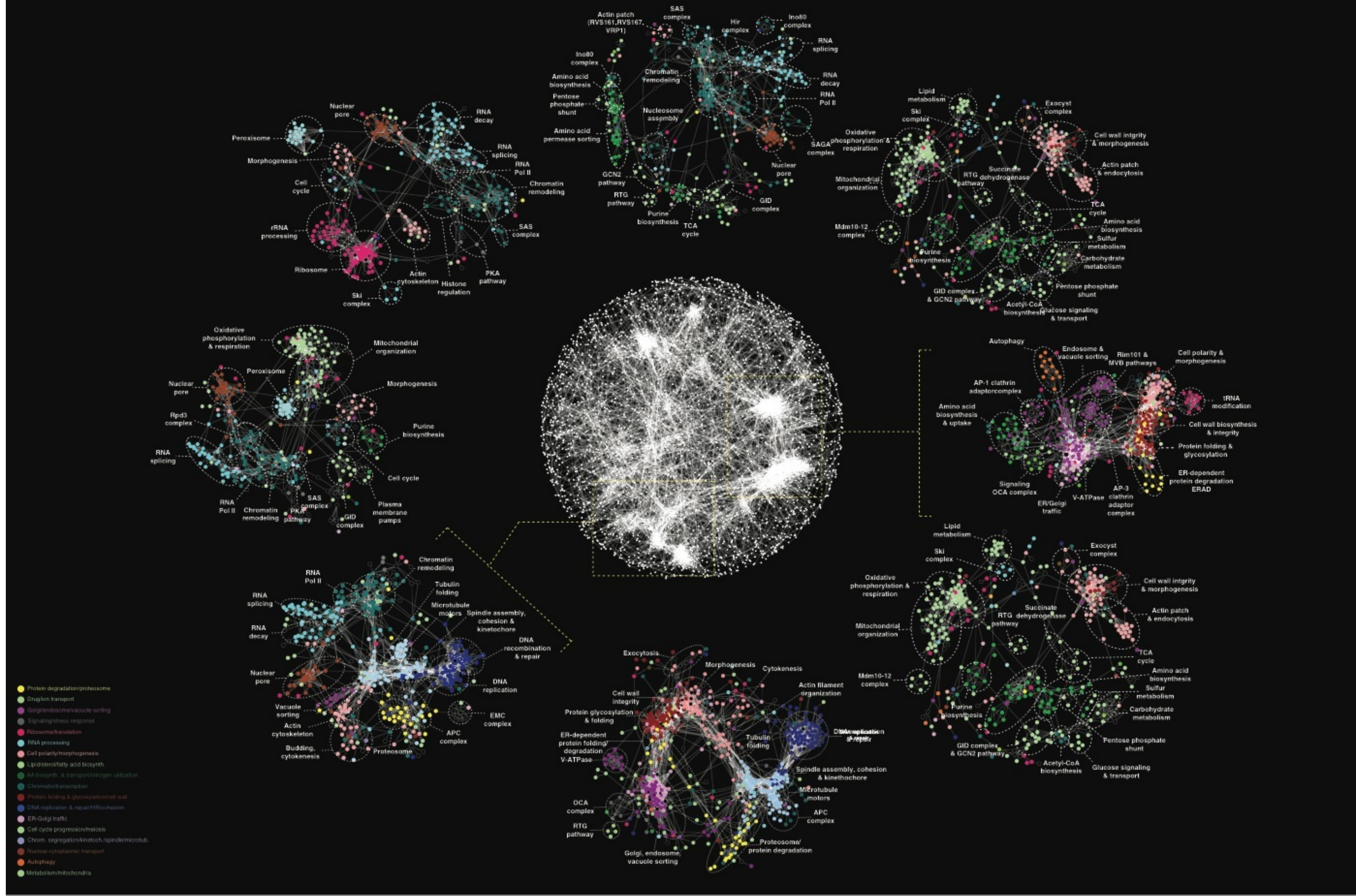
- Oddziaływania łagodzące (np. supresja)
 - selekcja bezpośrednia
- Oddziaływania syntetyczne
 - syntetyczna letalność:
 - pojedyncze mutacje *gen1* i *gen2* nie są letalne, ale podwójny mutant *gen1, gen2* nie przeżywa
 - syntetyczne wzmocnienie
 - pojedyncze mutacje *gen1* i *gen2* słaby fenotyp, podwójny mutant *gen1, gen2* silny fenotyp (np. spowolnienie wzrostu)

SGA

- Synthetic Gene Array
- Kolekcja delecji, krzyżowana z badanym genem
- Sporulacja,
- Selekcja haploidów *MATa*
- Selekcja pojedynczych i podwójnych mutantów

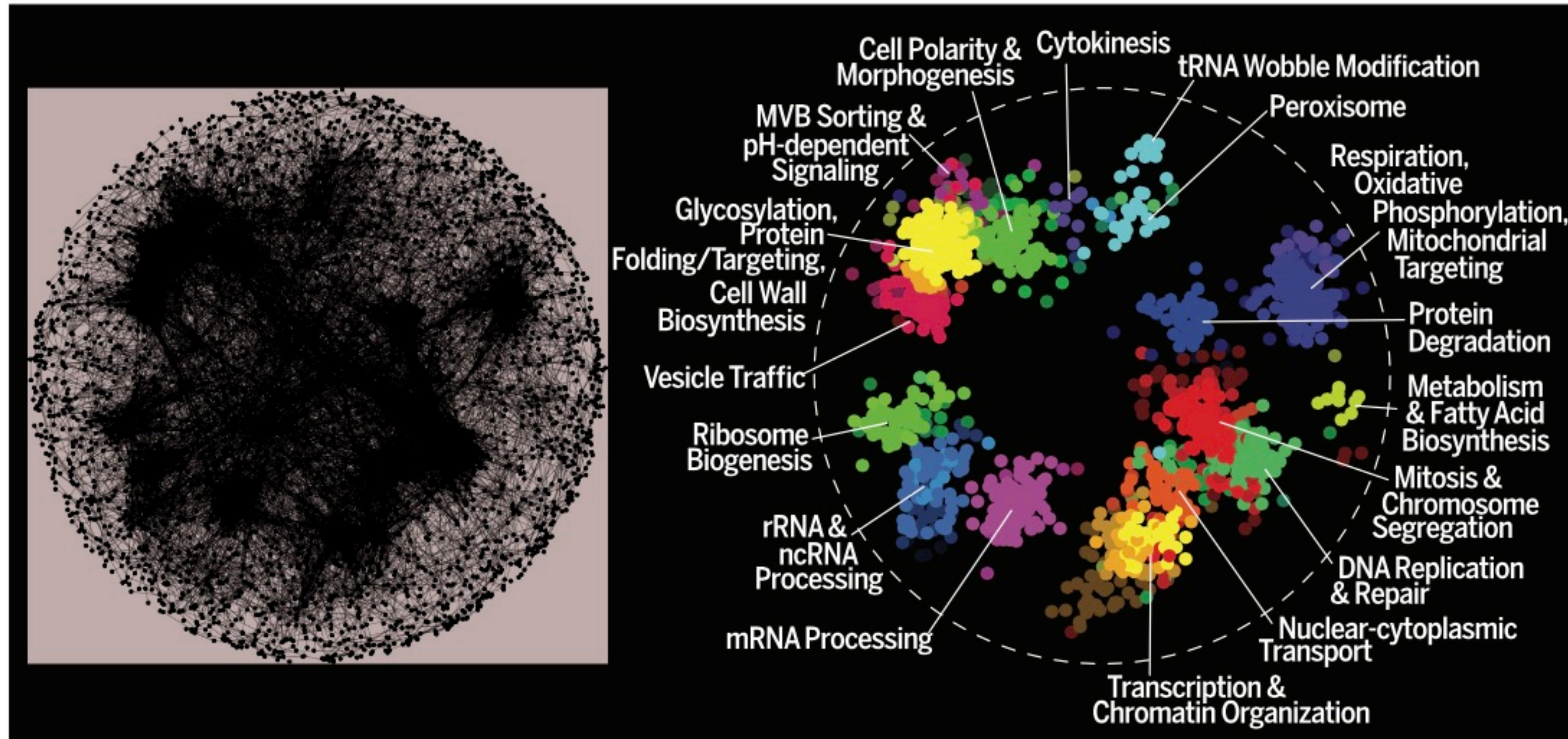


The Genetic Landscape of a Cell



A global genetic interaction network maps a wiring diagram of cellular function

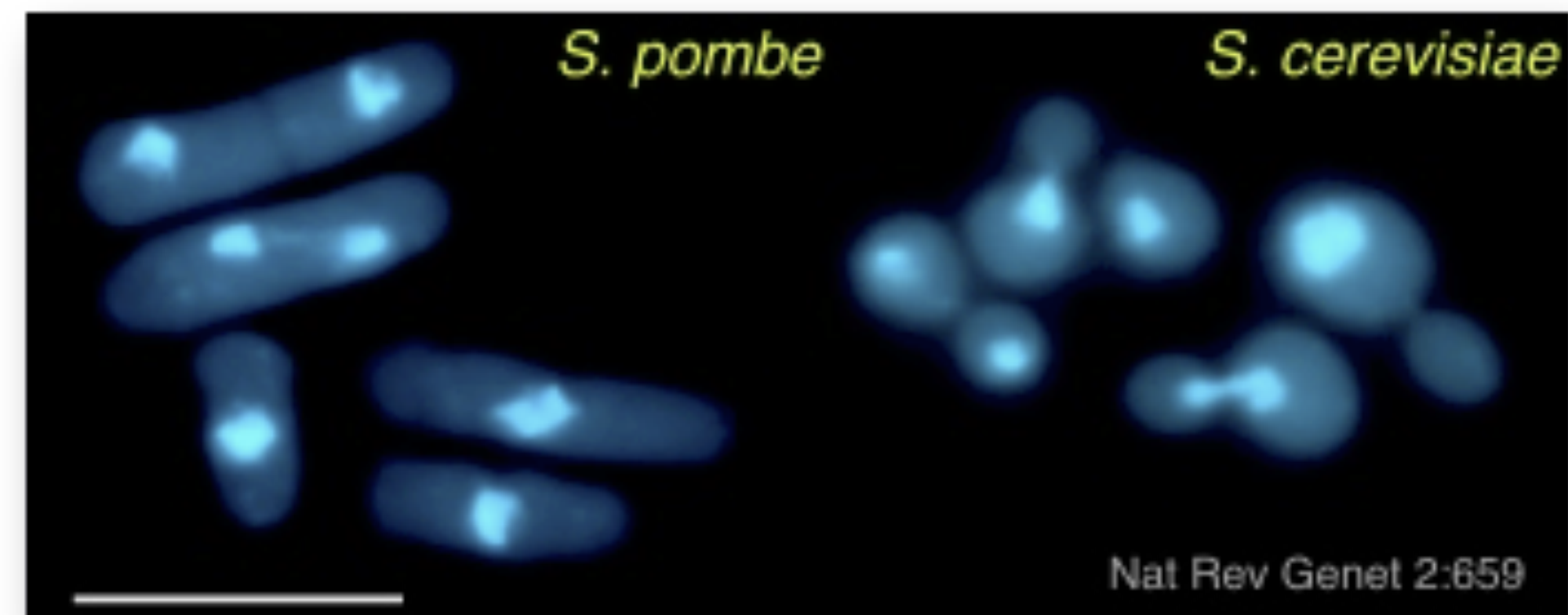
Michael Costanzo,* Benjamin VanderSluis,* Elizabeth N. Koch,* Anastasia Baryshnikova,* Carles Pons,* Guihong Tan,* Wen Wang, Matej Usaj, Julia Hanchard, Susan D. Lee, Vicent Pelechano, Erin B. Styles, Maximilian Billmann, Jolanda van Leeuwen, Nydia van Dyk, Zhen-Yuan Lin, Elena Kuzmin, Justin Nelson, Jeff S. Piotrowski, Tharan Srikumar, Sondra Bahr, Yiqun Chen, Raamesh Deshpande, Christoph F. Kurat, Sheena C. Li, Zhijian Li, Mojca Mattiazzi Usaj, Hiroki Okada, Natasha Pascoe, Bryan-Joseph San Luis, Sara Sharifpoor, Emira Shuteriqi, Scott W. Simpkins, Jamie Snider, Harsha Garadi Suresh, Yizhao Tan, Hongwei Zhu, Noel Malod-Dognin, Vuk Janjic, Natasa Przulj, Olga G. Troyanskaya, Igor Stagljar, Tian Xia, Yoshikazu Ohya, Anne-Claude Gingras, Brian Raught, Michael Boutros, Lars M. Steinmetz, Claire L. Moore, Adam P. Rosebrock, Amy A. Cauchy, Chad L. Myers,† Brenda Andrews,† Charles Boone†



A global network of genetic interaction profile similarities. (Left) Genes with similar genetic interaction profiles are connected in a global network, such that genes exhibiting more similar profiles are located closer to each other, whereas genes with less similar profiles are positioned farther apart. (Right) Spatial analysis of functional enrichment was used to identify and color network regions enriched for similar Gene Ontology bioprocess terms.

Co można badać na drożdżach?

- Praktycznie wszystkie podstawowe aspekty biologii molekularnej, biologii komórki, genetyki



Czego nie można badać na drożdżach

- Różnicowanie i rozwój
- Neurobiologia
- Regulacja przez małe niekodujące RNA (siRNA, miRNA)
- Alternatywny splicing

Drożdże i cykl komórkowy

Nobel 2001



Leland H. Hartwell



Tim Hunt

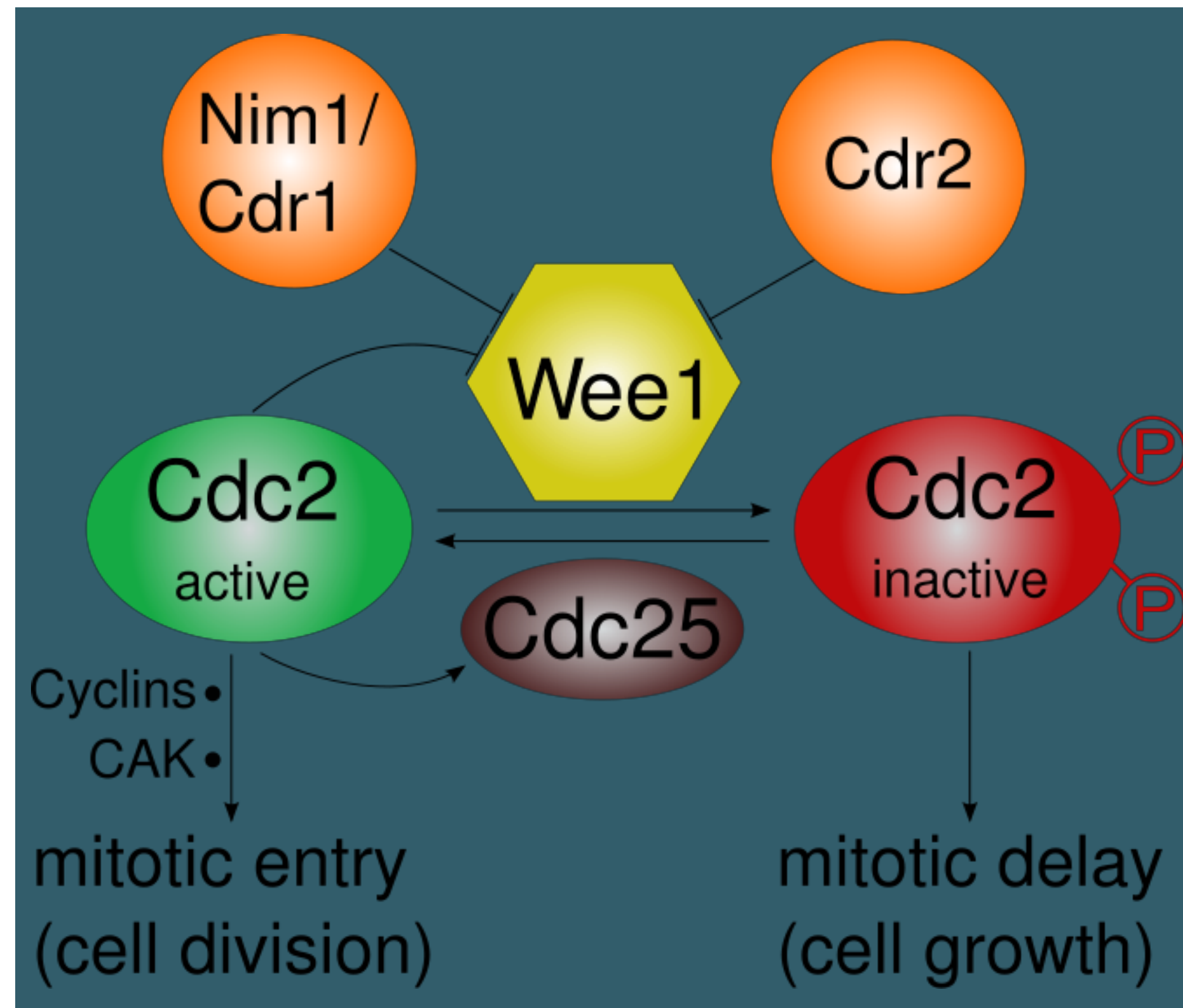


Sir Paul M. Nurse

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2001 was awarded jointly to Leland H. Hartwell, Tim Hunt and Sir Paul M. Nurse *"for their discoveries of key regulators of the cell cycle"*.

Photos: Copyright © The Nobel Foundation

Regulacja cyklu komórkowego



Drożdże i transkrypcja



The Nobel Prize in Chemistry 2006 Roger D. Kornberg

The Nobel Prize in Chemistry 2006 ▼

Nobel Prize Award Ceremony ▼

Roger D. Kornberg ▲



Biographical

● **Nobel Lecture**

Banquet Speech

Interview

Nobel Diploma

Photo Gallery

Prize Presentation

Nobel Symposia

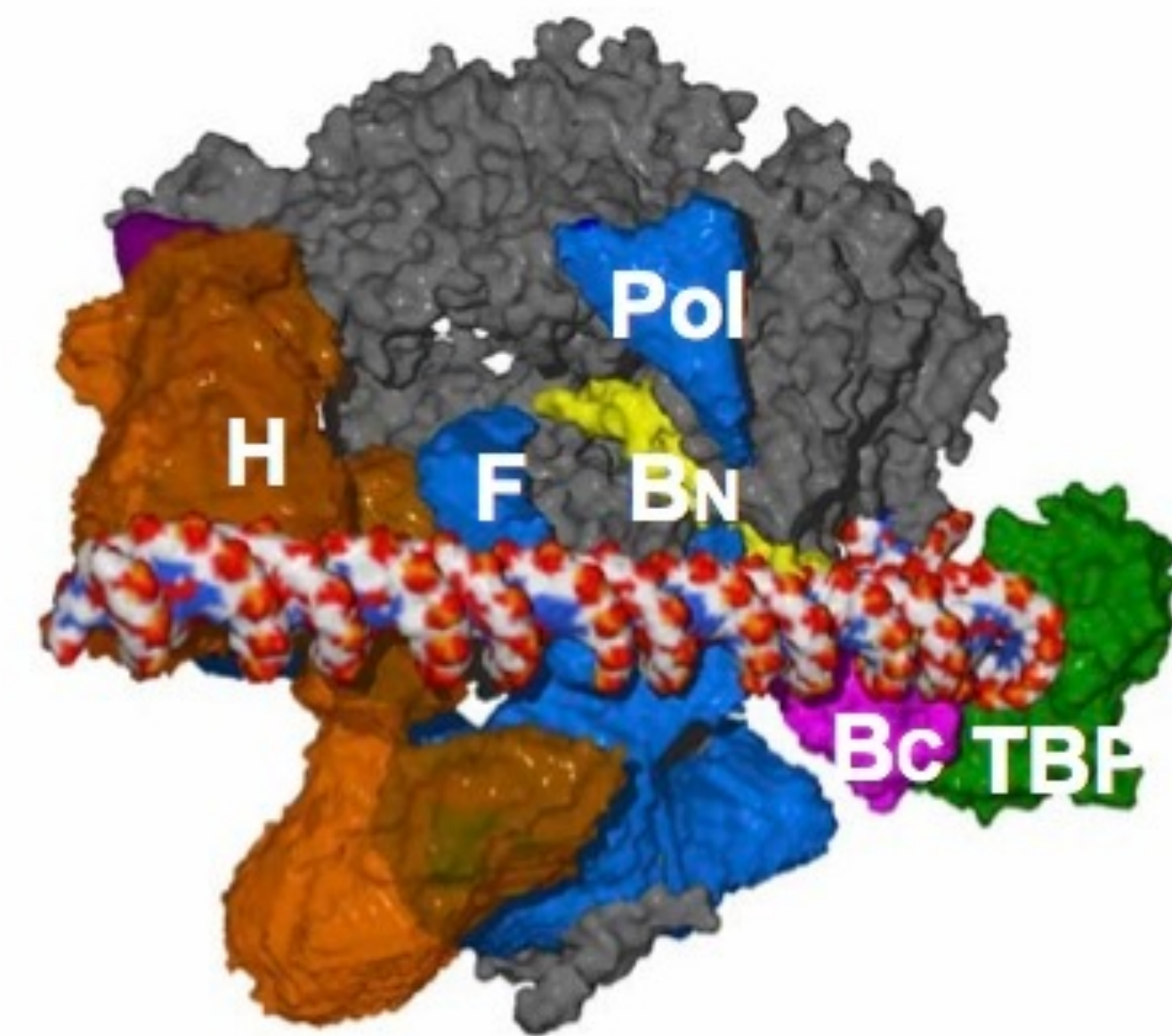
Other Resources

Nobel Lecture

The Molecular Basis of Eukaryotic Transcription

Drożdże i transkrypcja

10 years, 10,000 liters, 1 grad student



Łatwość hodowli – przydatne w projektach oczyszczania i krystalizacji białek

Drożdże i autofagia

Nobel 2016

Yoshinori Ohsumi - Facts



Photo: A. Mahmoud

Yoshinori Ohsumi

Born: 9 February 1945, Fukuoka, Japan

Affiliation at the time of the award: Tokyo Institute of Technology, Tokyo, Japan

Prize motivation: "for his discoveries of mechanisms for autophagy"

Prize share: 1/1

Autofagia

- U człowieka uszkodzone organella są degradowane w autofagosomach przez fuzję z lizosomami
- W drożdżach degradacja zachodzi w wakuoli

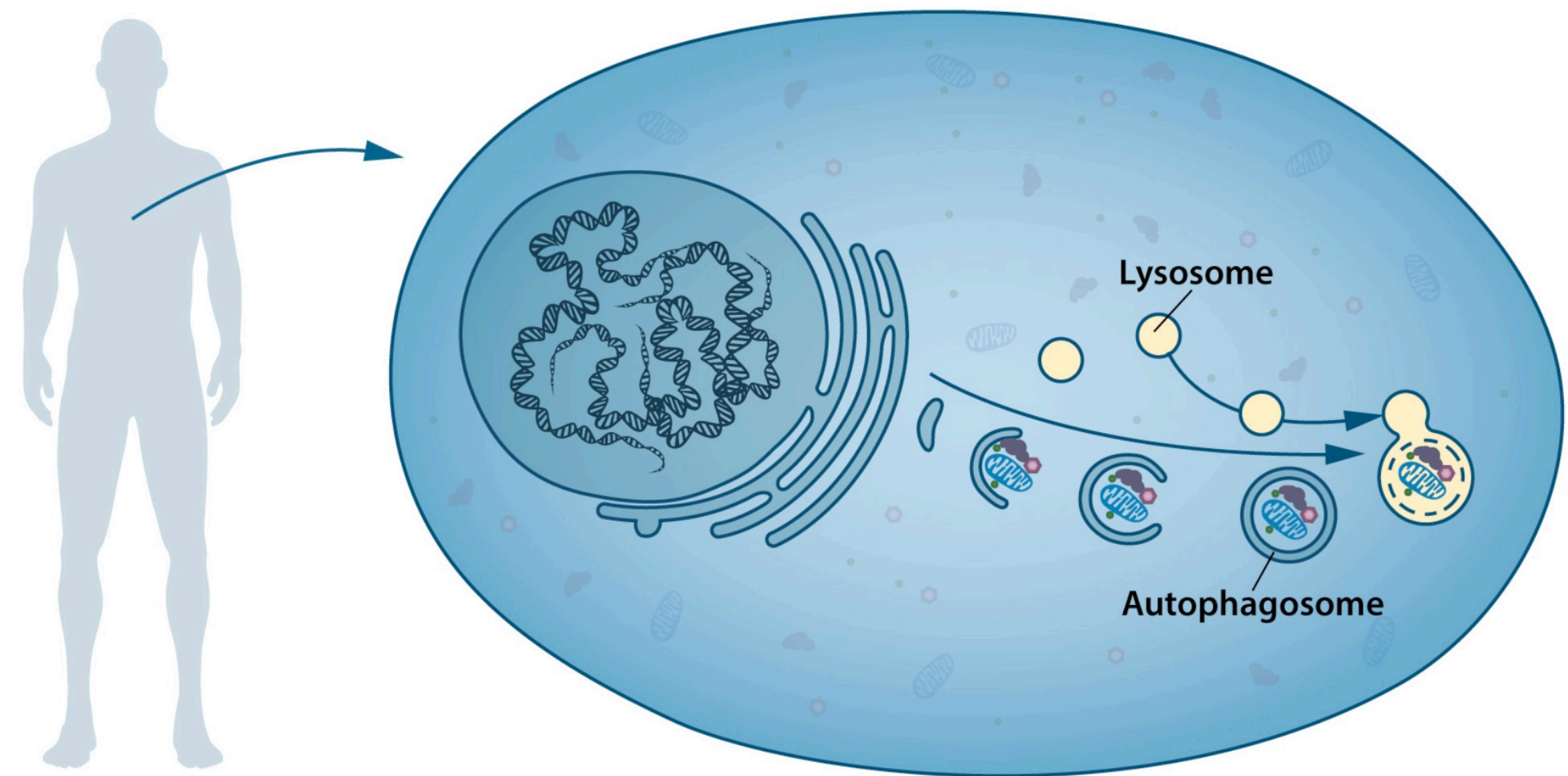
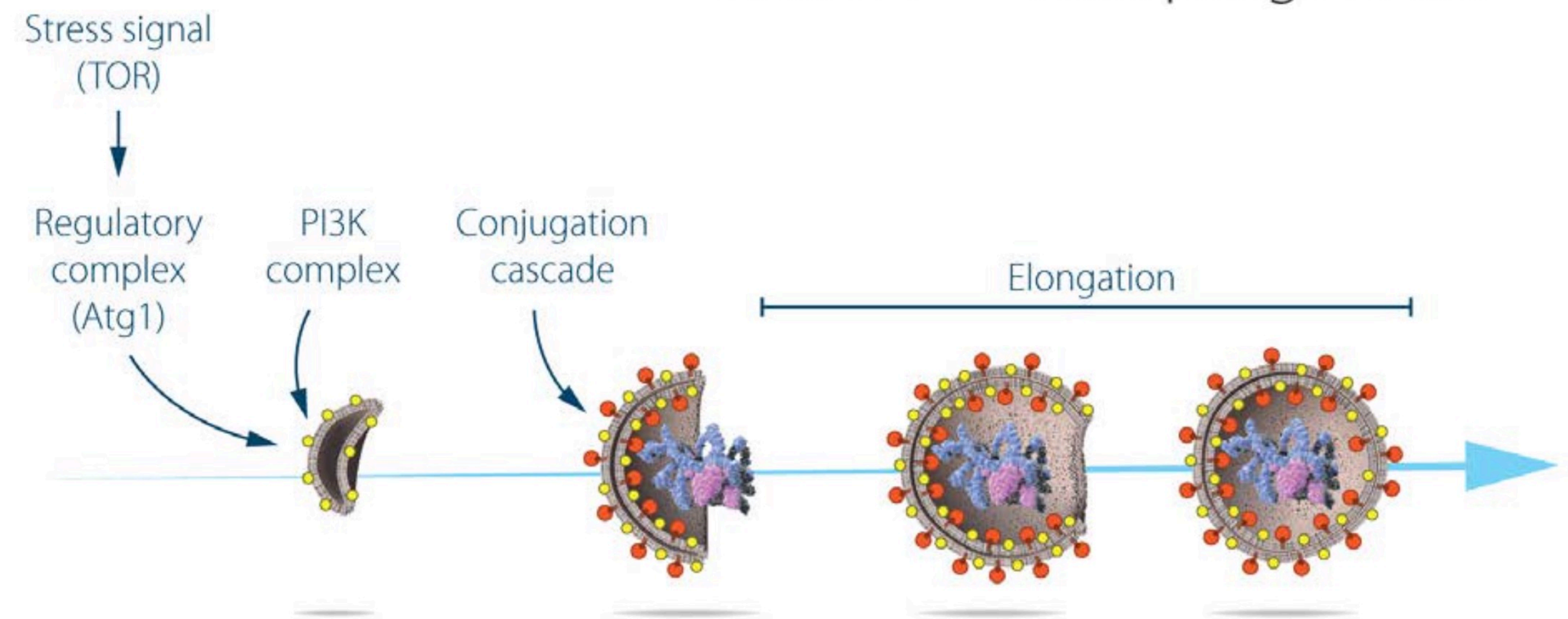
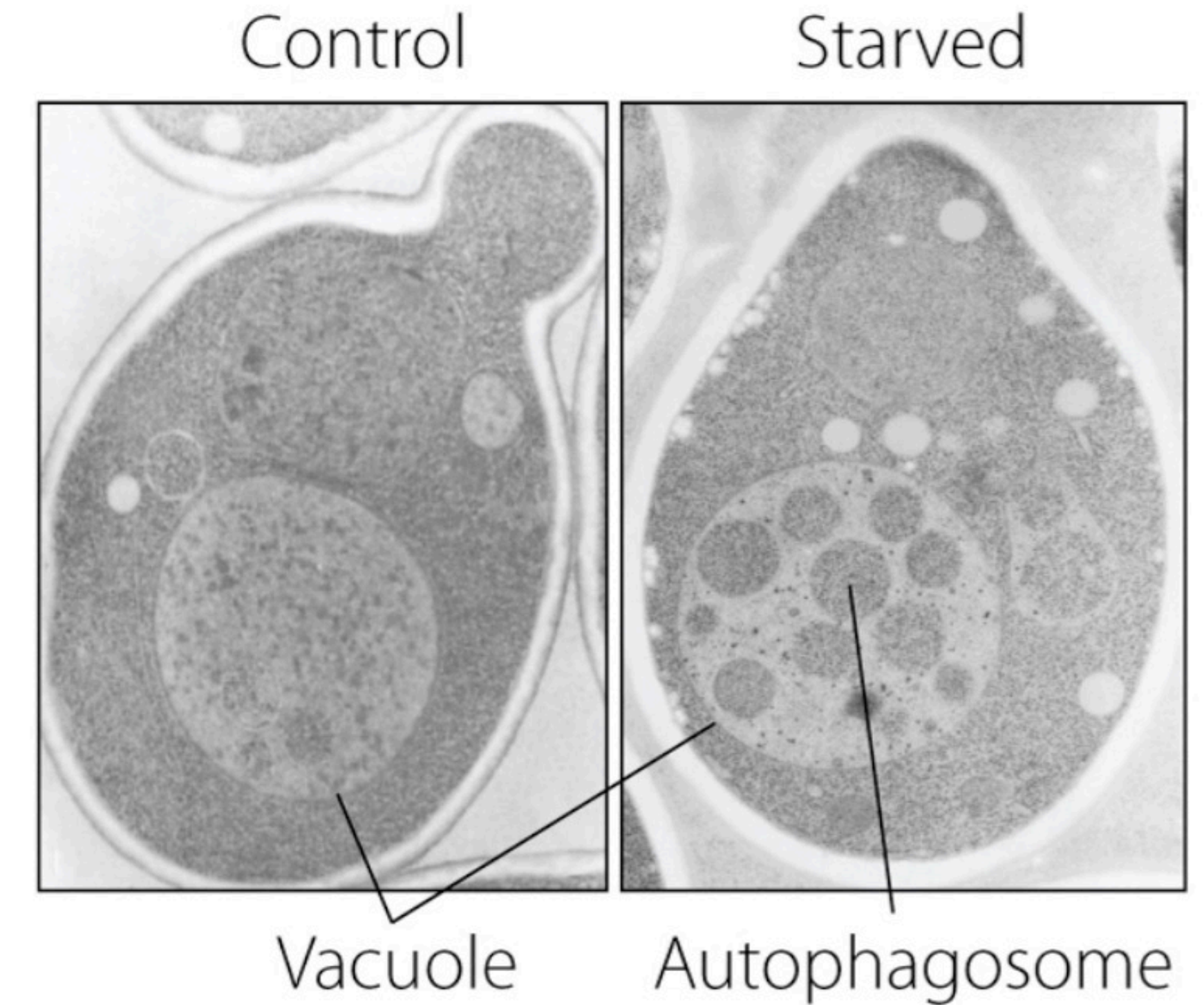


Figure 1: Our cells have different specialized compartments. Lysosomes constitute one such compartment and contain enzymes for digestion of cellular contents. A new type of vesicle called *autophagosome* was observed within the cell. As the autophagosome forms, it engulfs cellular contents, such as damaged proteins and organelles. Finally, it fuses with the lysosome, where the contents are degraded into smaller constituents. This process provides the cell with nutrients and building blocks for renewal.

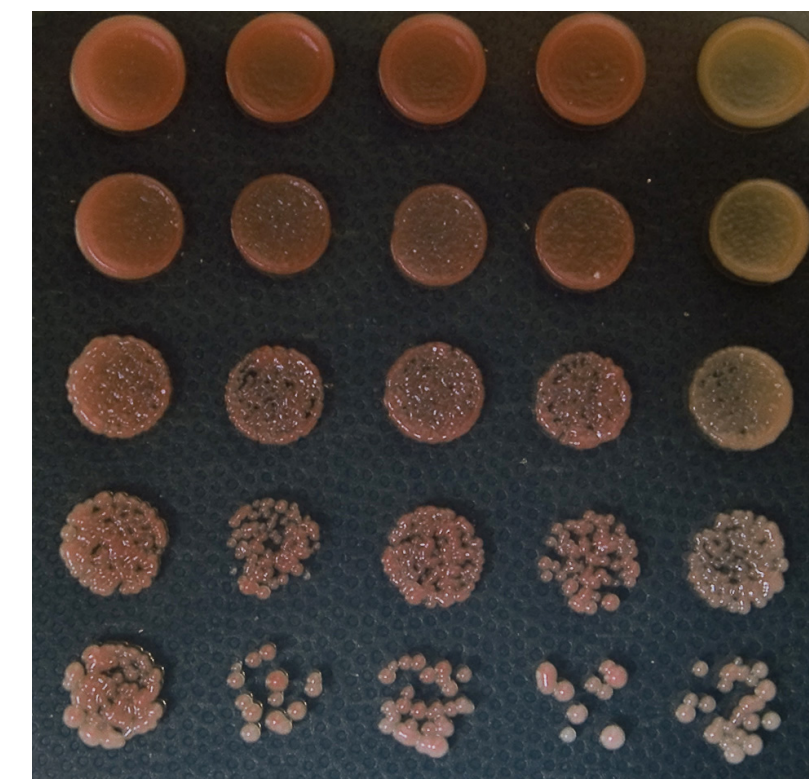
Badanie autofagii u drożdży

- Mutanty z defektami enzymów wakuolarnych
- Komórki głodzone (indukcja autofagii)
- W mutantach w wakuoli dochodzi wtedy do akumulacji niezdegradowanych autofagosomów
- Analizując kolekcje mutantów można identyfikować geny, których produkty uczestniczą w autofagii (*ATG9*, *PI3K*, *VPS34*, *VPS15*, *ATG6*, *ATG14* itp.)

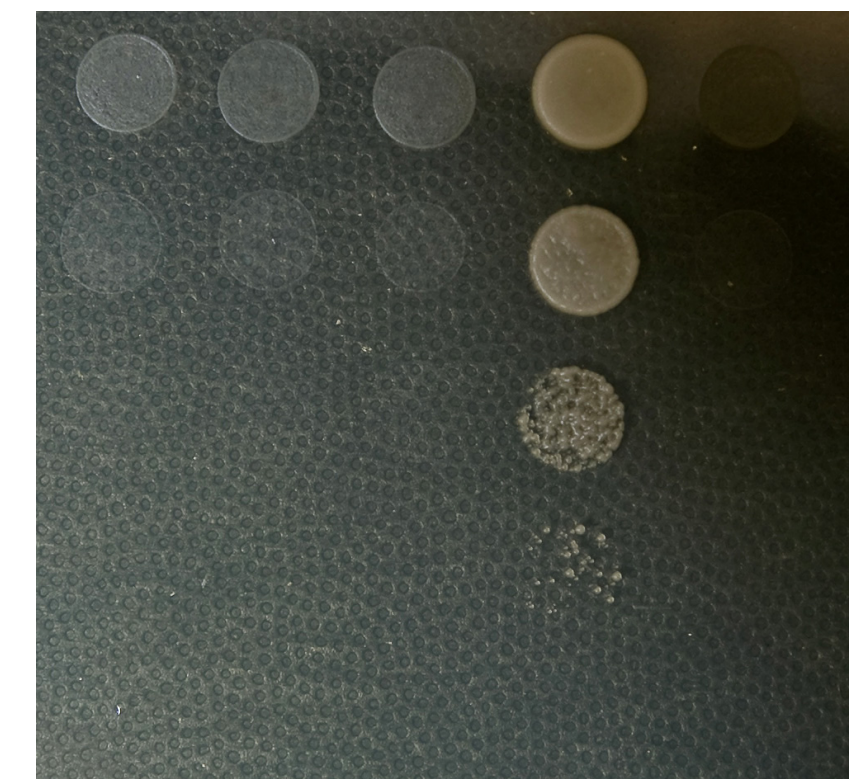


S. cerevisiae i mitochondria – co szczególnego?

- Przeżywa bez funkcji oddechowej (fakultatywny tlenowiec, fermentacja)
- Mutanty z defektywnym oddychaniem – *petite* (lata 1960.)
- Przeżywa bez genomu mitochondrialnego (“petite positive”)
- U *S. cerevisiae* glukoza hamuje oddychanie (efekt Crabtree), inne gatunki preferują oddychanie



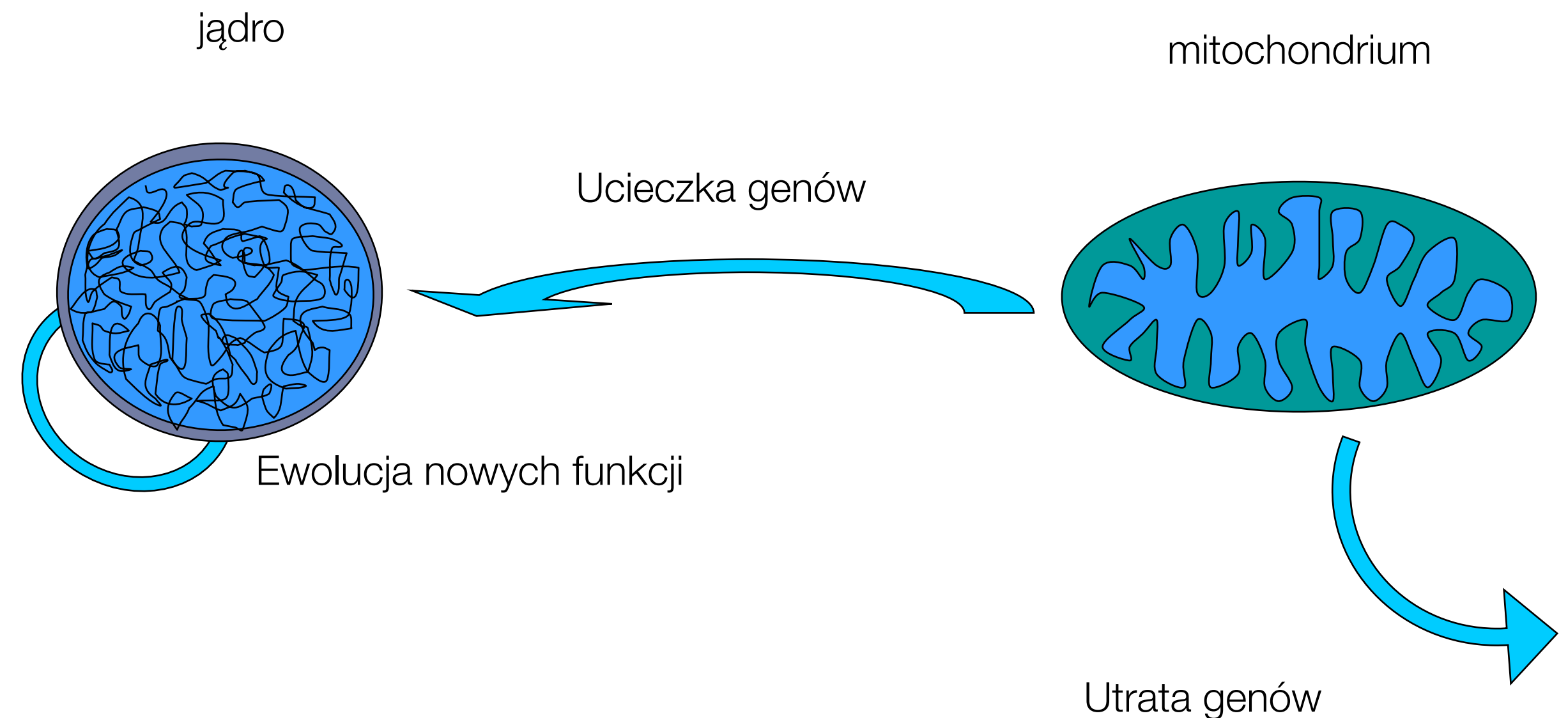
(fermentacja)



(oddychanie)

Oddziaływania jądrowo mitochondrialne

- Proteom mitochondrium ~500-800 białek
- 8-9 kodowane w mtDNA
- Ponad 150 genów jądrowych niezbędnych do utrzymania mitochondrialnego systemu genetycznego



Drożdże i choroby



Search and retrieve *S. cerevisiae* data with YeastMine, populated by SGD and powered by InterMine.

Data Updated on: Mar-16-2014

[Contact Us](#) [Video Tutorials](#) [Help](#) [Log in](#)

[Home](#) [Templates](#) [Lists](#) [QueryBuilder](#) [Tools](#) [Regions](#) [Data Sources](#) [API](#) [MyMine](#)

Search:



OMIM Disease Phenotype → human gene(s) → yeast homolog(s)
Specify [OMIM](#) phenotype(s) (by keyword or name) and retrieve all associated human gene(s) and the yeast homologs of these gene(s).

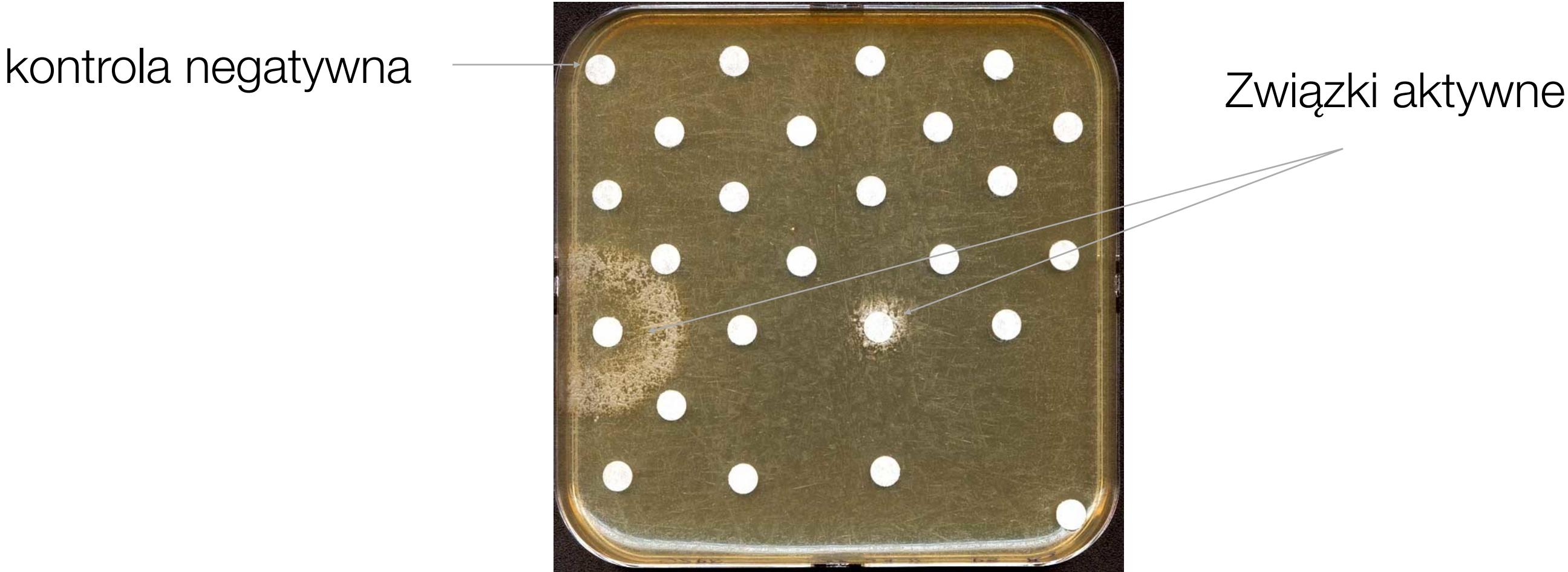
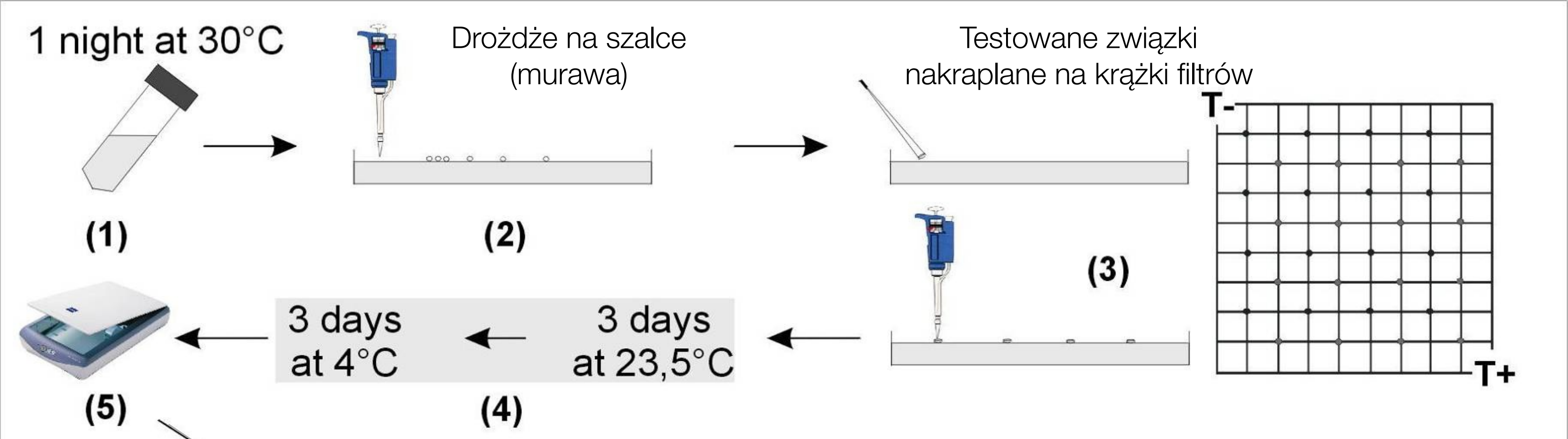
Disease > Name

[web service URL](#) [Perl](#) | [Python](#) | [Ruby](#) | [Java](#) [\[help\]](#) [export XML](#)

Powered by



Identyfikacja substancji aktywnych



Biologia syntetyczna - drożdże 2.0

- Projekt stworzenia syntetycznego genomu *S. cerevisiae*
- W chromosomach sekwencje ułatwiające indukcję rearanżacji

Design of a synthetic yeast genome

Sarah M. Richardson,^{1,2*} Leslie A. Mitchell,^{2,3} Giovanni Stracquadanio,^{1,2,4} Kun Yang,^{1,2} Jessica S. Dymond,^{2,†} James E. DiCarlo,^{2,‡} Dongwon Lee,^{1,§} Cheng Lai Victor Huang,² Srinivasan Chandrasegaran,⁵ Yizhi Cai,^{2,6} Jef D. Boeke,^{2,3#} Joel S. Bader^{1,2#}

Richardson *et al.*, *Science* **355**, 1040–1044 (2017)

