

# Organizmy modelowe - drożdże

---

*Saccharomyces cerevisiae* i nie tylko



# Co to są drożdże?

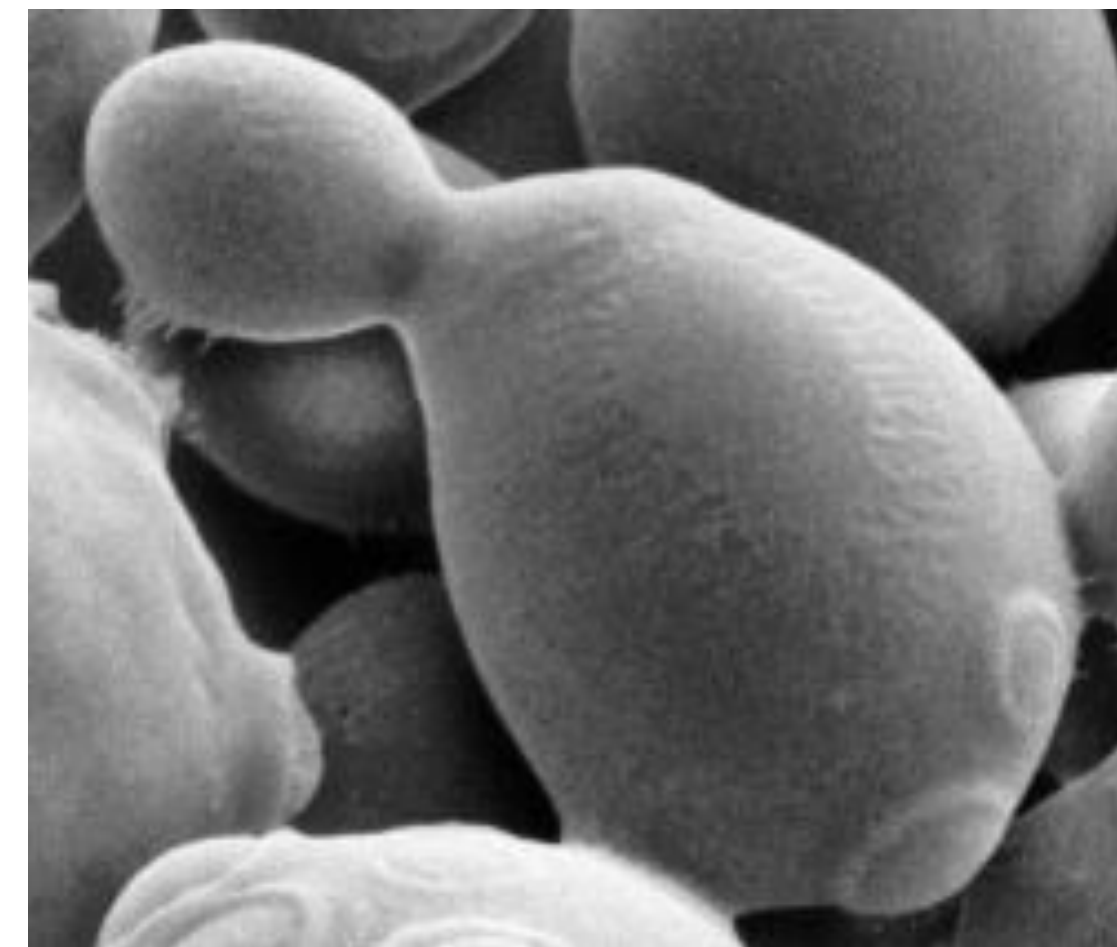
---

- 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:

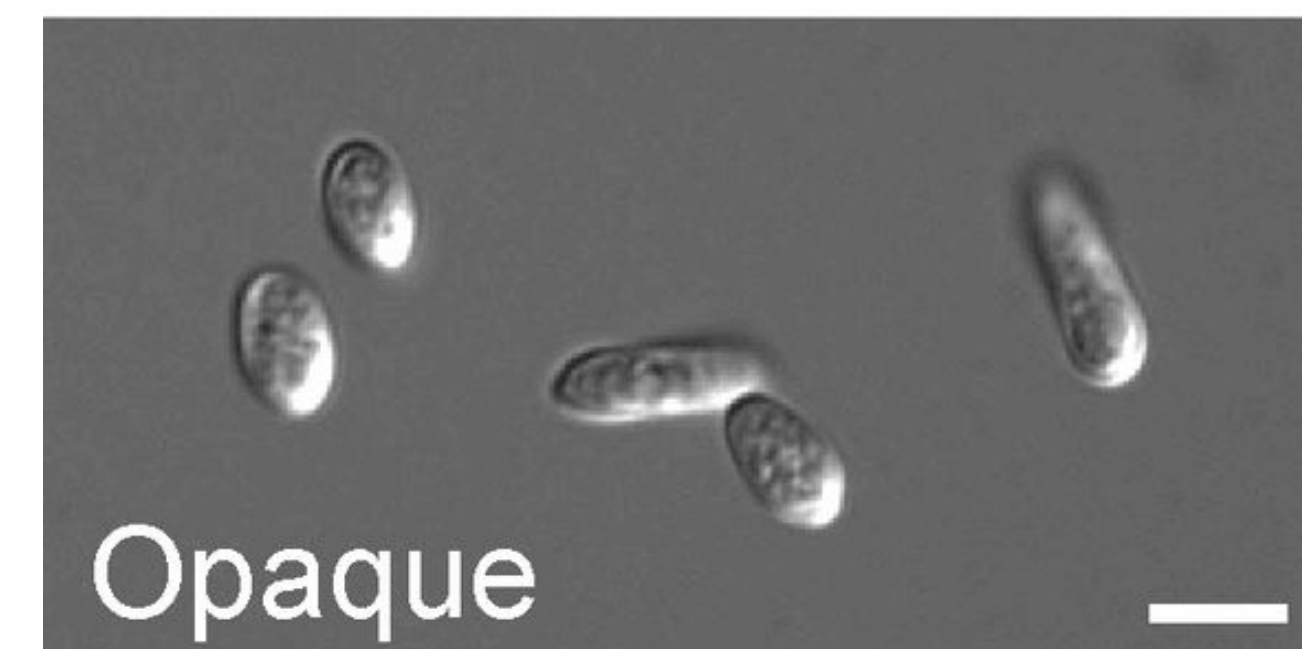
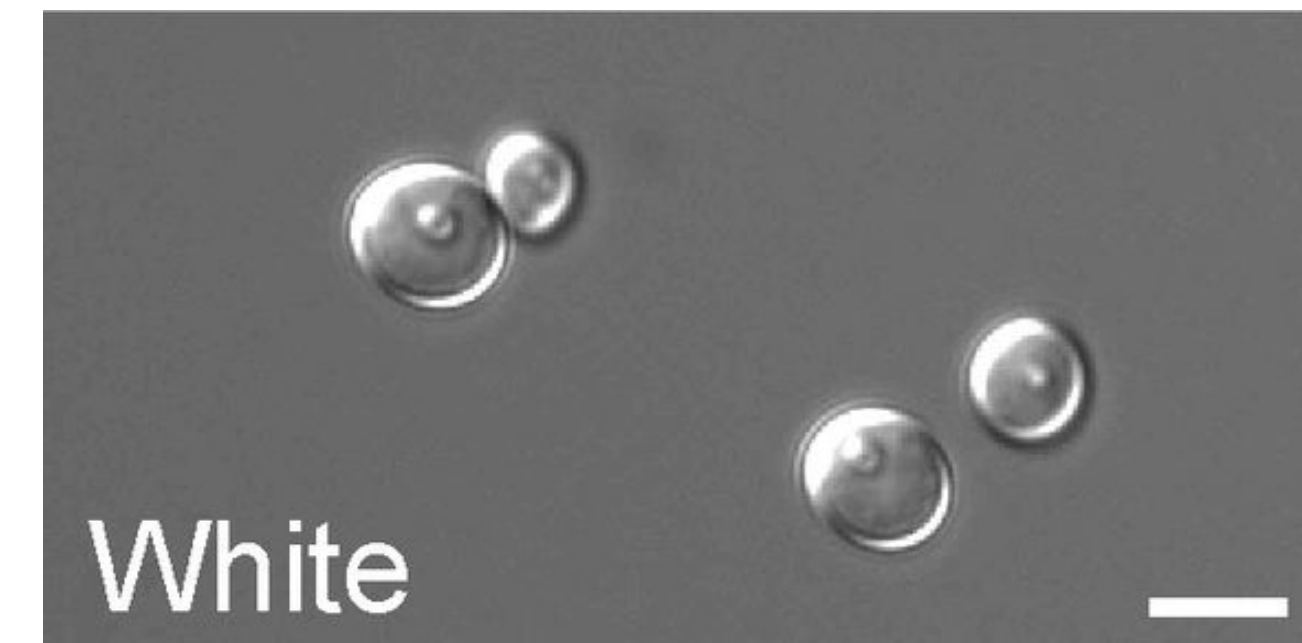
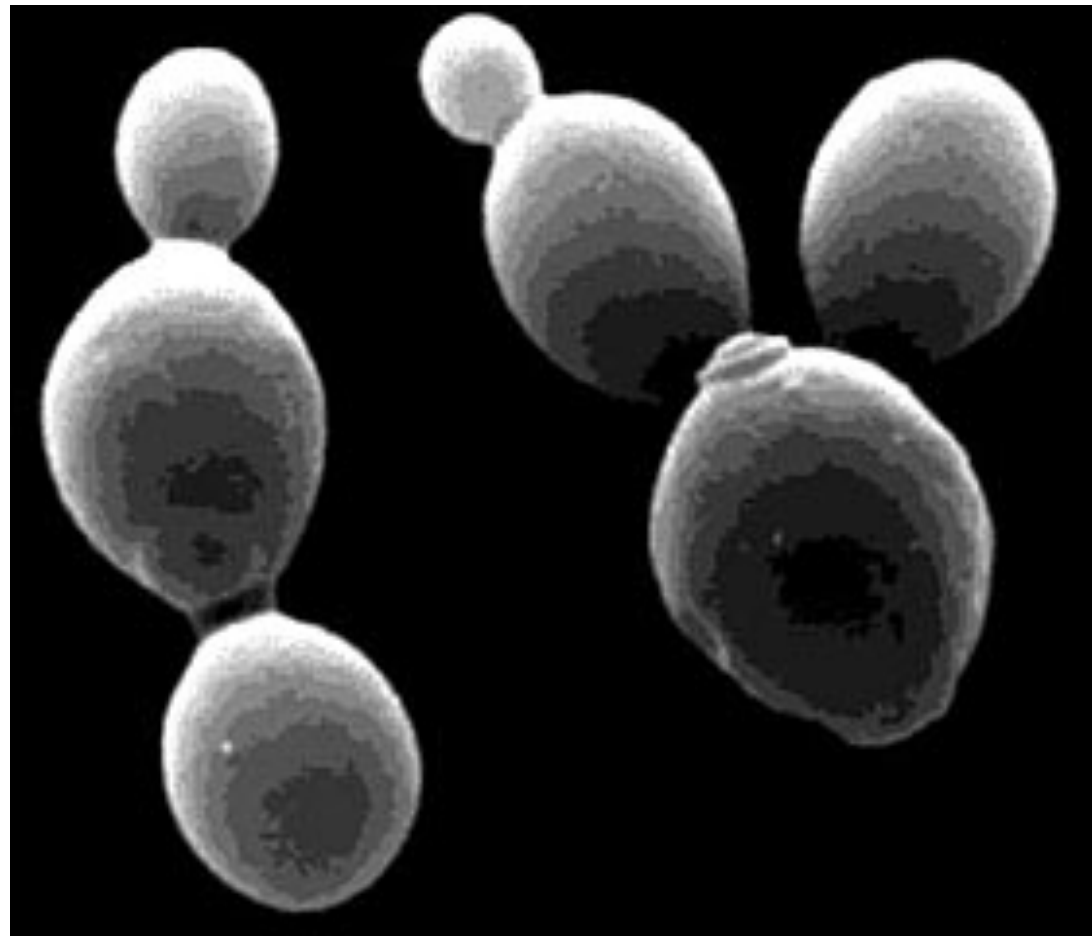


*Saccharomyces cerevisiae*

# Drożdże modelowe

---

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

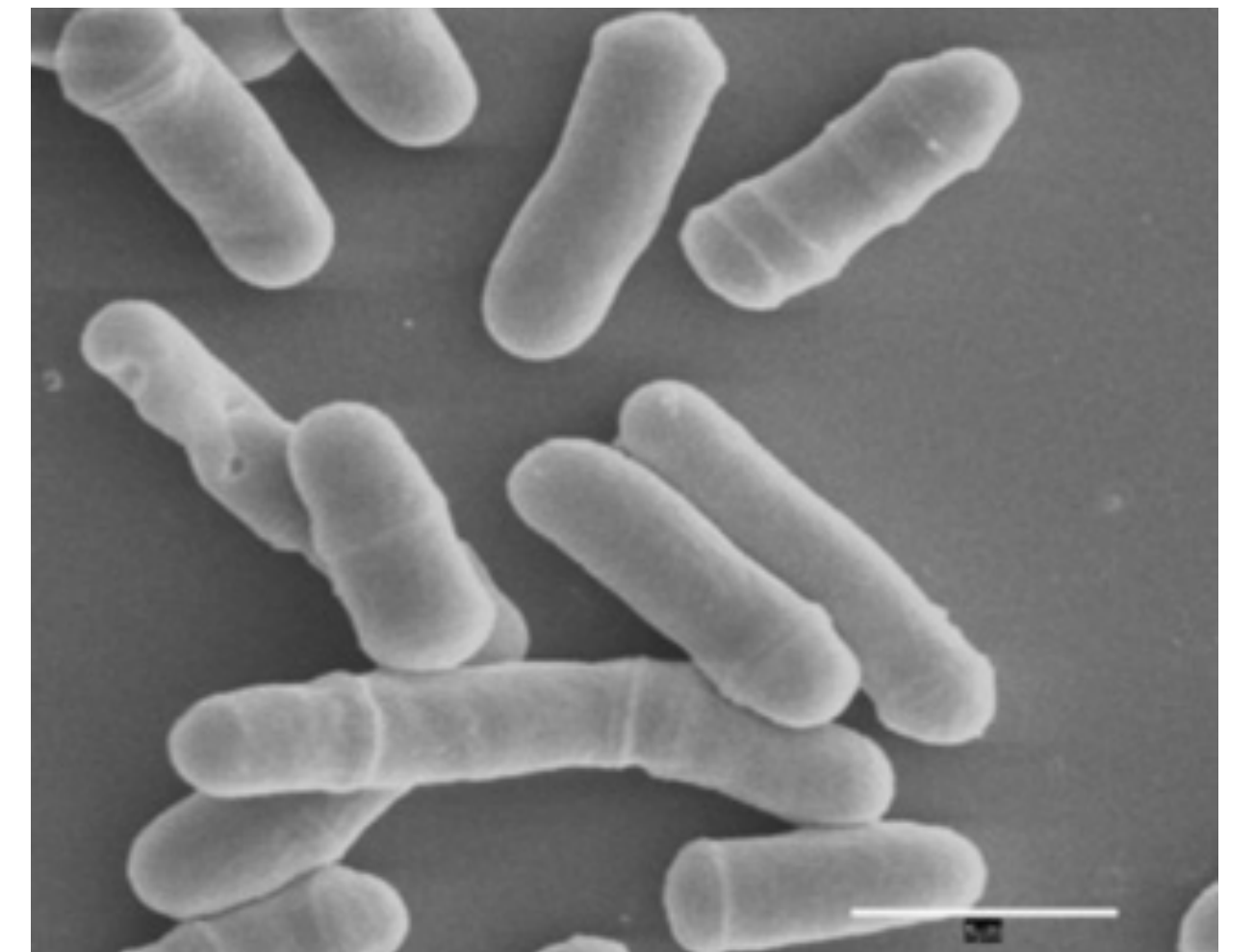




# Drożdże modelowe

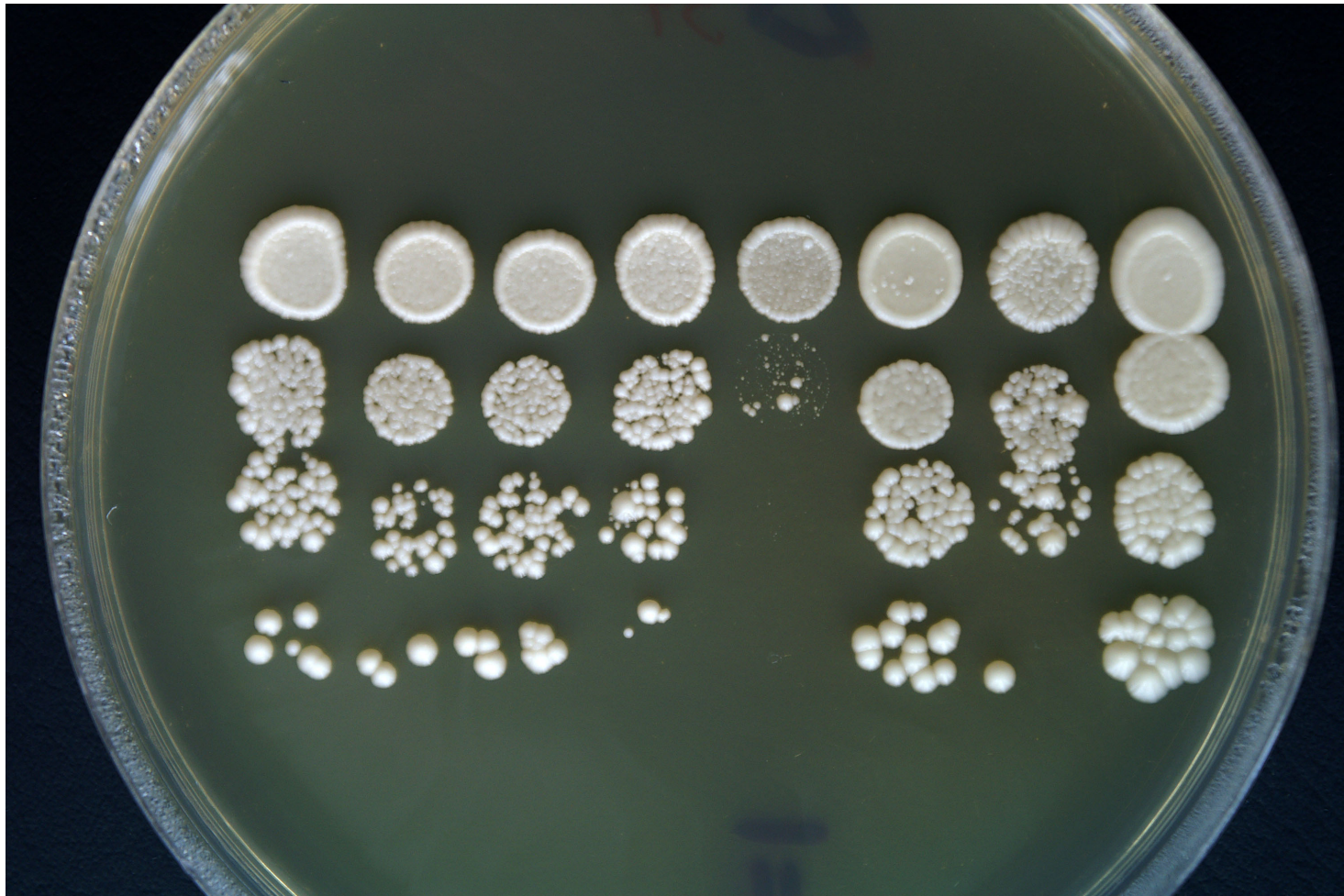
---

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

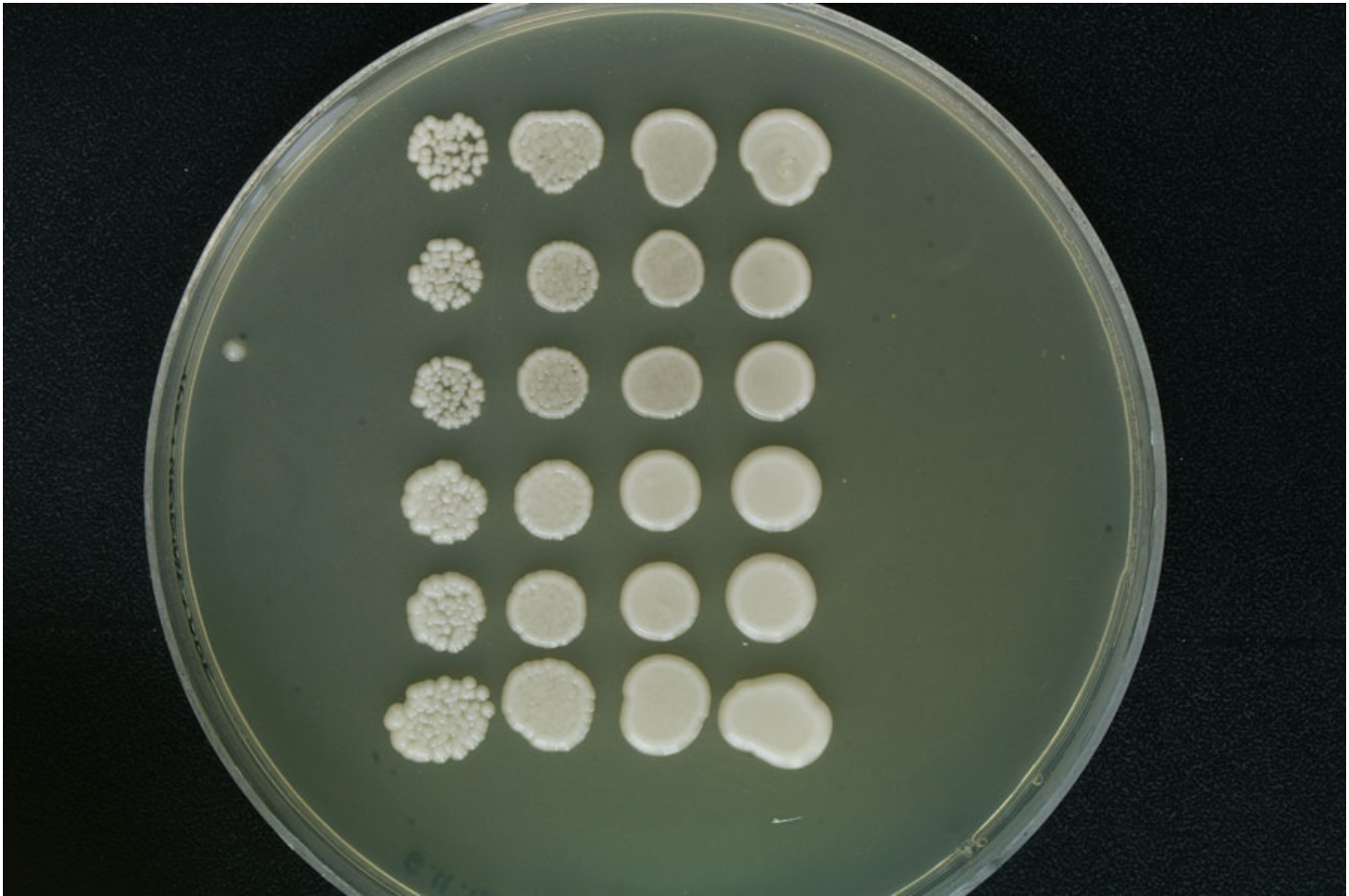


# Różne drożdże

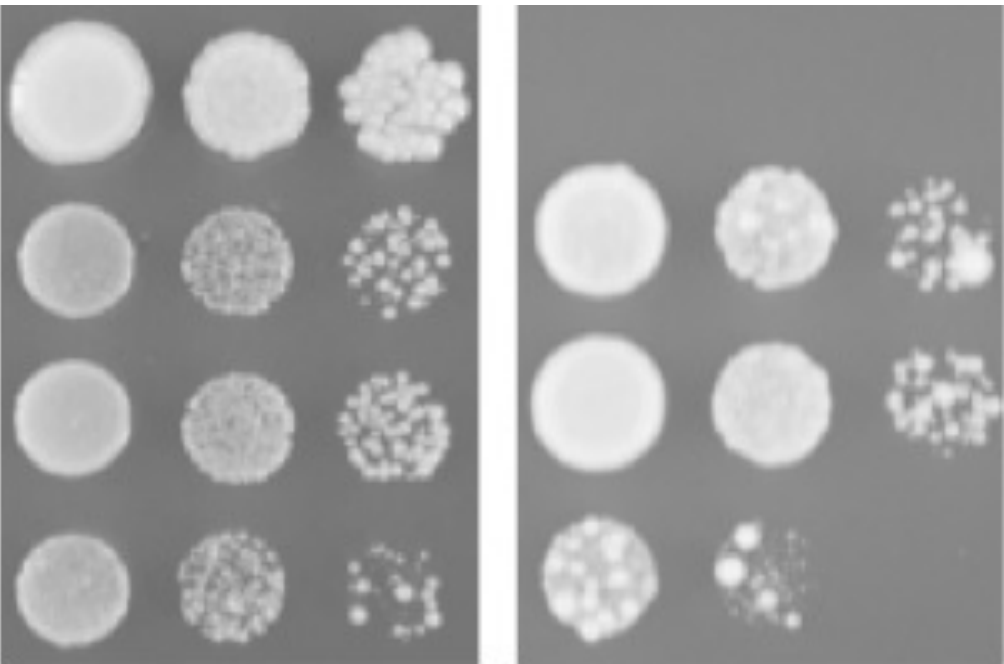
W laboratorium wyglądają podobnie



*S. cerevisiae*



*C. albicans*

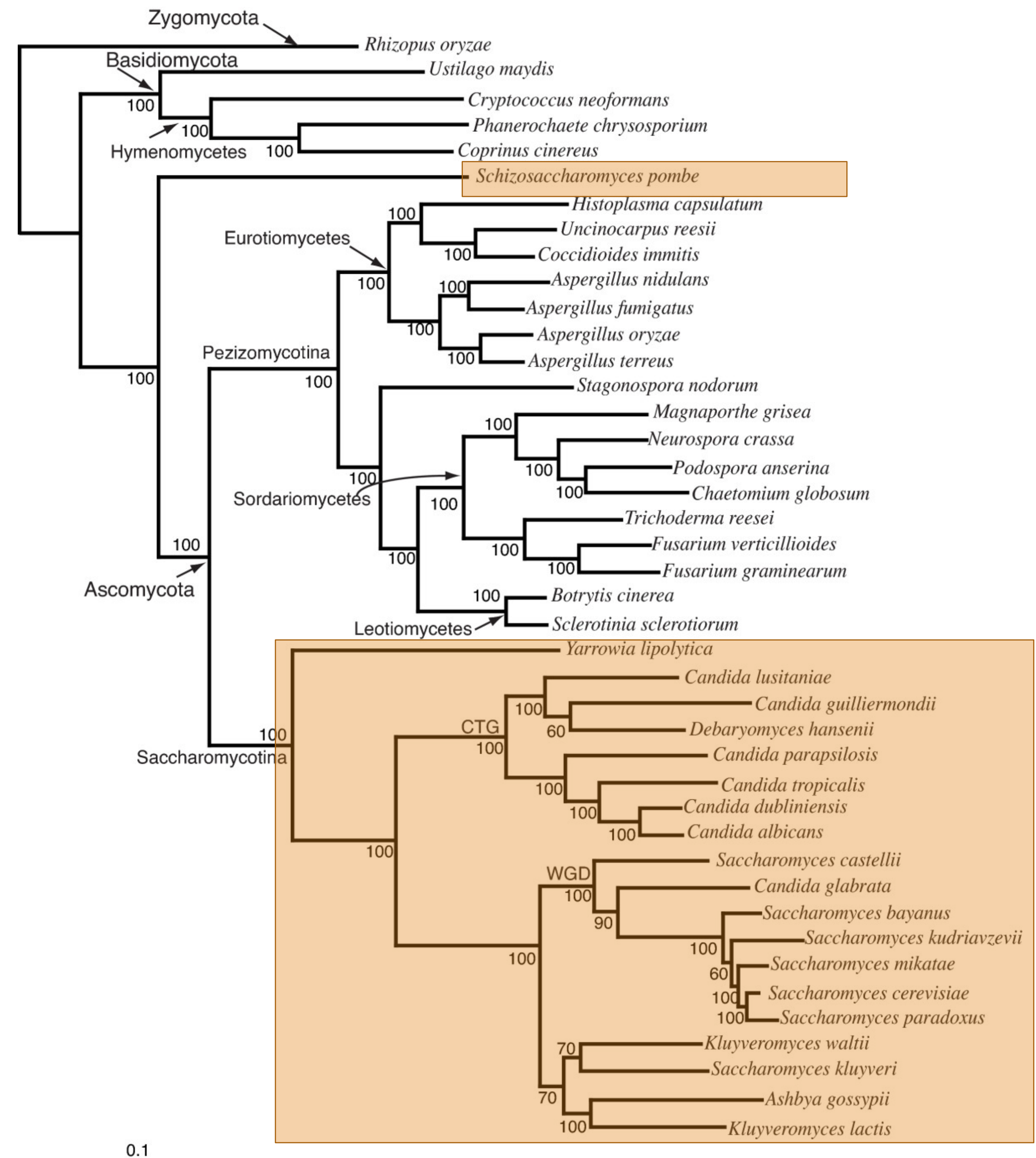


*S. pombe*



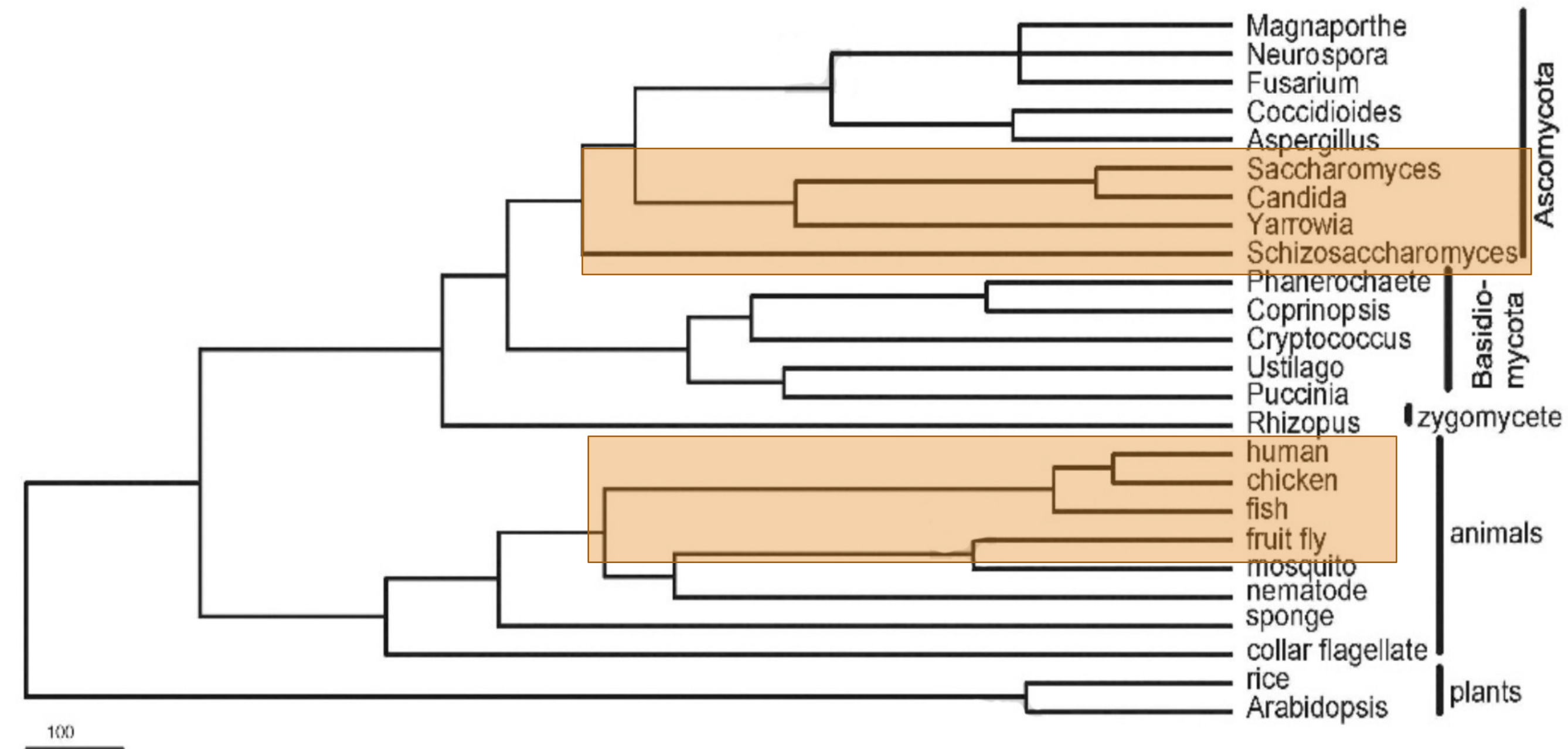
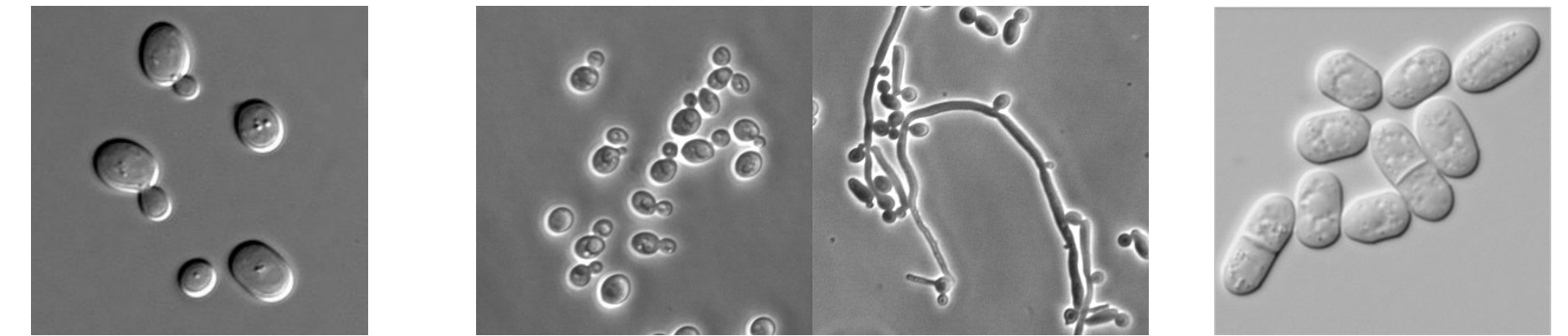
# Różnorodność drożdży

- 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

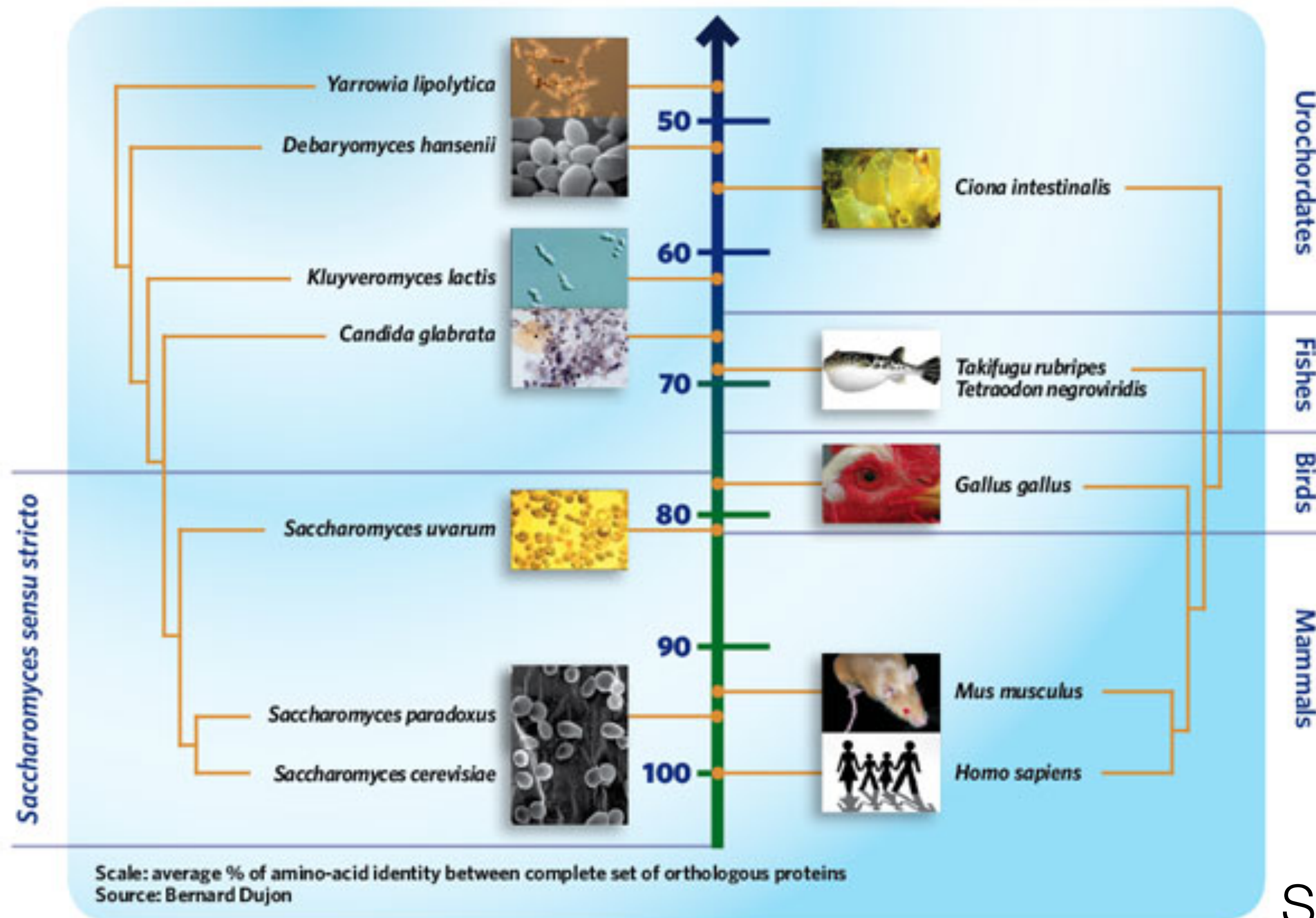


Taylor and Berbee, *Mycologia* 2006 98:838-49





# Różnorodność drożdży



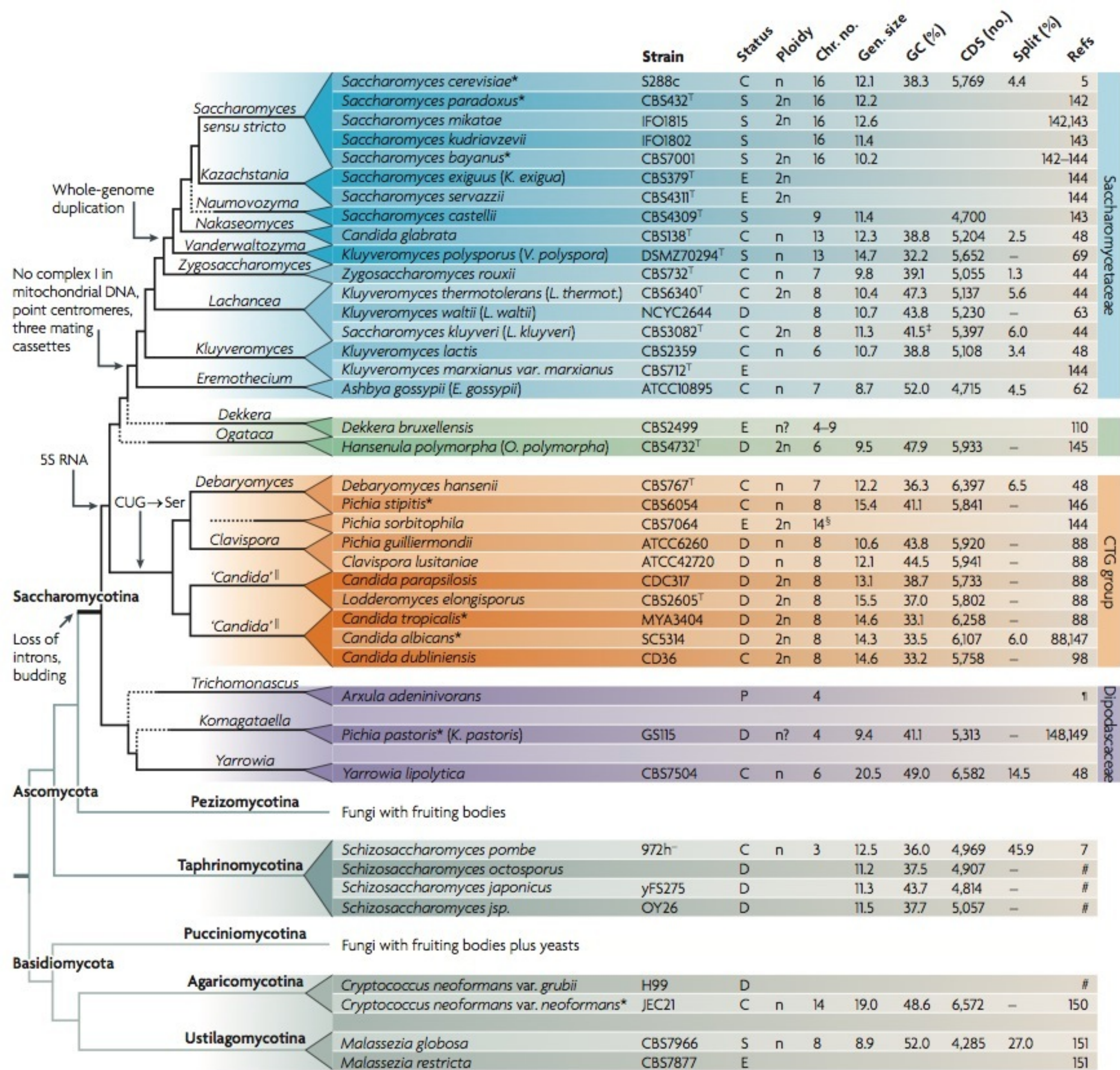
Saccharomycotina a strunowce

# Genomika ewolucyjna drożdży

---

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

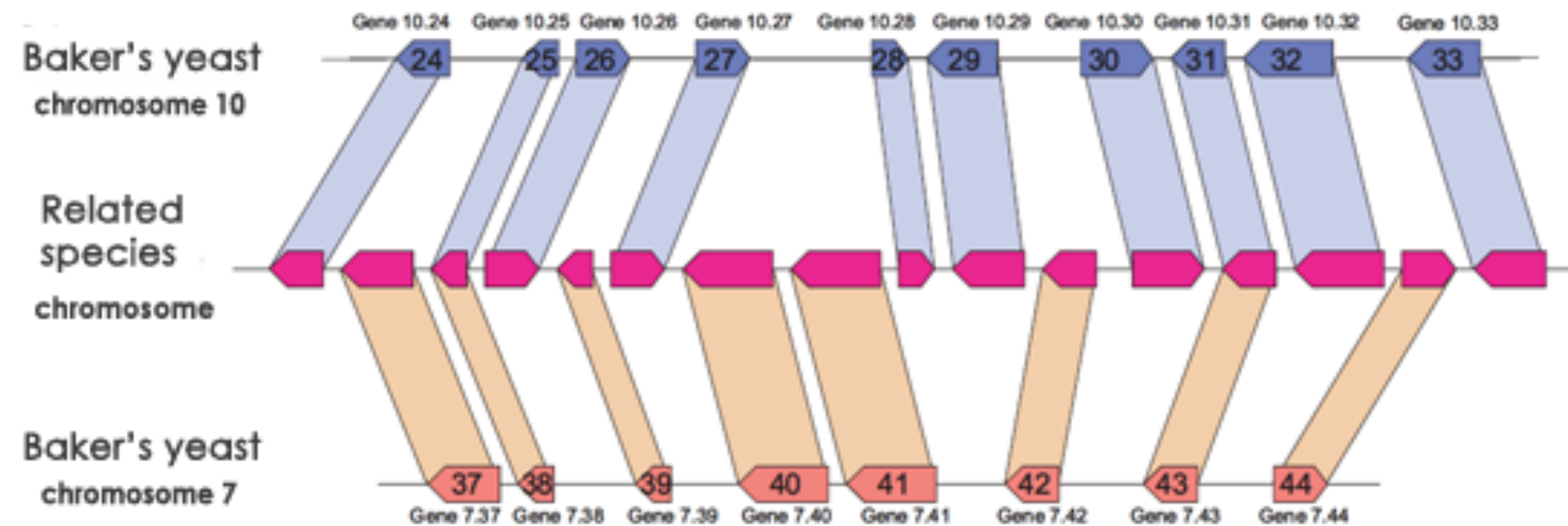






# Duplikacja genomu - efekty

- 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)

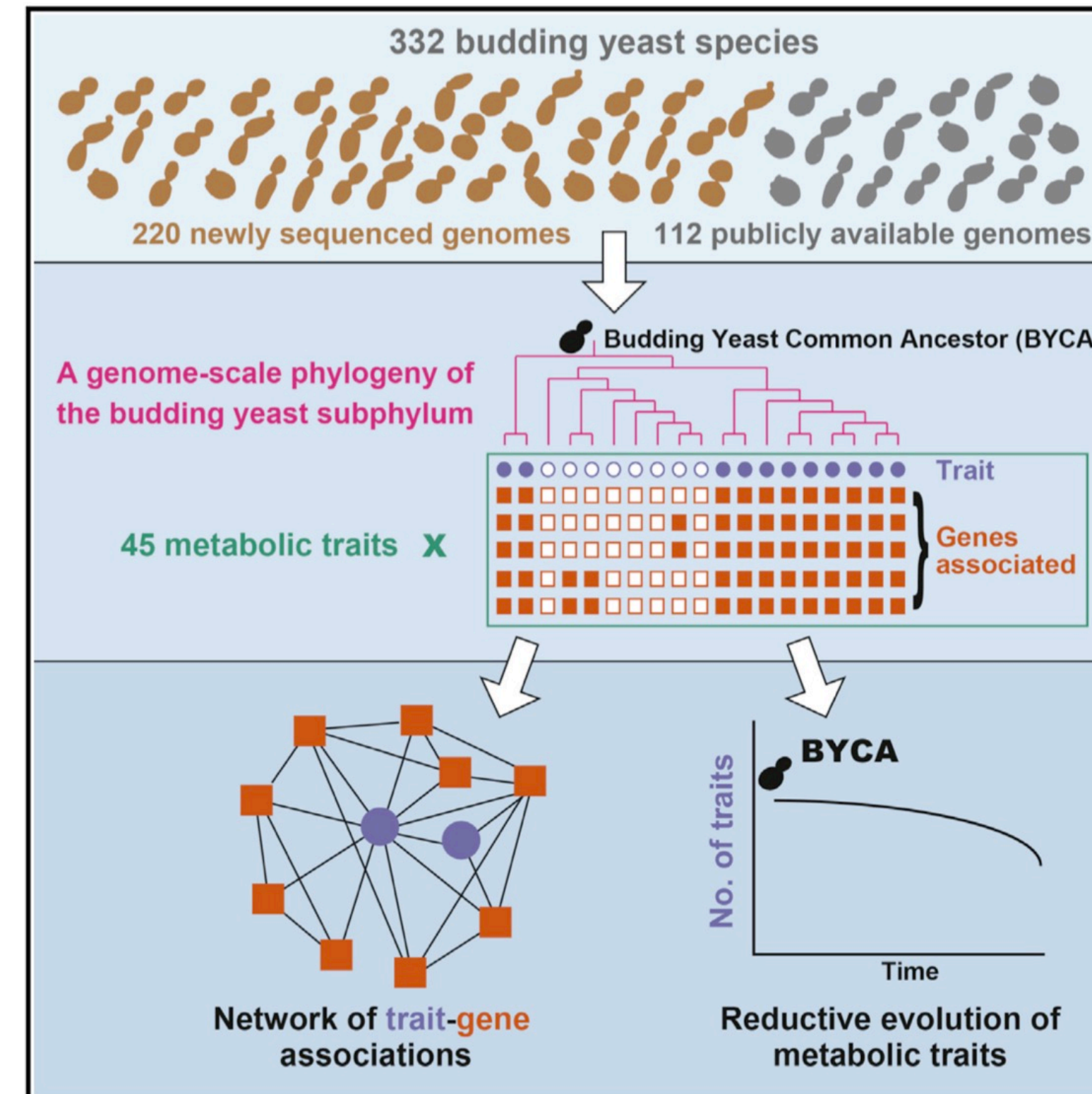


# Ewolucja Saccharomycotina

- 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)

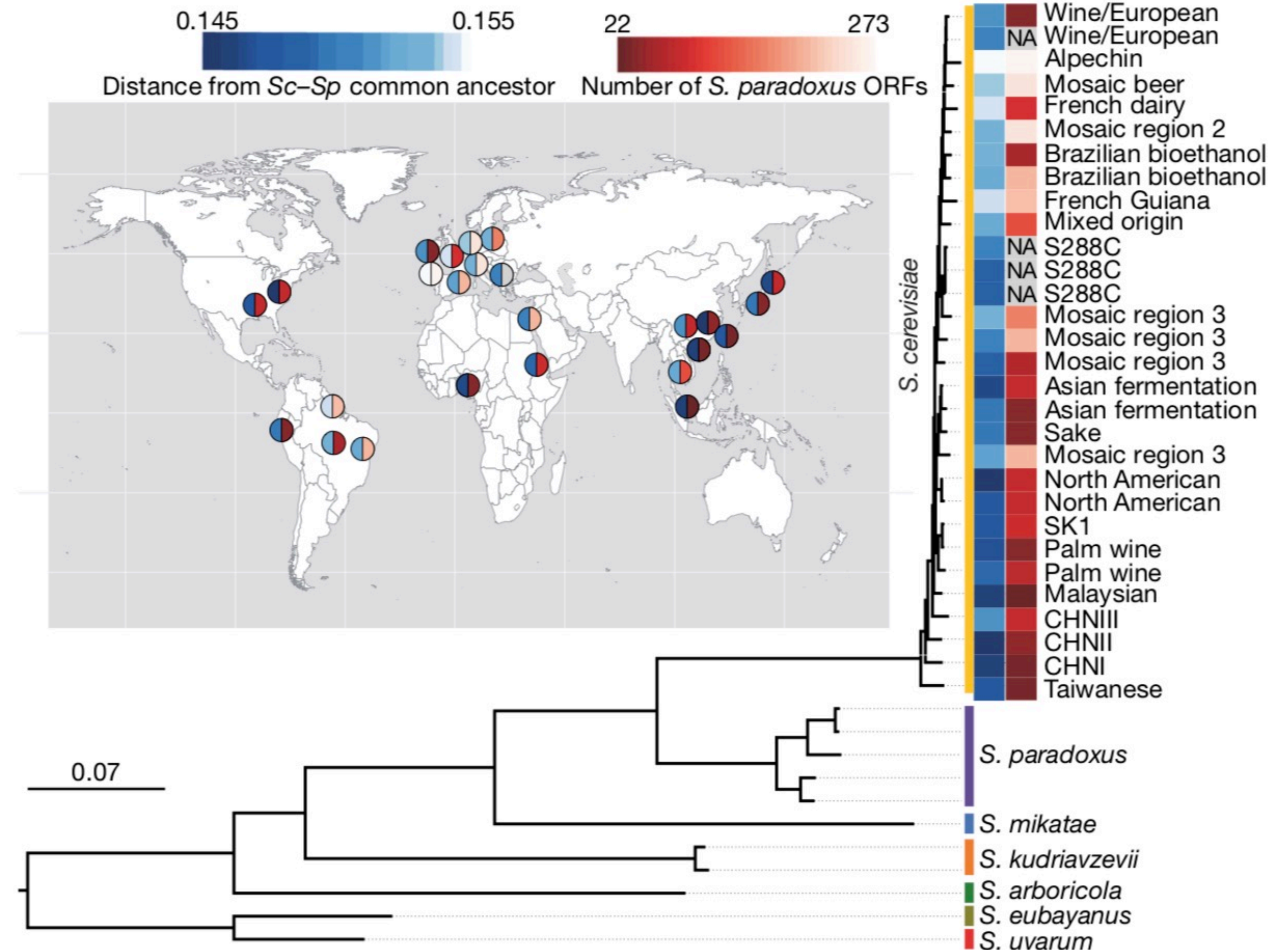
# Skąd pochodzi *S. cerevisiae*?

- Analiza sekwencji genomów 1011 szczepów wskazuje na pochodzenie z Chin

## Genome evolution across 1,011 *Saccharomyces cerevisiae* isolates

Jackson Peter<sup>1,6</sup>, Matteo De Chiara<sup>2,6</sup>, Anne Friedrich<sup>1</sup>, Jia-Xing Yue<sup>2</sup>, David Pflieger<sup>1</sup>, Anders Bergström<sup>2</sup>, Anastasie Sigwalt<sup>1</sup>, Benjamin Barre<sup>2</sup>, Kelle Freel<sup>1</sup>, Agnès Llored<sup>2</sup>, Corinne Cruaud<sup>3</sup>, Karine Labadie<sup>3</sup>, Jean-Marc Aury<sup>3</sup>, Benjamin Istace<sup>3</sup>, Kevin Lebrigand<sup>4</sup>, Pascal Barbry<sup>4</sup>, Stefan Engelen<sup>3</sup>, Arnaud Lemainque<sup>3</sup>, Patrick Wincker<sup>3,5,7</sup>, Gianni Liti<sup>2,7\*</sup> & Joseph Schacherer<sup>1,7\*</sup>

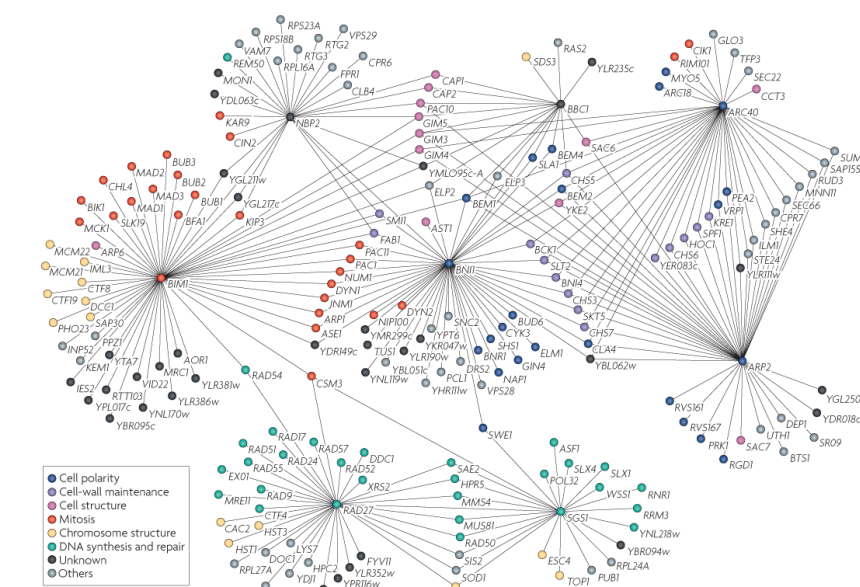
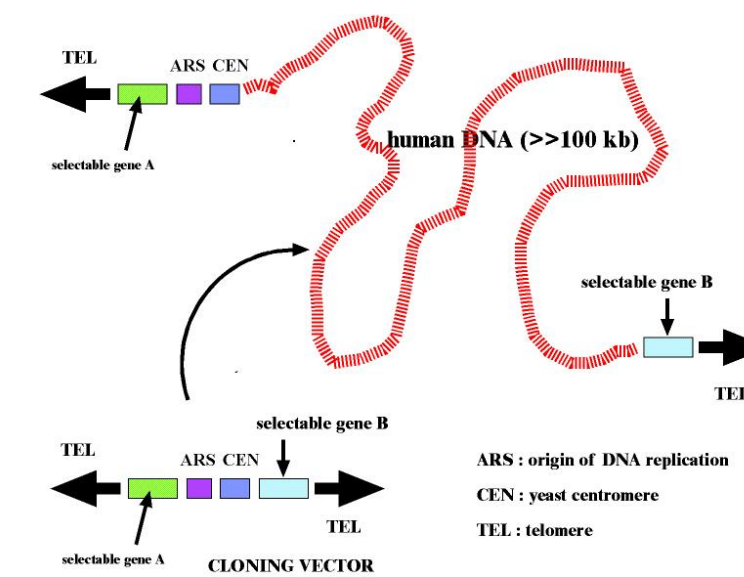
19 APRIL 2018 | VOL 556 | NATURE | 339





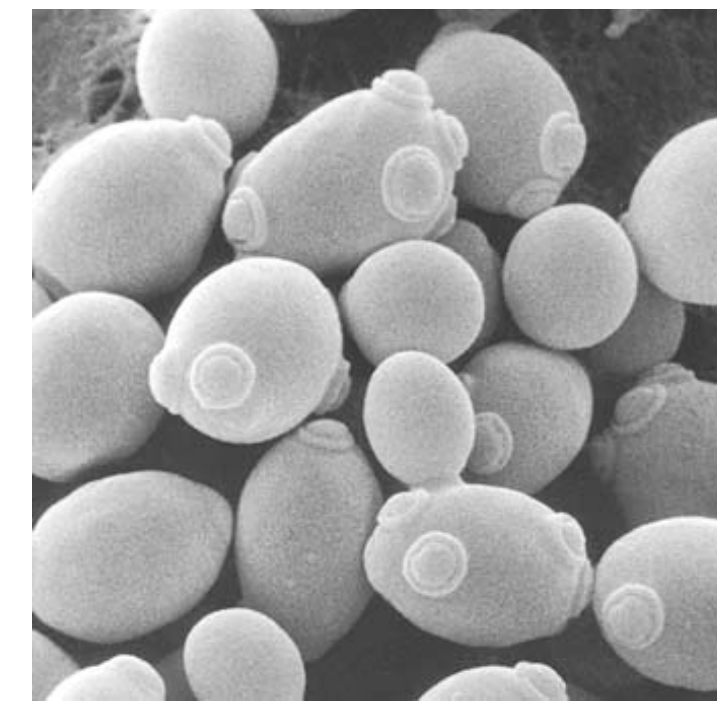
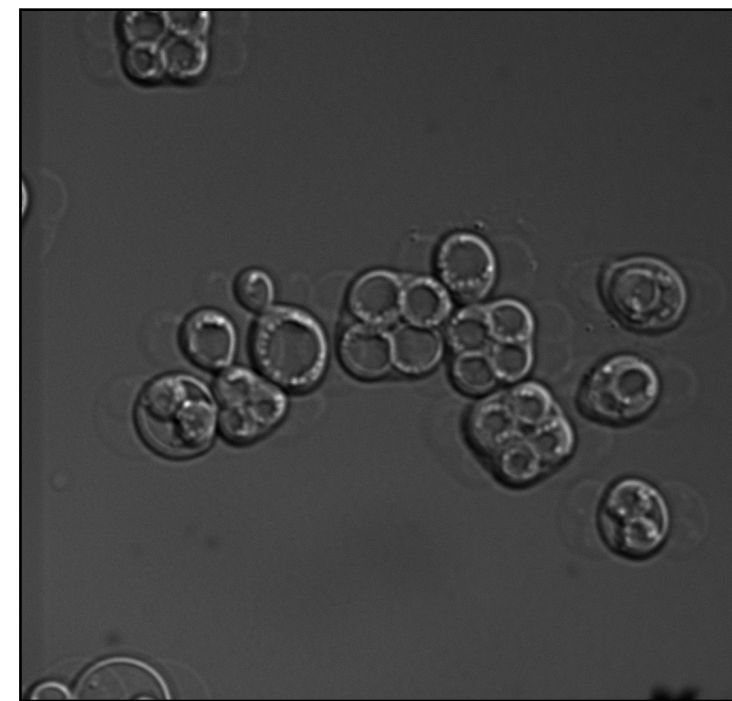
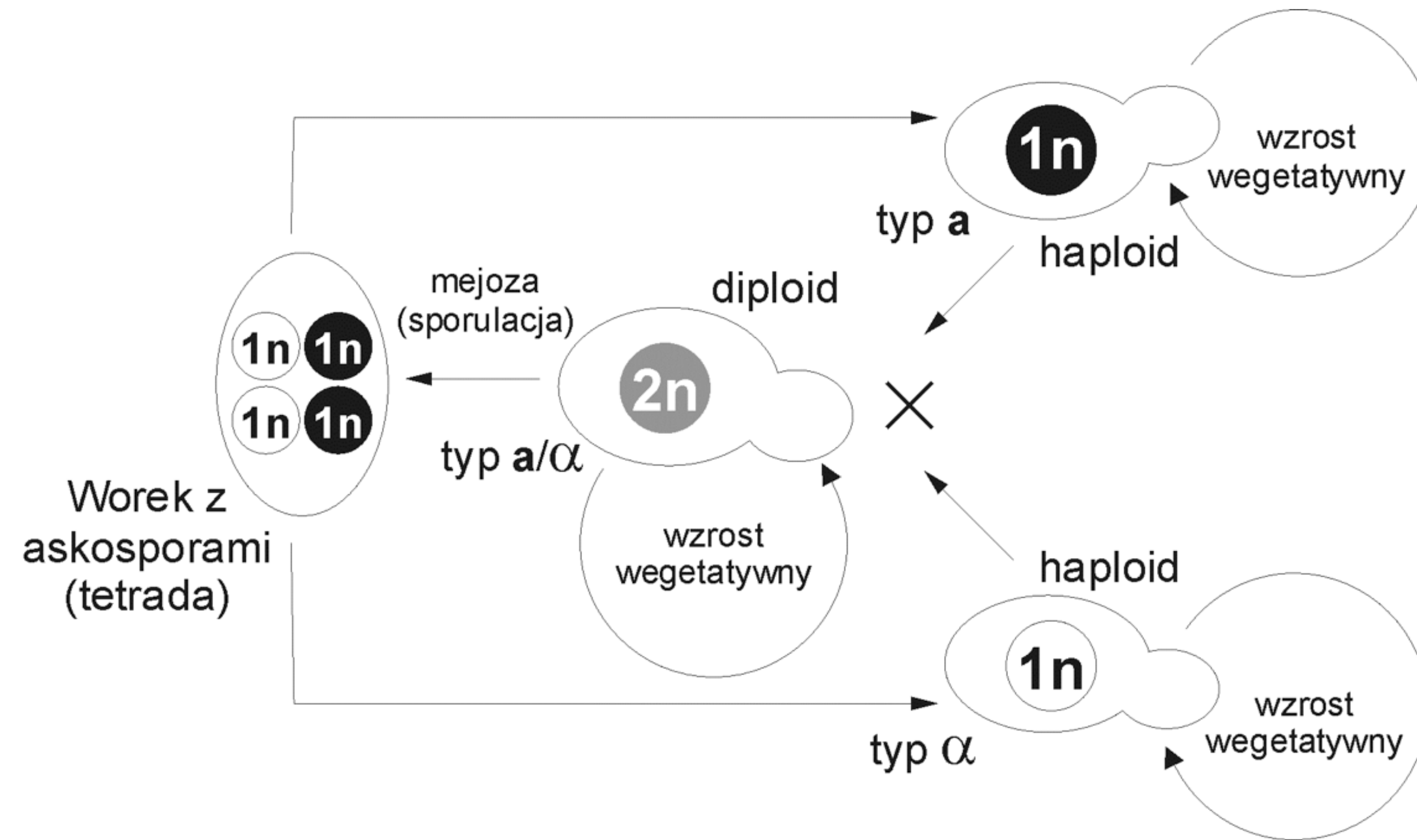
# *S. cerevisiae* - zastosowania

- 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



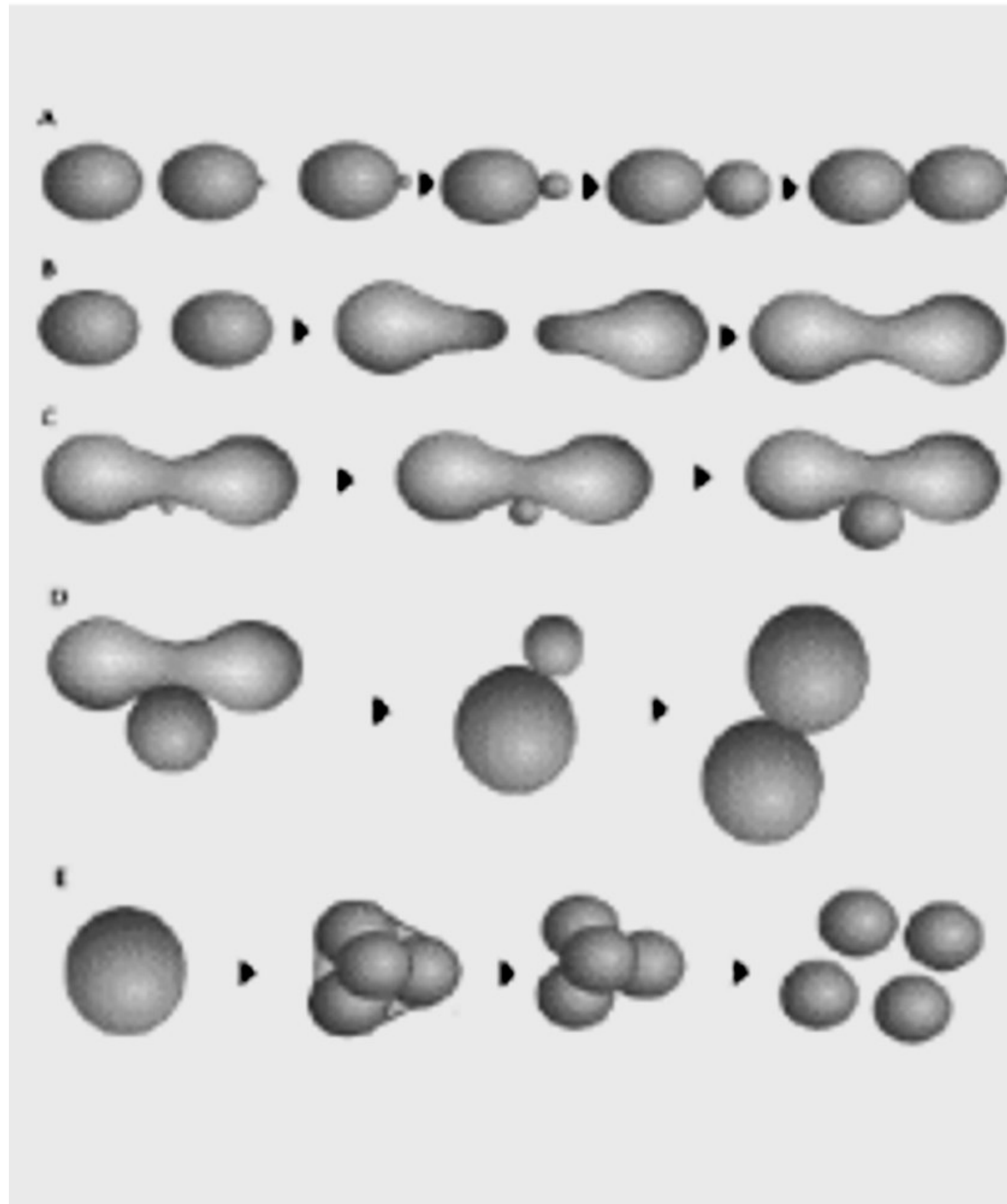


# *Saccharomyces cerevisiae*



# *S. cerevisiae* – cykl życiowy

---



Pączkowanie (mitoza)

Koniugacja

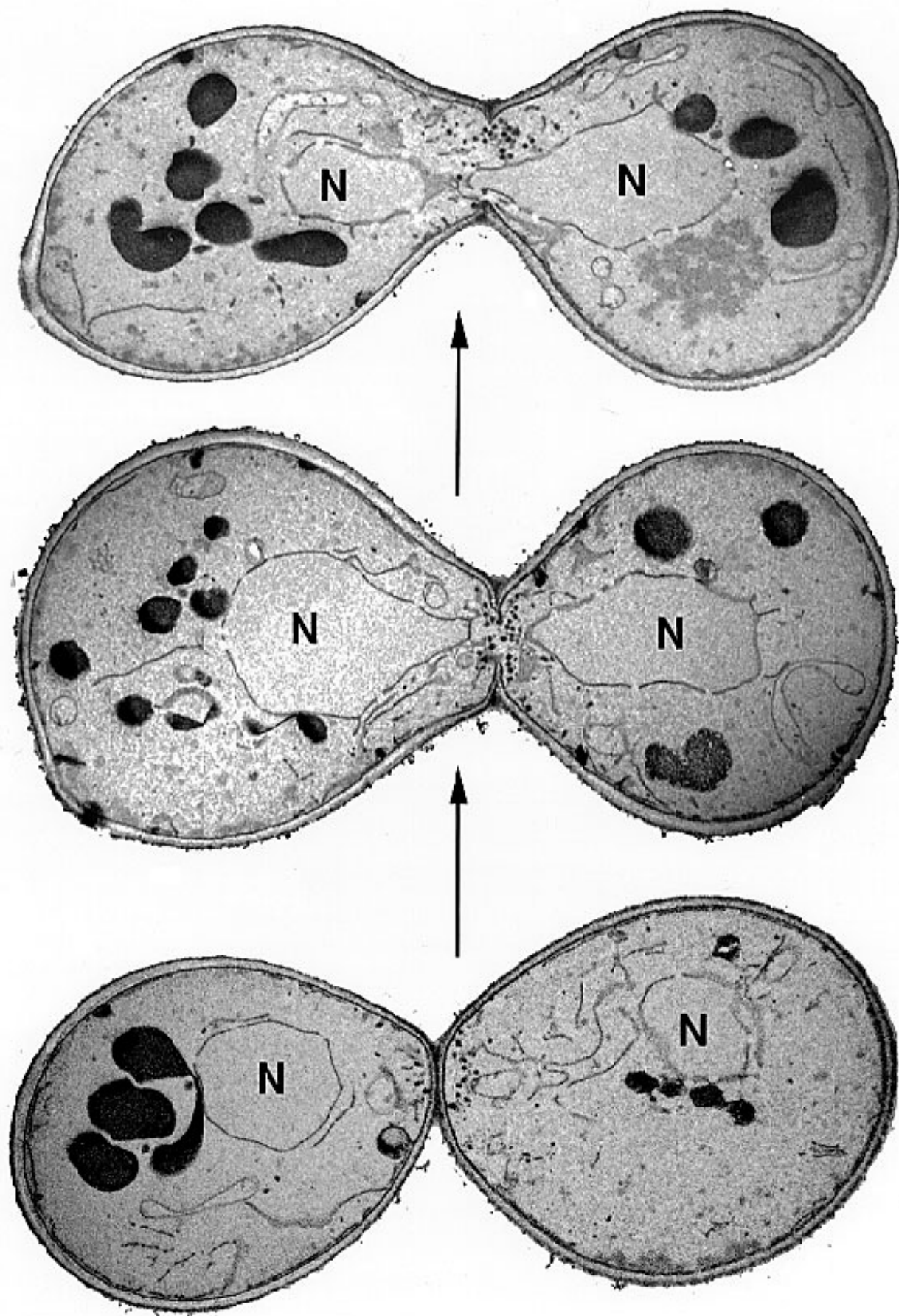
1. pączkowanie zygoty po koniugacji

Sporulacja

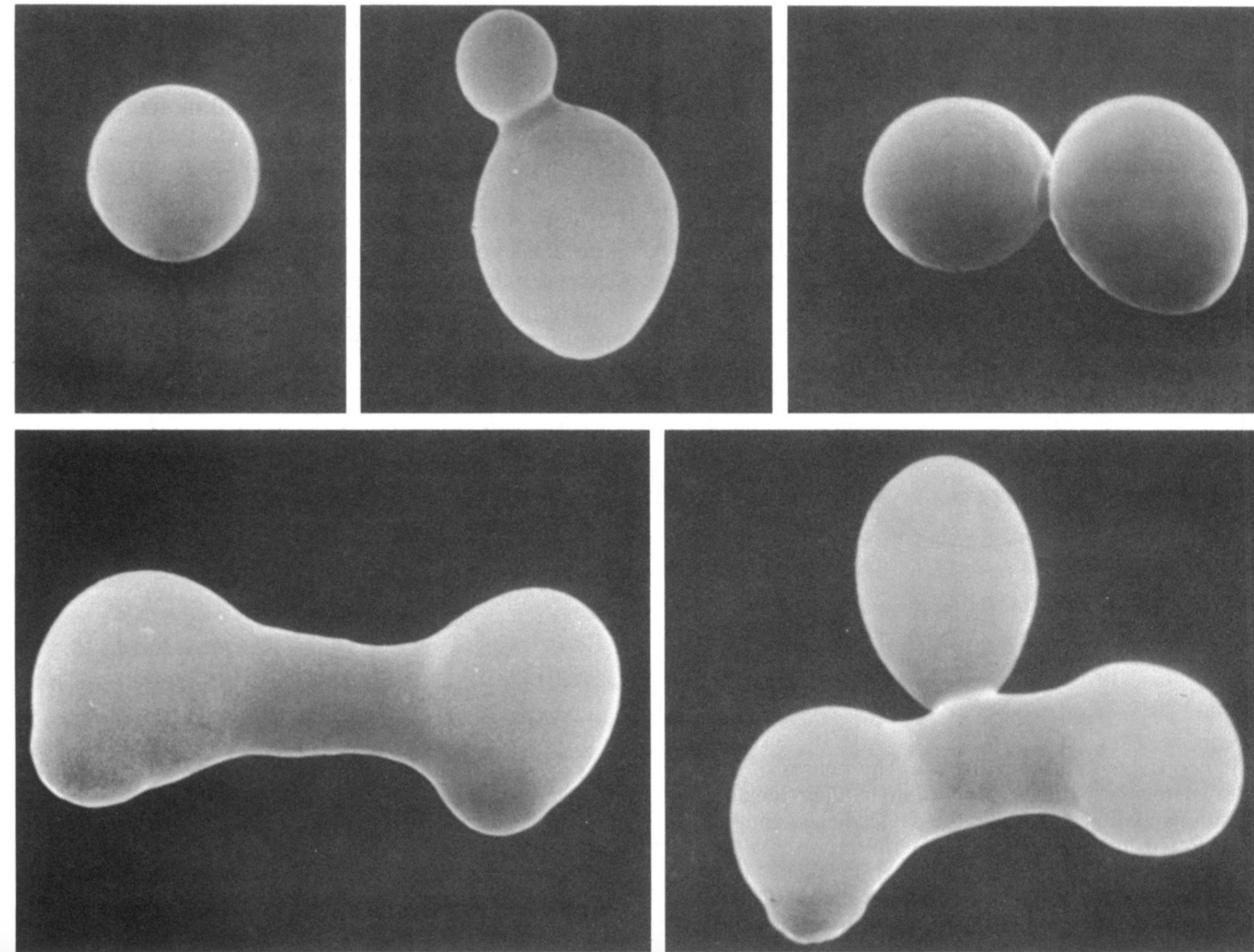


# *S. cerevisiae* – cykl życiowy

## Pączkowanie (mitoza)



Koniugacja



Zygota

1. pączkowanie zygoty  
po koniugacji

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

# Mutacja *Kar1-1*

---

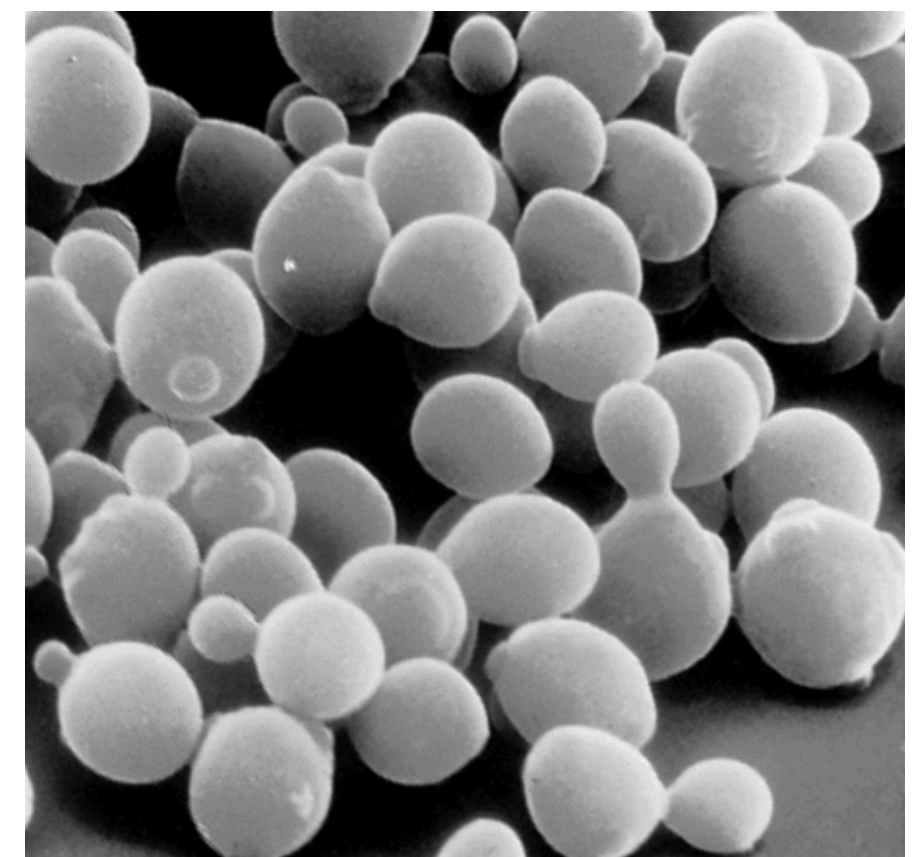
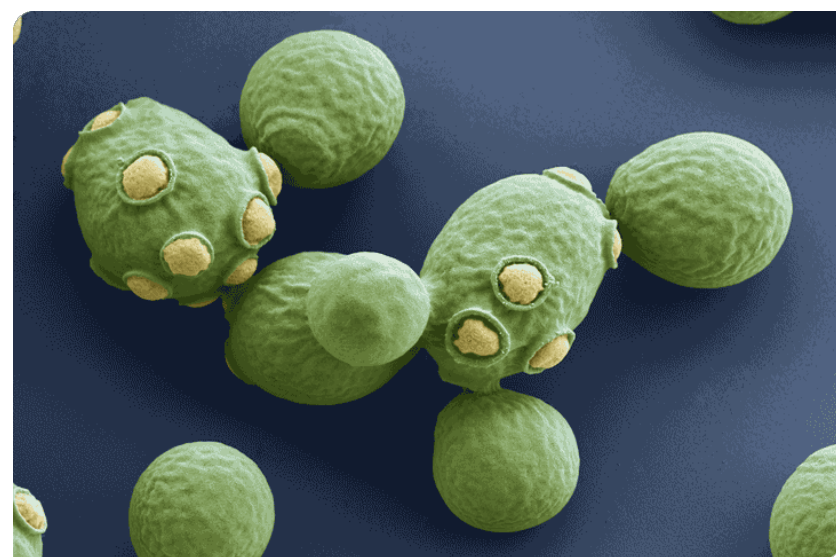
- Blokuje kariogamię - łączenie jąder po koniugacji
- Tworzy się “zygota”  $n + n$
- Podział odtwarza haploidalne komórki
- Dochodzi do wymieszania zawartości cytoplazm
- Stosowane do przenoszenia elementów cytoplazmatycznych z tła jednego genomu jądrowego do innego
  - mitochondria i mtDNA (cytodukcja)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



## *S. cerevisiae* – rozmnażanie przez mitozę

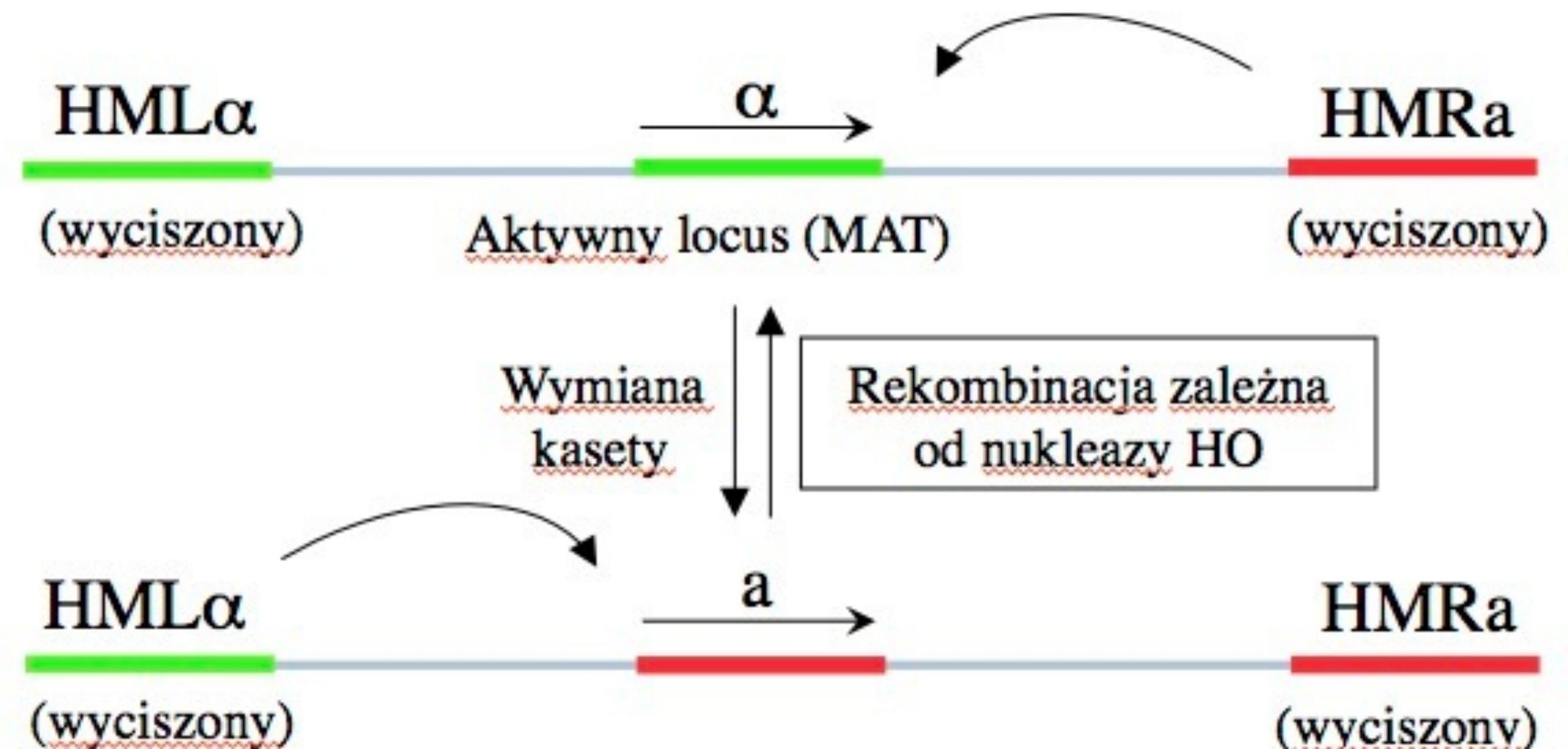
---

- 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



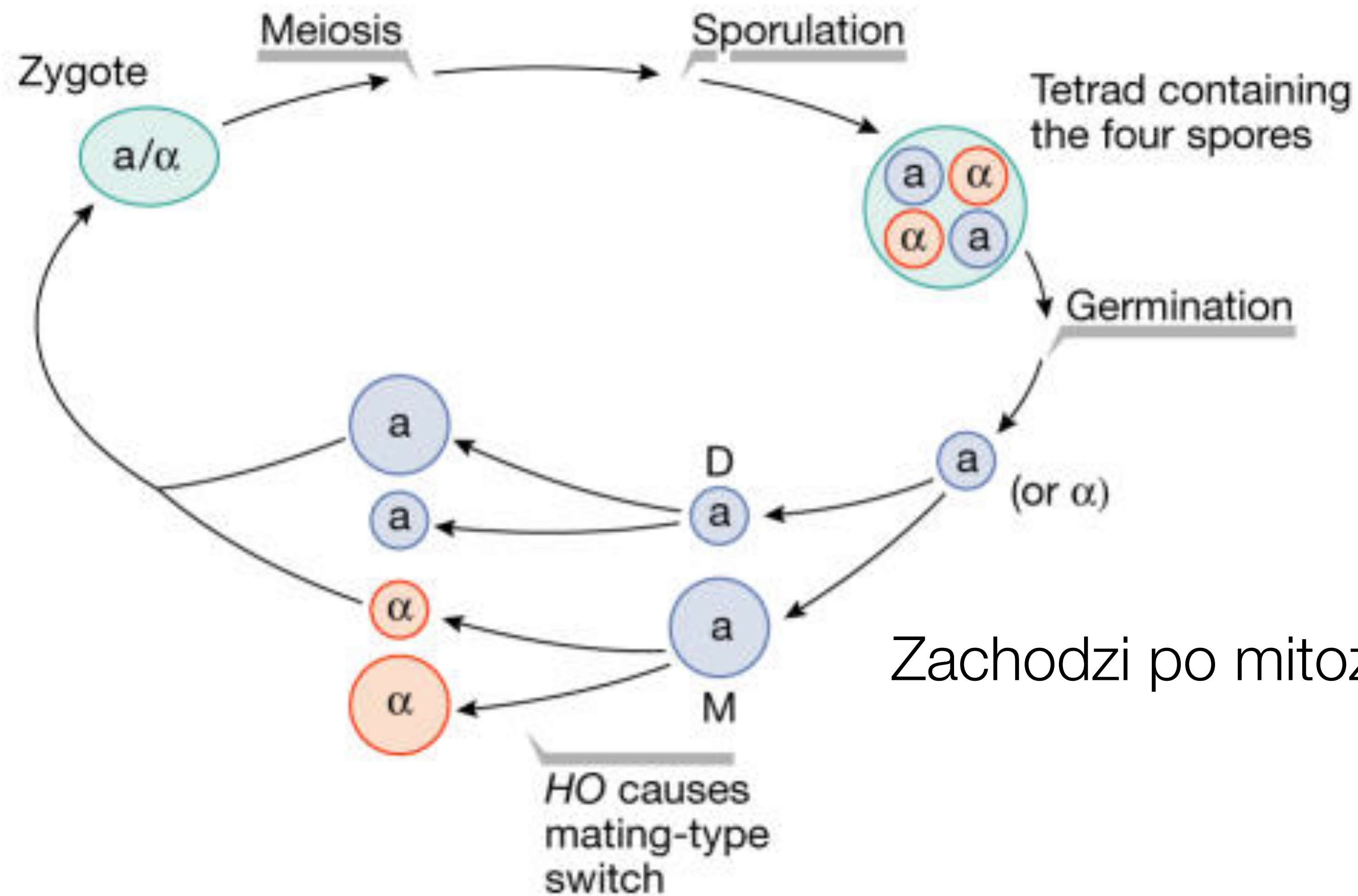
# *S. cerevisiae* –typy płciowe

- Dwa typy płciowe a i  $\alpha$  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

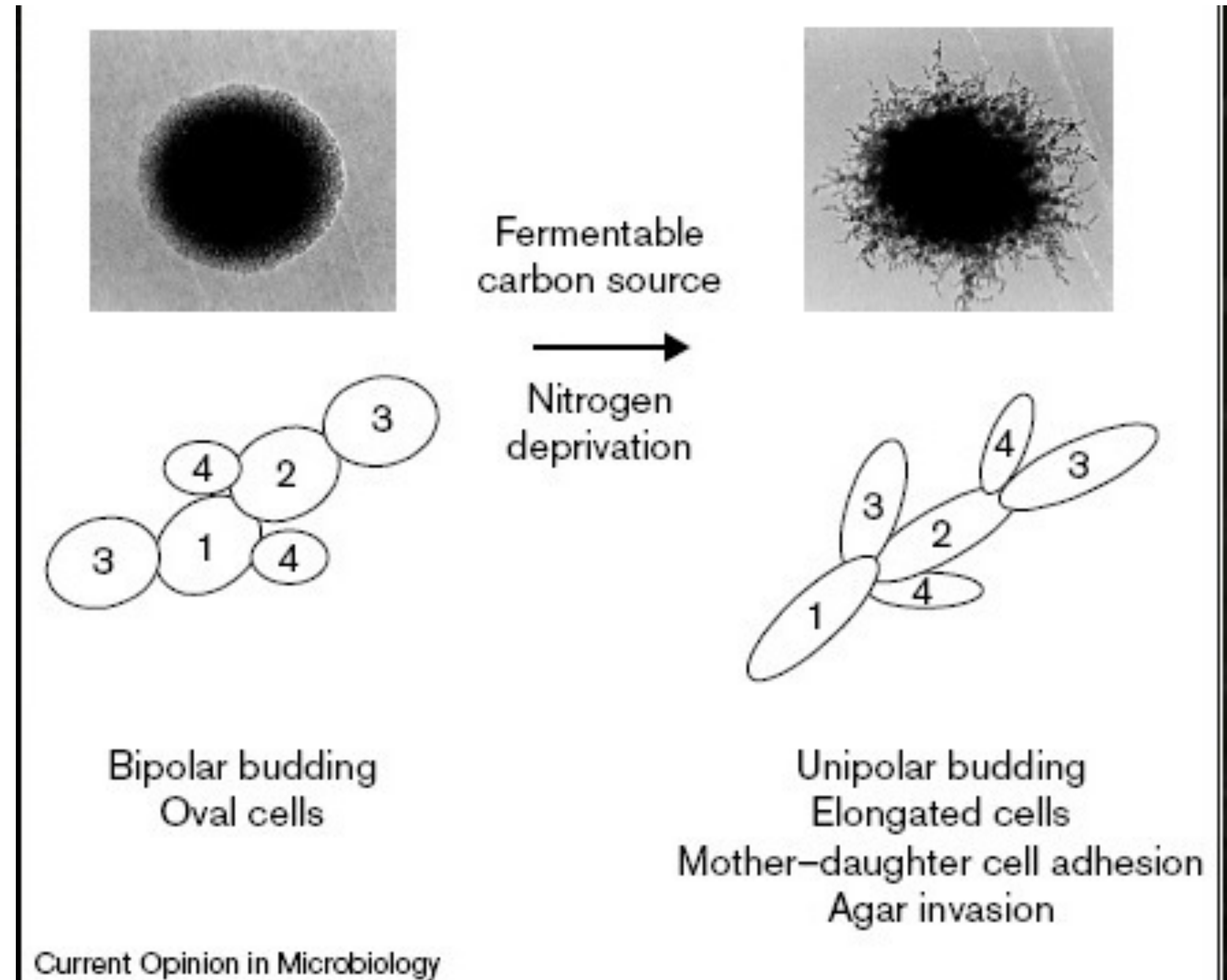
# Typy płciowe w praktyce

---

- 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

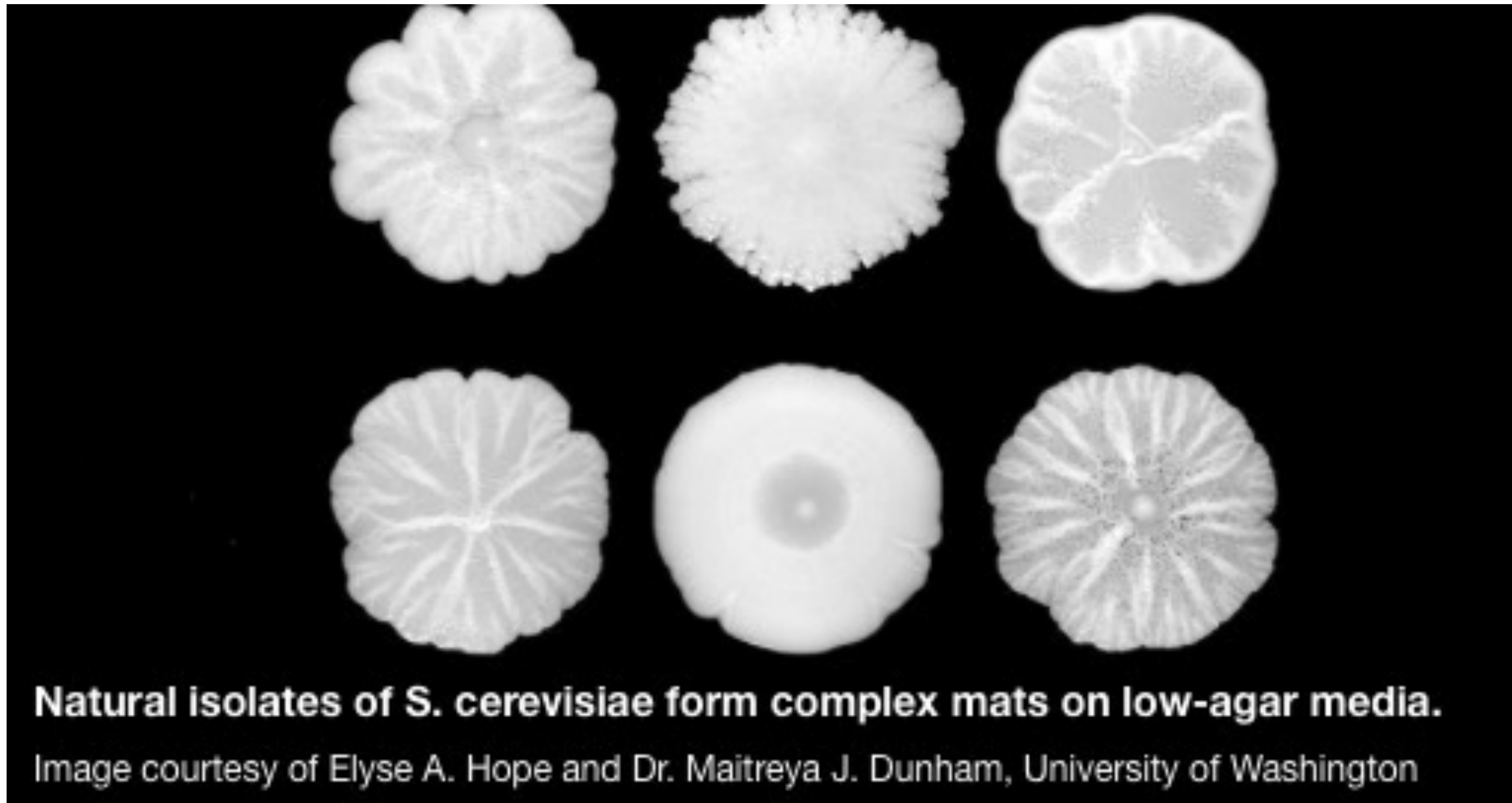
# Inne modyfikacje w szczepach laboratoryjnych

- Dzikie szczepy ( $2n$ ) tworzą w pewnych warunkach pseudostrzępki (*pseudohyphae*) – nie dochodzi do rozdzielenia 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

---





# Szczepy laboratoryjne

---

- Między różnymi szczepami laboratoryjnymi *S. cerevisiae* występuje wiele różnic
- Konieczna ostrożność przy porównywaniu wyników uzyskanych w różnych tłach genetycznych!
- Nie wszystkie szczepy tak samo dobrze nadają się do wszystkich projektów
  - np. popularne S288C i pochodne (BY4743) mają mutacje zmniejszające stabilność genomu mitochondrialnego



Page [Discussion](#)

[Commonly used strains](#)

## 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

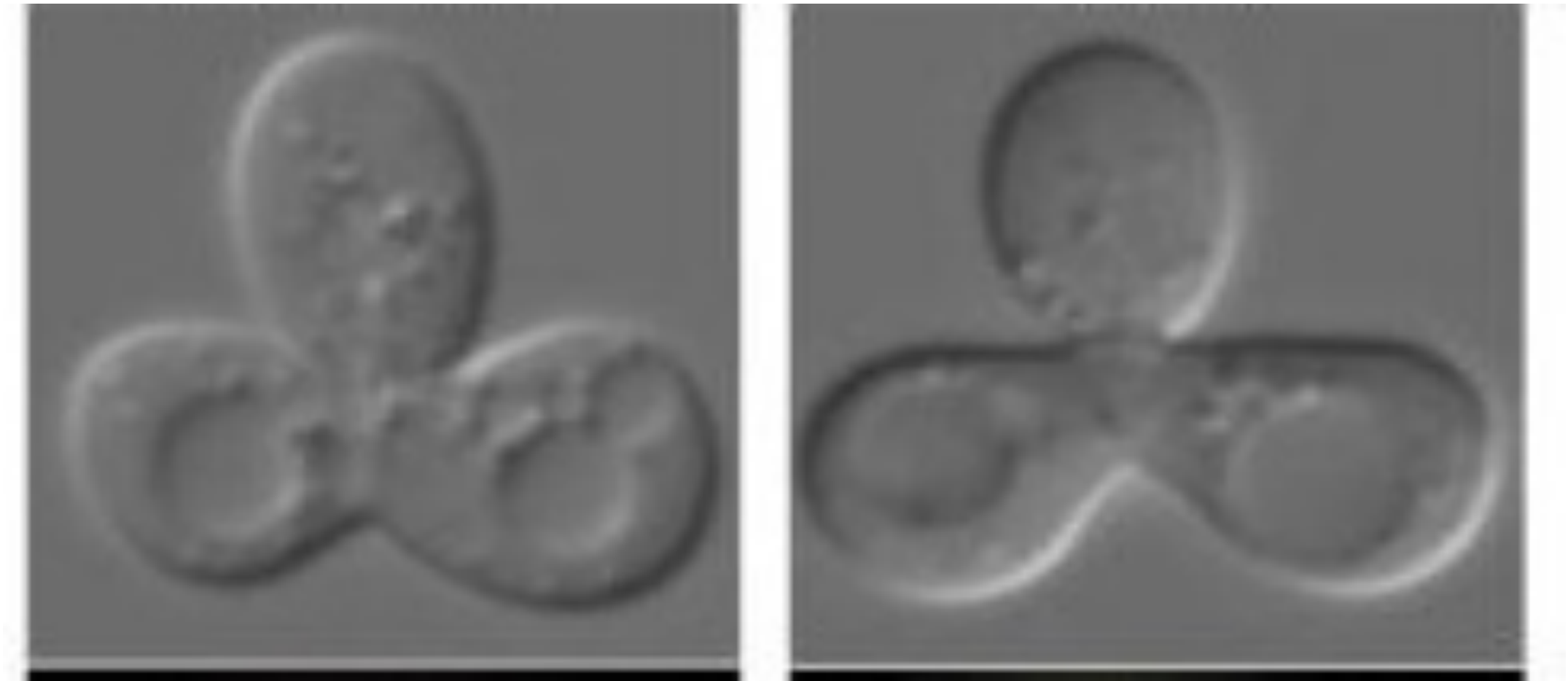
---

- 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  $\alpha$  razem
- Selekcja diploidów – za pomocą markerów (komplementacja) albo przez mikromanipulację
- Sporulacja diploidów (specjalne ubogie podłoże)
- Analiza tetrad (mikromanipulacja)

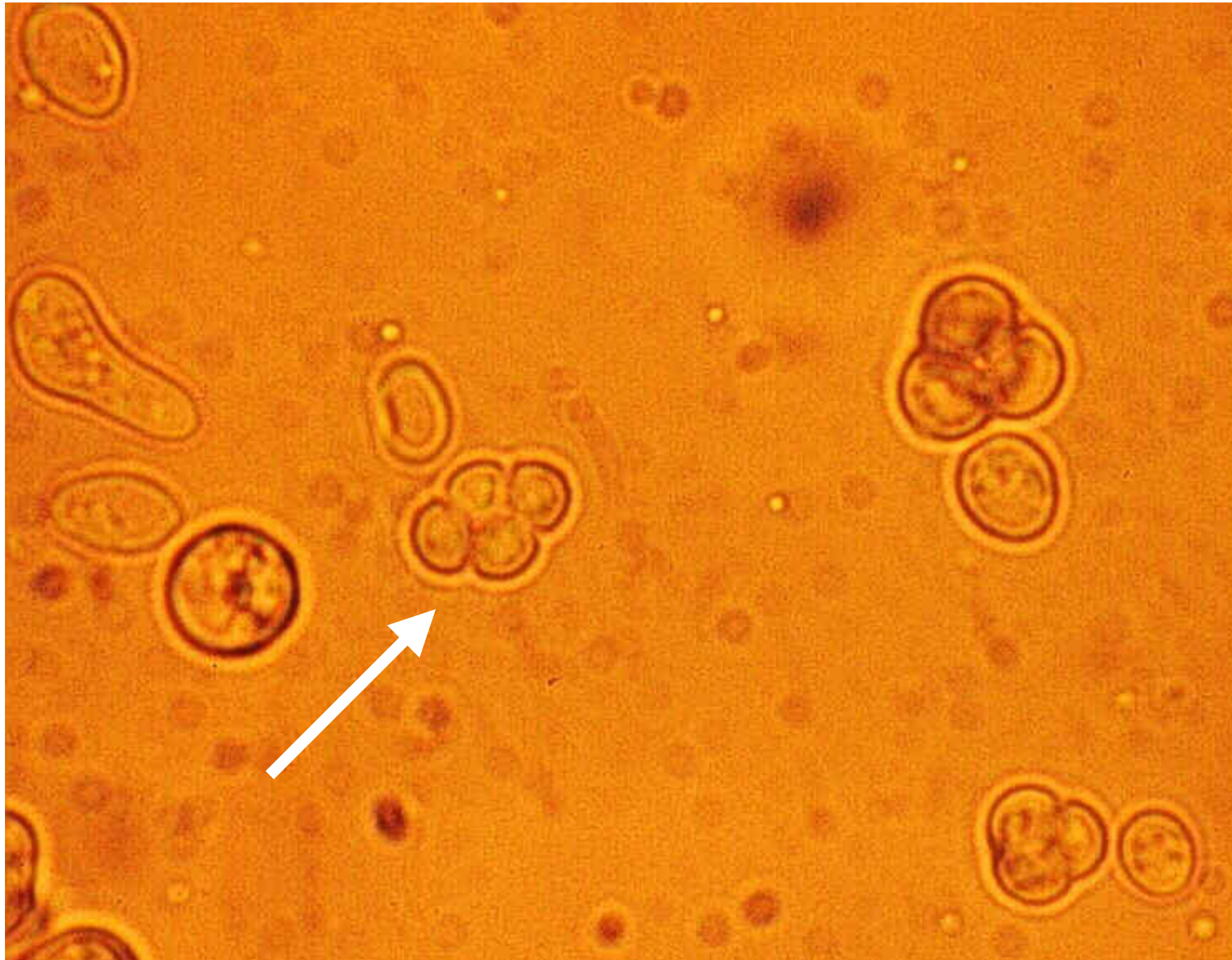


zygoty w trakcie 1. podziału



# Analiza tetrad

---



[www.phys.ksu.edu](http://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

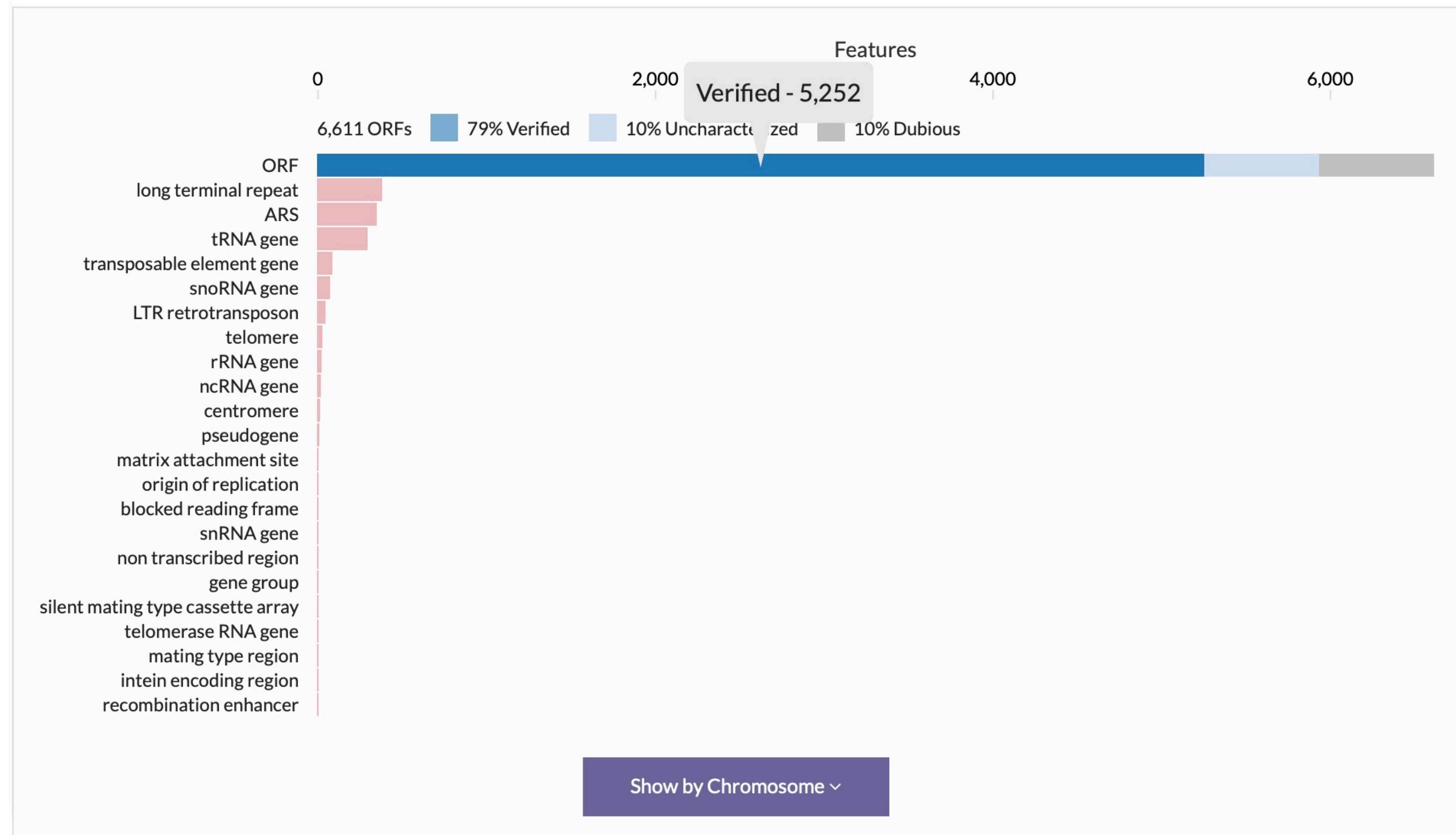
---

- Dwie strategie izolowania mutantów drożdżowych (i nie tylko):
  - skrining (*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

Genome Inventory (as of 3/13/2023)



# 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](http://www.yeastgenome.org)
- Bardzo kompletna i starannie utrzymywana
- Personel SGD utrzymuje m. in. standaryzację nazw genów, referencyjną sekwencję genomu, annotację funkcji itp.
- GO - *Gene Ontology* - system hierarchicznych terminów opisujących funkcje, procesy biologiczne, lokalizację

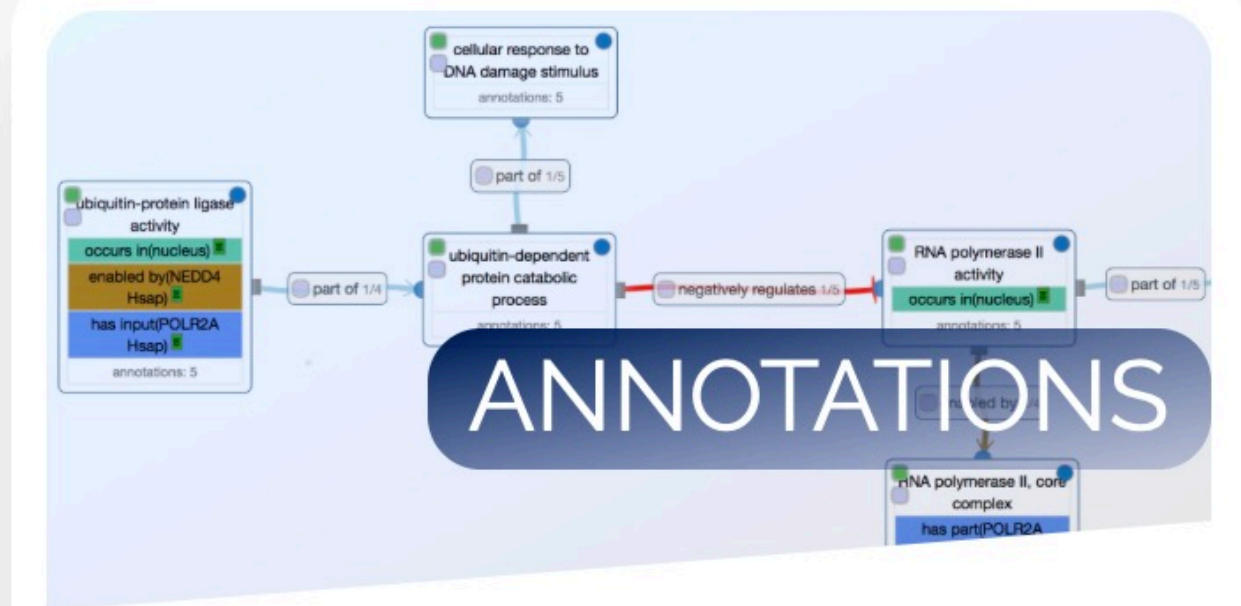
# Standaryzacja

- 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](#)



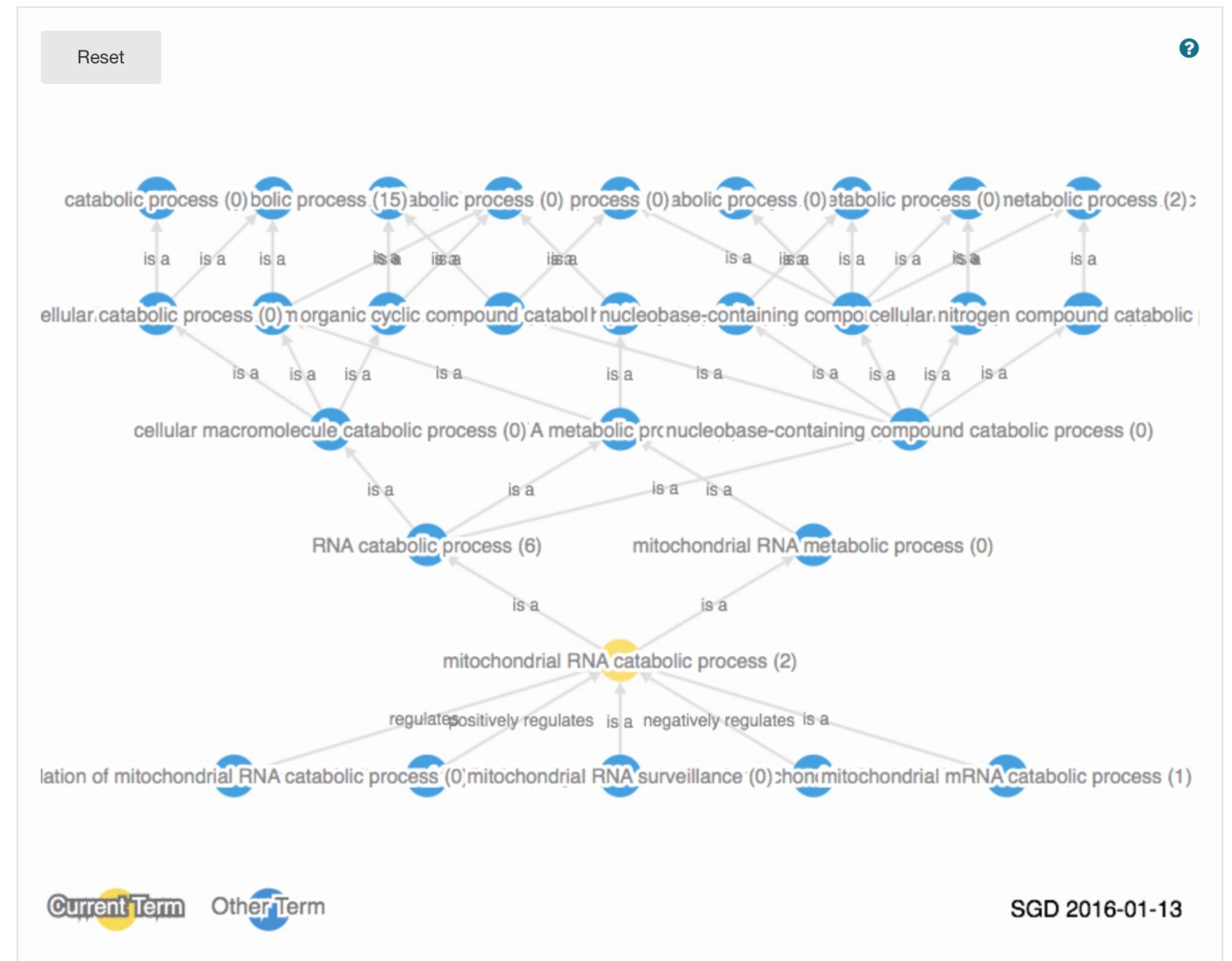
Statements, based on specific, traceable scientific evidence, asserting that a specific gene product is a real exemplar of a particular GO class.

[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)

## Overview

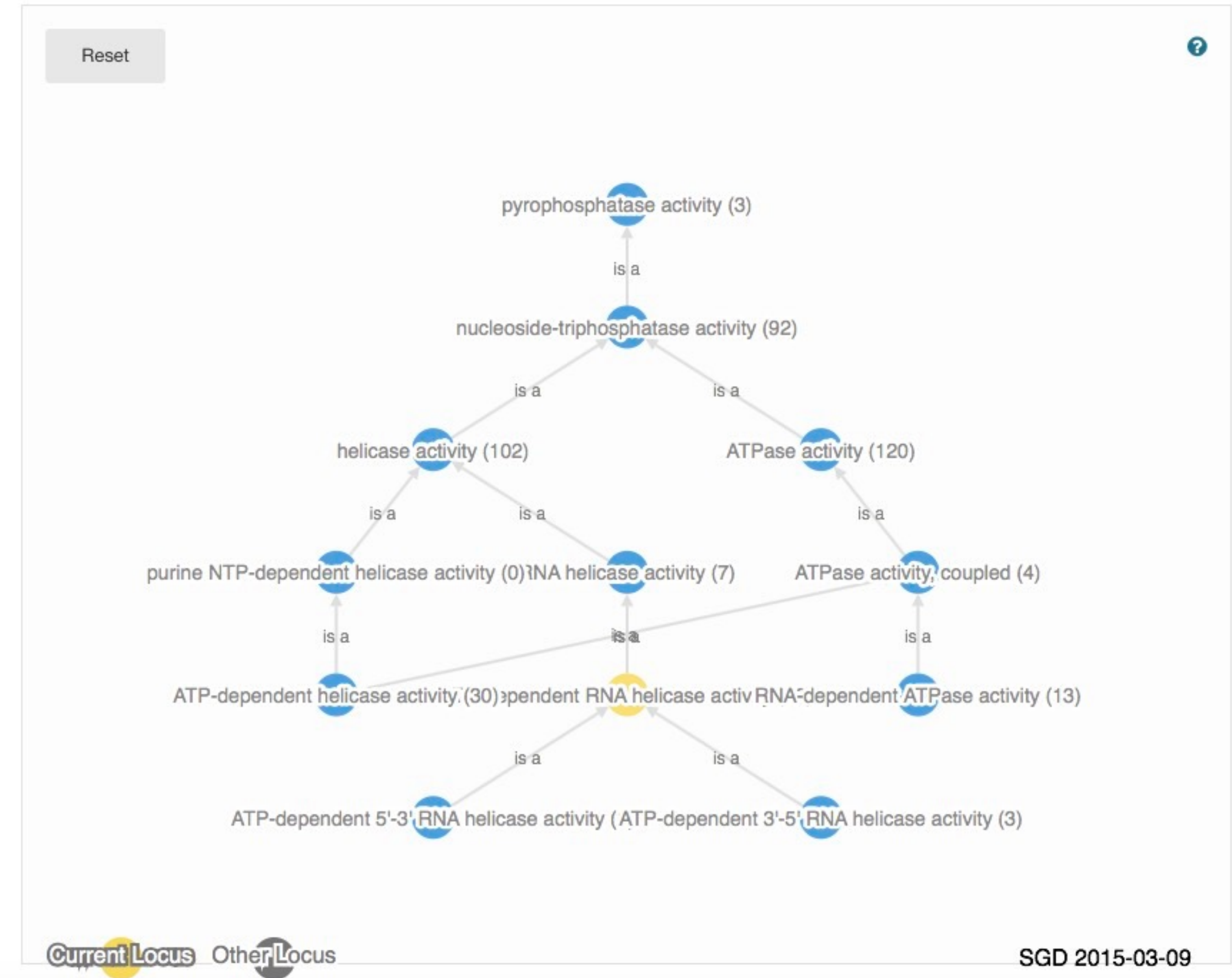
**GO ID:** [GO:0004004](#)

**Aspect:** Molecular Function

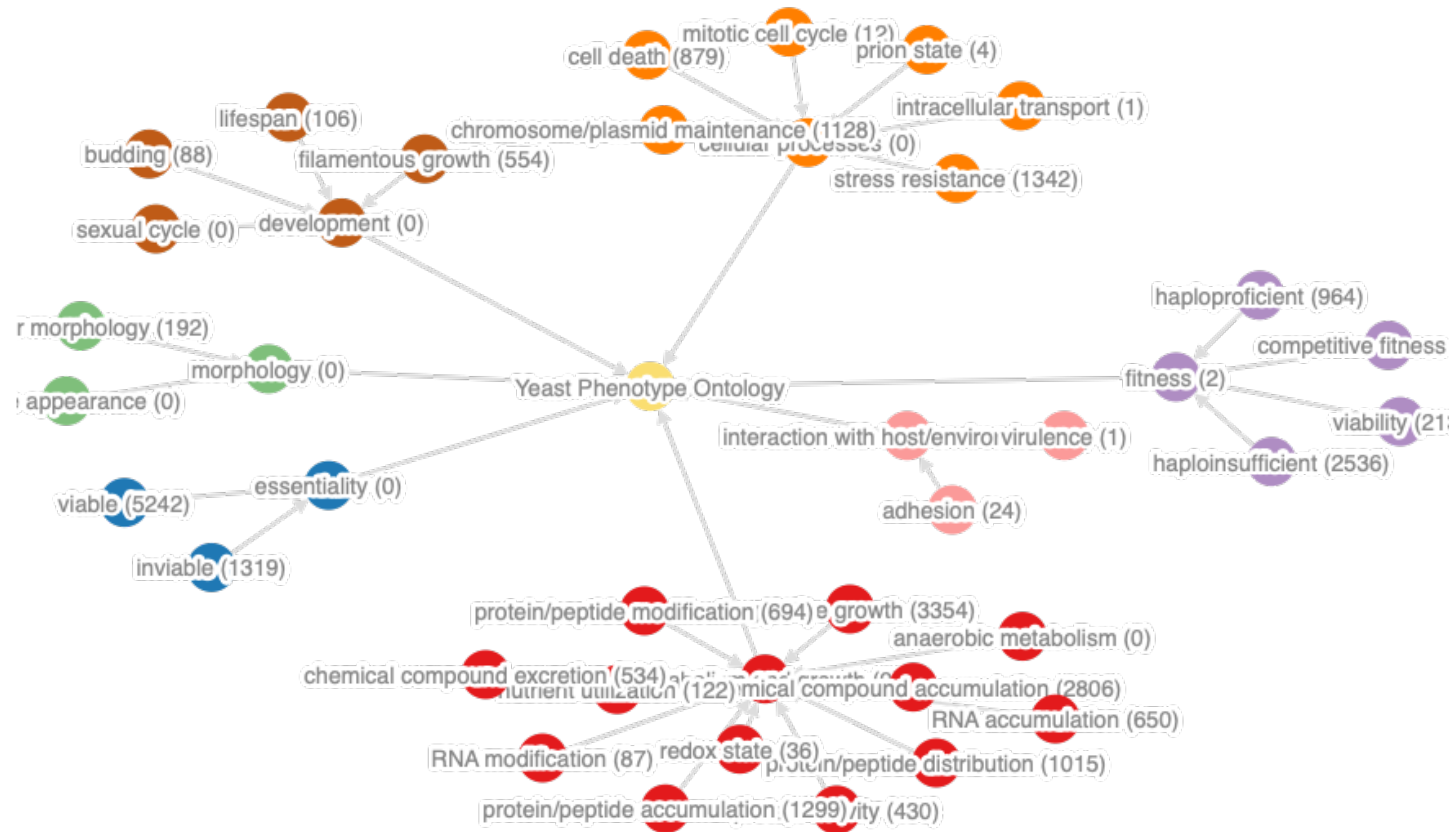
**Description:** Catalysis of the reaction: ATP + H<sub>2</sub>O = ADP + phosphate; this reaction drives the unwinding of an RNA helix.

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

## Ontology Diagram



# Najlepiej poznany genom eukariotyczny





# Narzędzia genetyki molekularnej drożdży

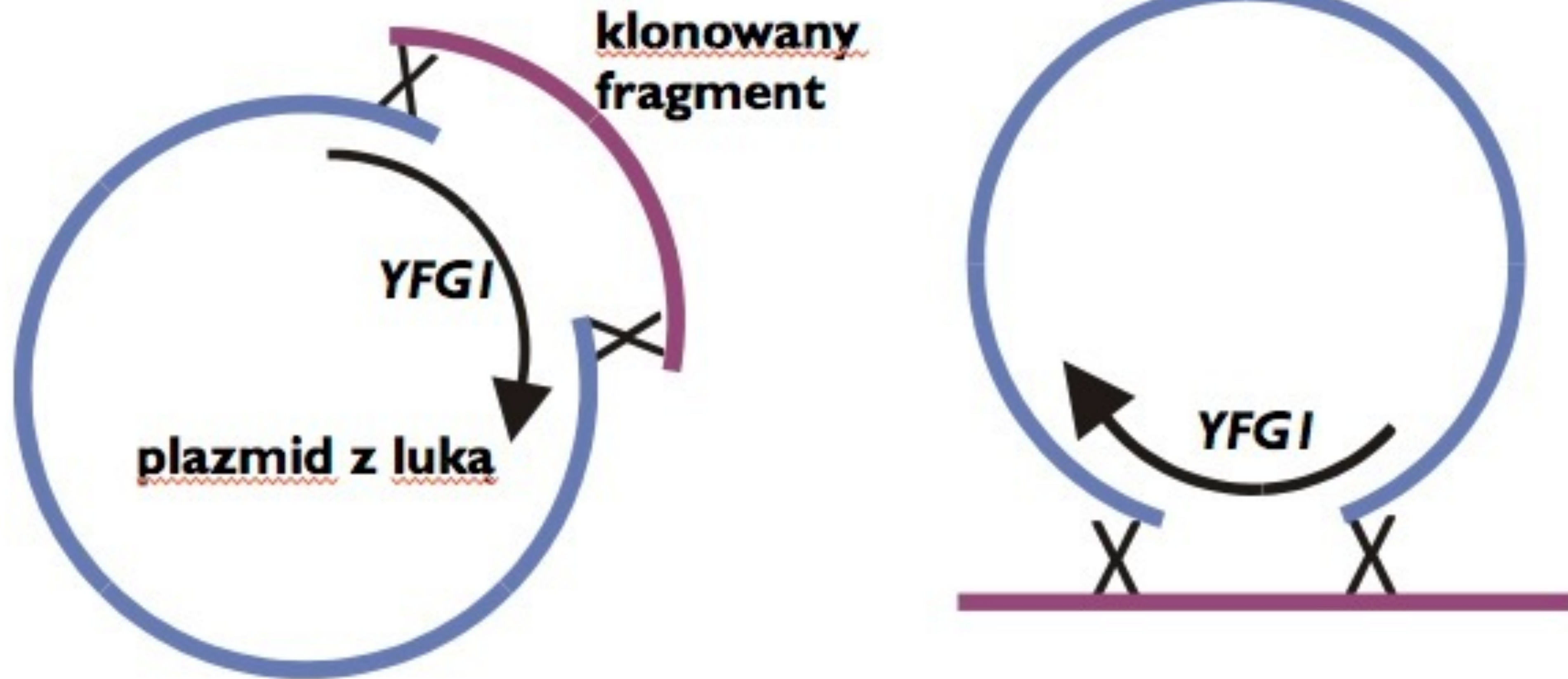
---

- *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

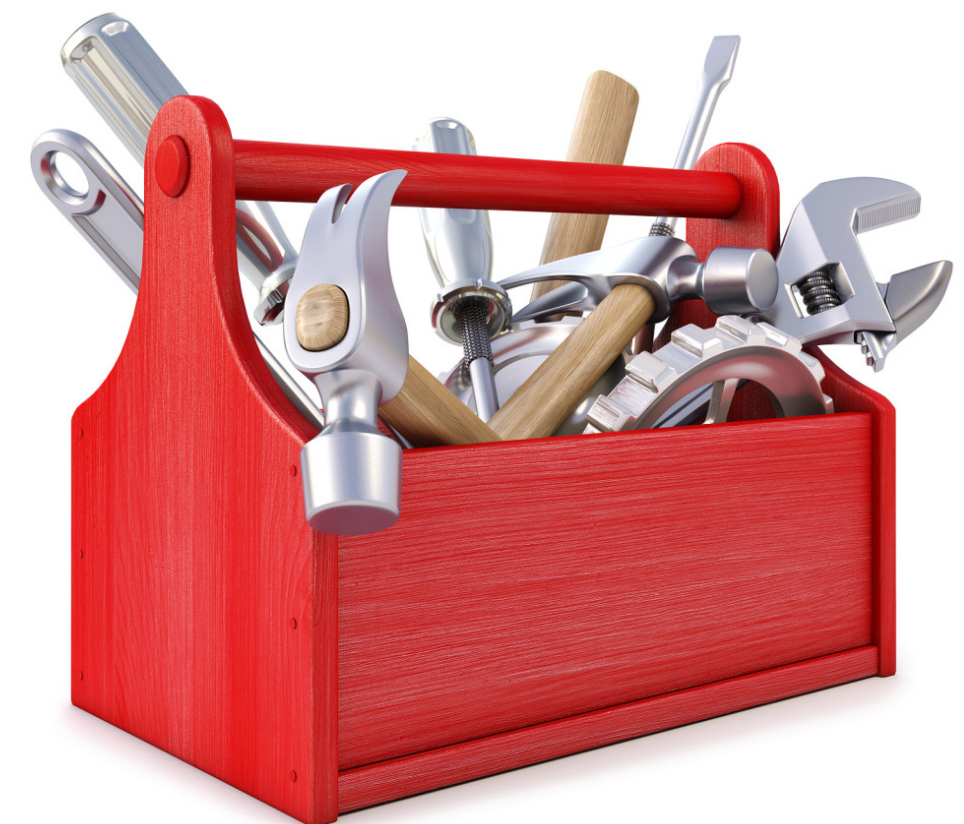




# Wektory drożdżowe

---

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



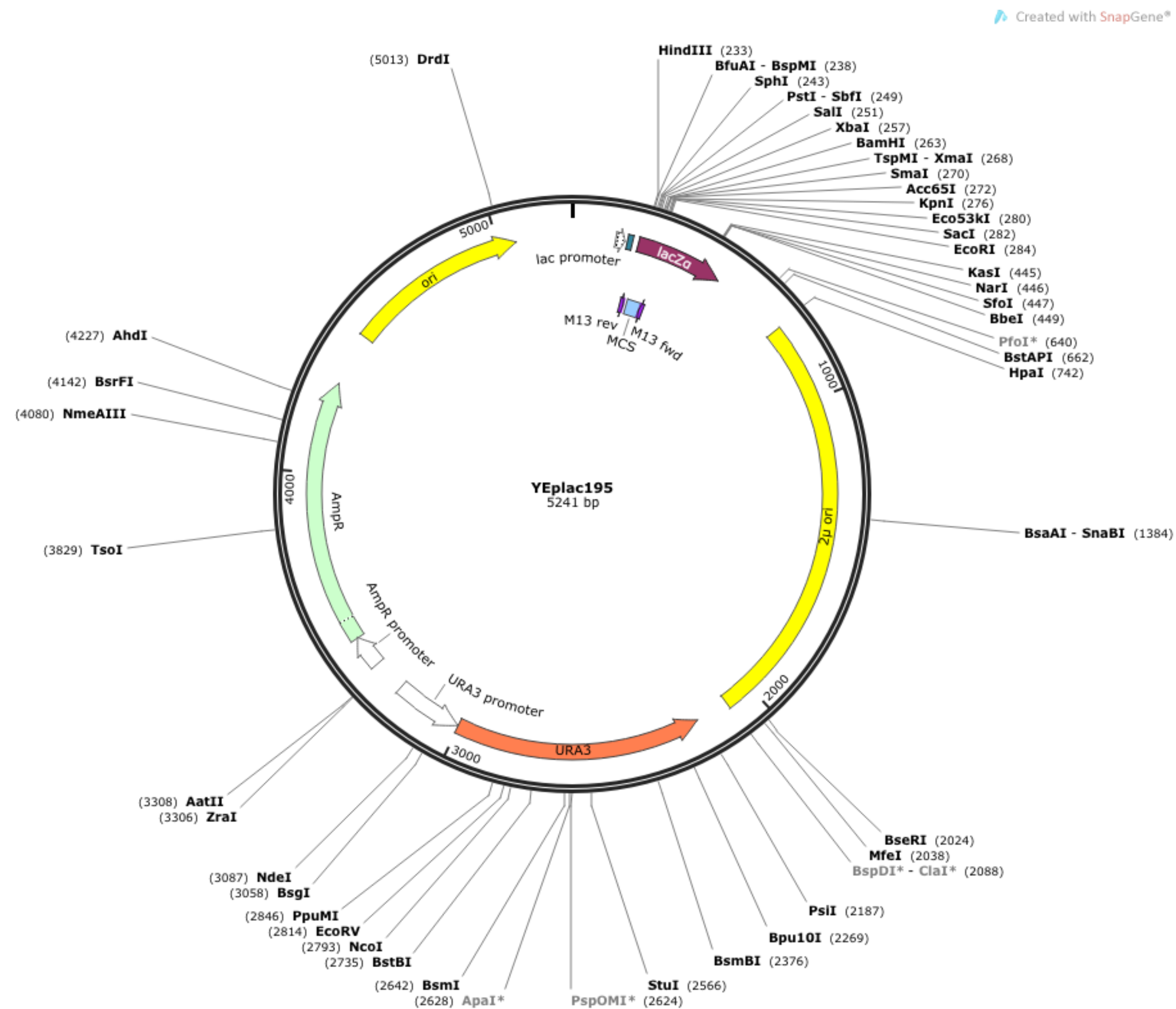
## Inne drożdże

---

- 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

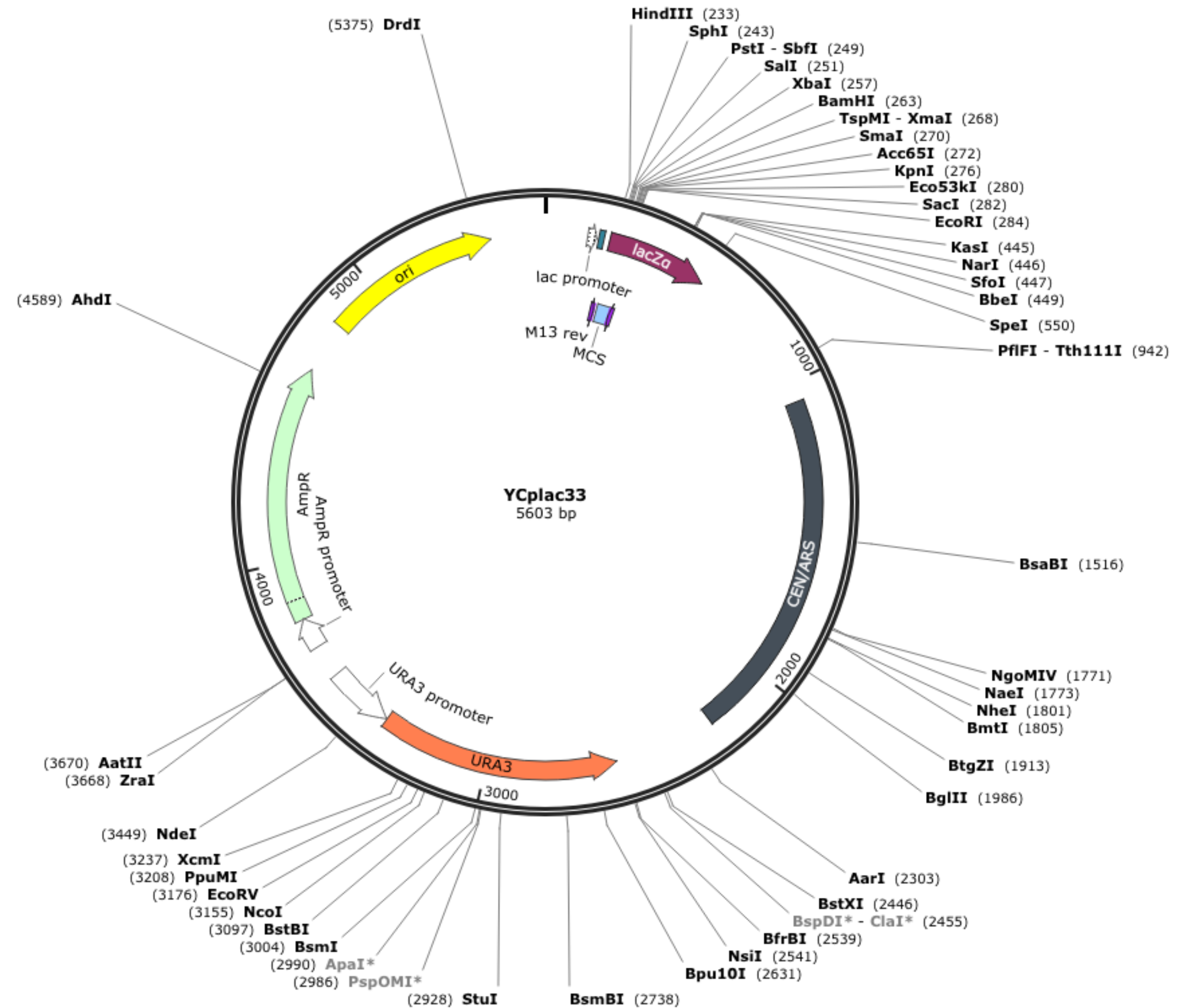
- Szkielet wektora bakteryjnego
- ori drożdżowego plazmidu 2 $\mu$  (50-200 kopii/komórkę)
- markery
- Nadekspresja sklonowanego genu dzięki dużej liczbie kopii
- Mniej stabilne (wymagane podtrzymywanie selekcji)





# 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

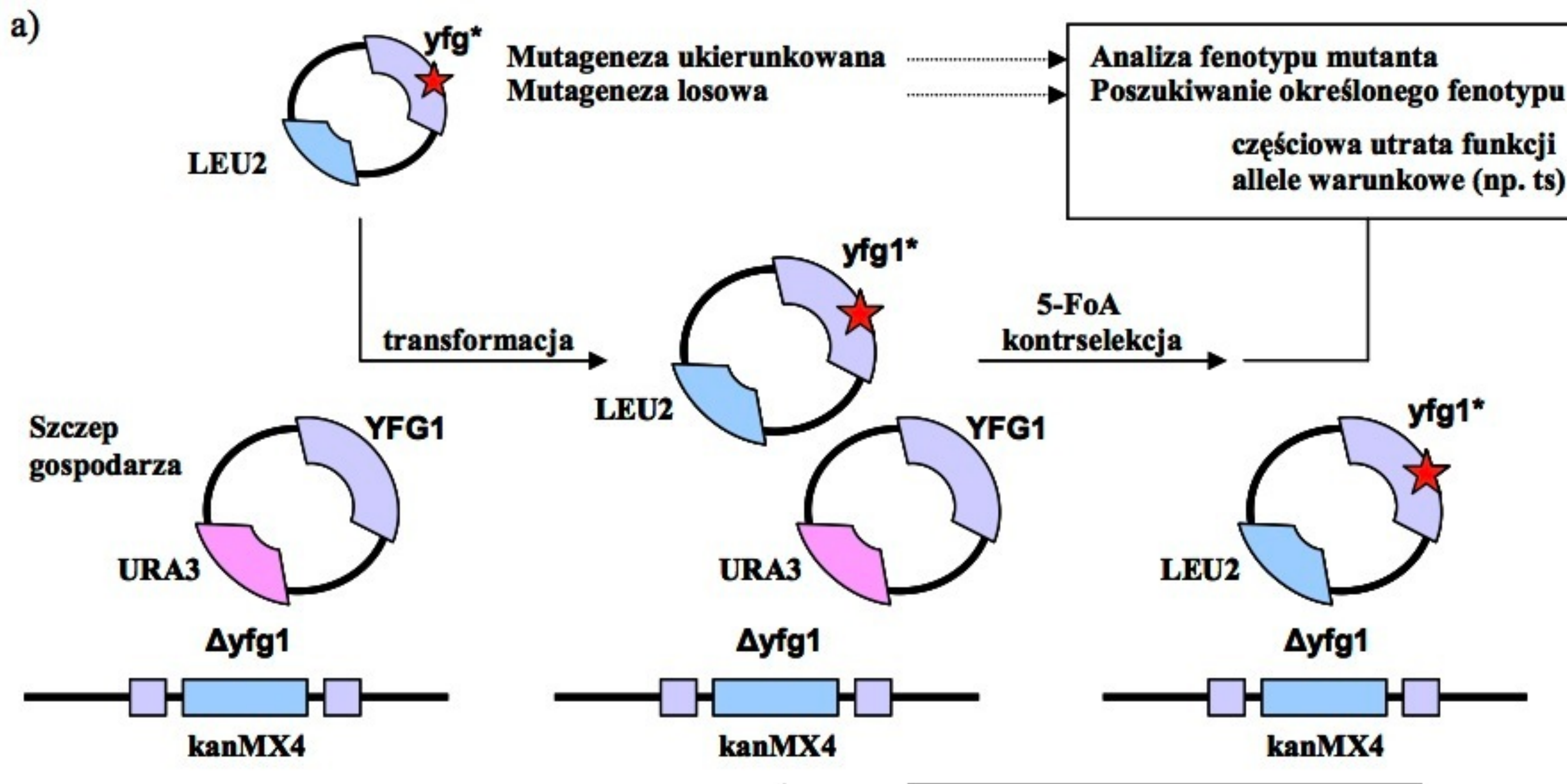


# Tasowanie plazmidów

---

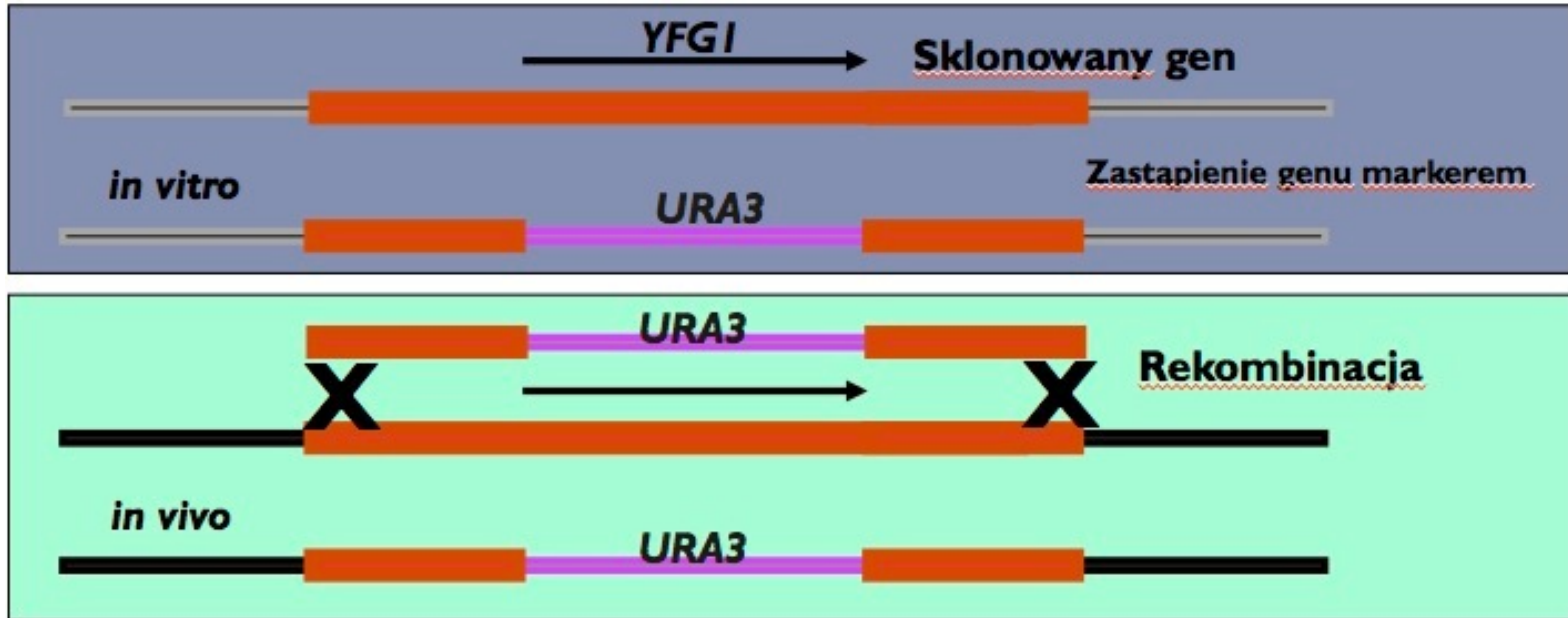
- Sposób na szybką wymianę allelu w przypadku, gdy delecja jest letalna
- Wykorzystywany jest system kontrselekcji, najczęściej *URA3/5-FOA*
  - kwas 5-fluoroorotowy – zabójczy dla komórek *URA3+*, nieszkodliwy dla komórek *ura3-*
  - można najpierw wprowadzić plazmid z markerem *URA3* a potem, kiedy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

# Tasowanie plazmidów w analizie genów niezbędnych do życia





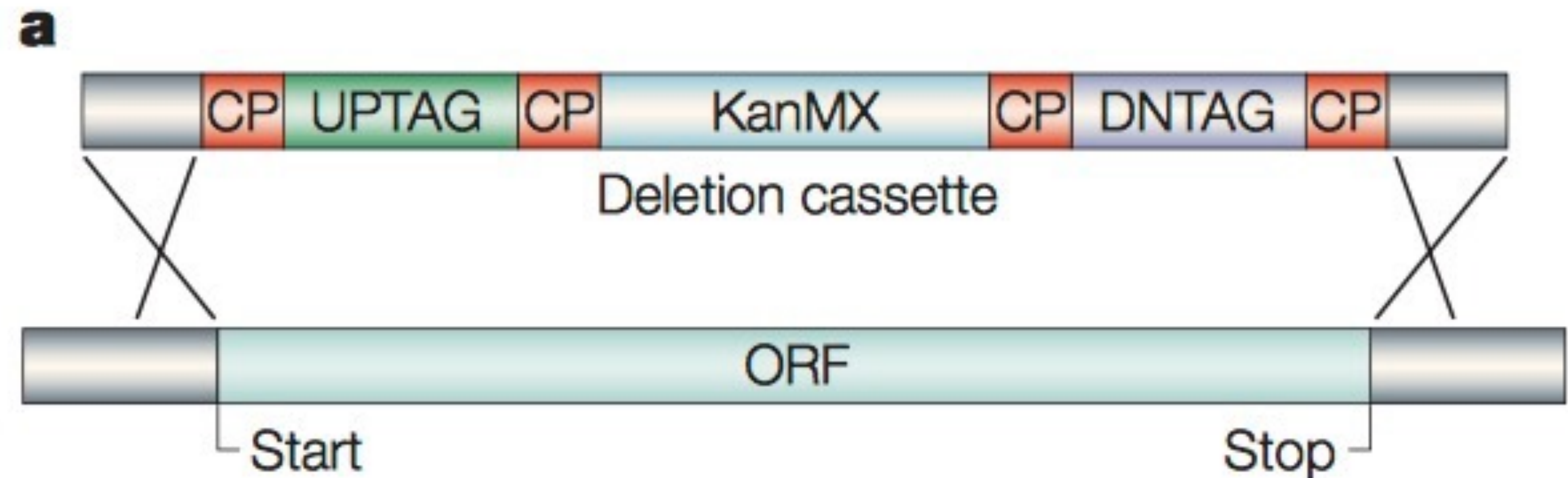
# Delecja genu przez rekombinację



Tzw. dysrupcja genu

# Dysrupcje – metoda PCR

- Homologiczne flanki nie muszą być długie, można je dodać przez PCR
- Kasetka KanMX4, nie pochodzi z drożdży, nie rekombinuje sama z genomem
- Etykiety UPTAG i DNTAG identyfikują każdą delecję - możliwe śledzenie w mieszanych hodowlach przez sekwencjonowanie lub mikromacierze



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<sup>1,2</sup>, Julie E. Norville<sup>2</sup>, Prashant Mali<sup>2</sup>, Xavier Rios<sup>2</sup>, John Aach<sup>2</sup> and George M. Church<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biomedical Engineering, Boston University, Boston, MA 02215, USA and <sup>2</sup>Department 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,<sup>1</sup> M. Inmaculada Barrasa,<sup>1</sup> Gerald R. Fink<sup>1,2,\*</sup>

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

nature  
COMMUNICATIONS

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

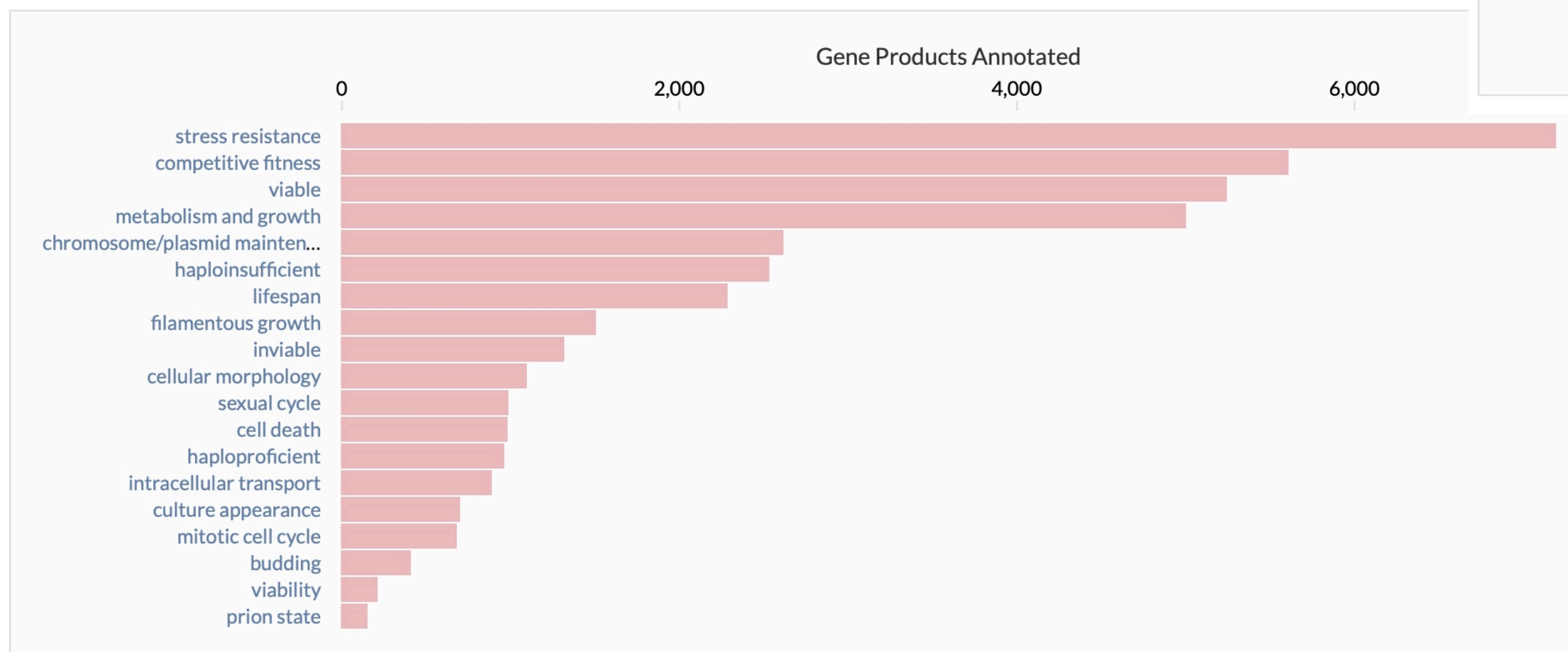
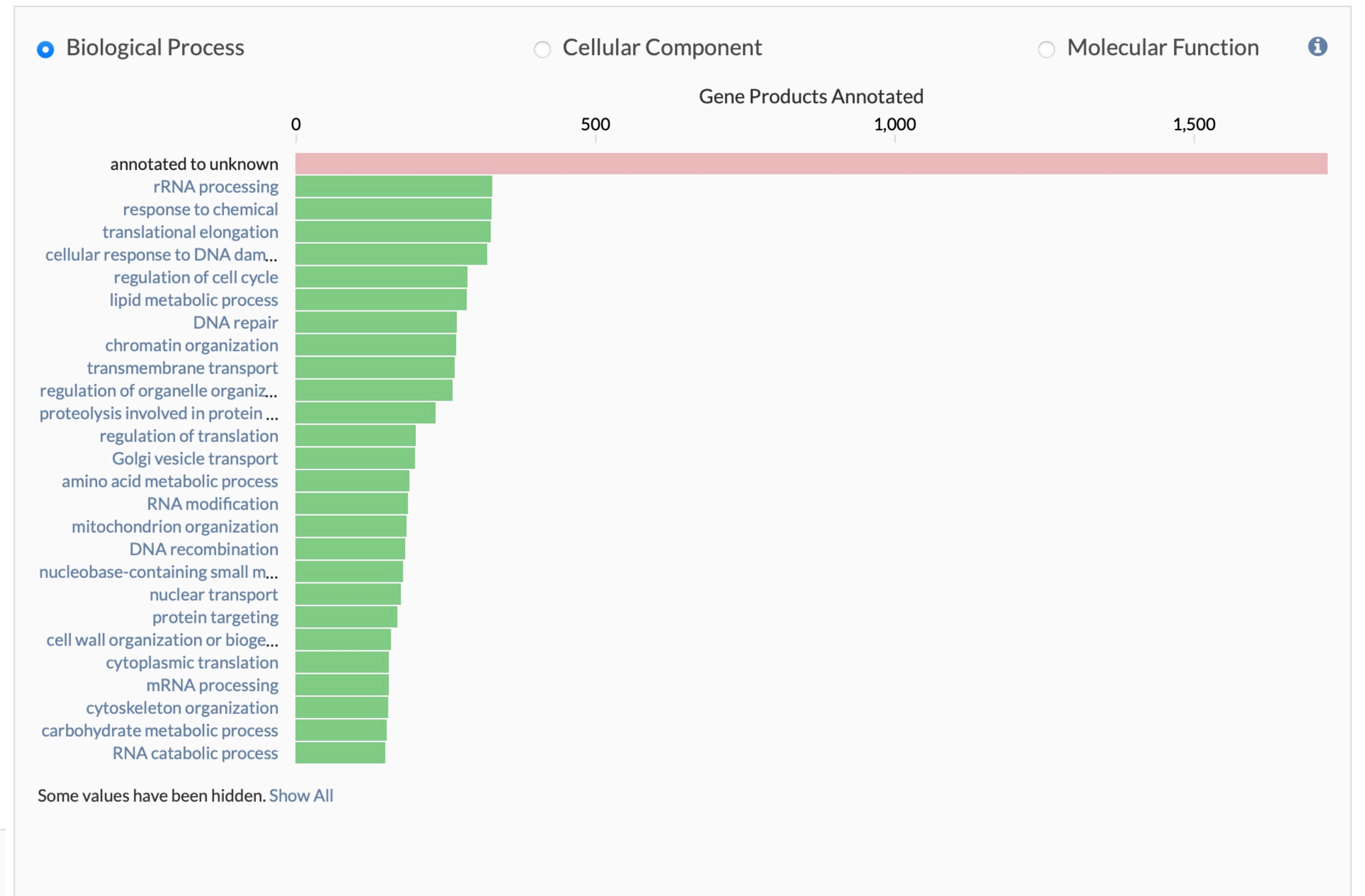
---

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

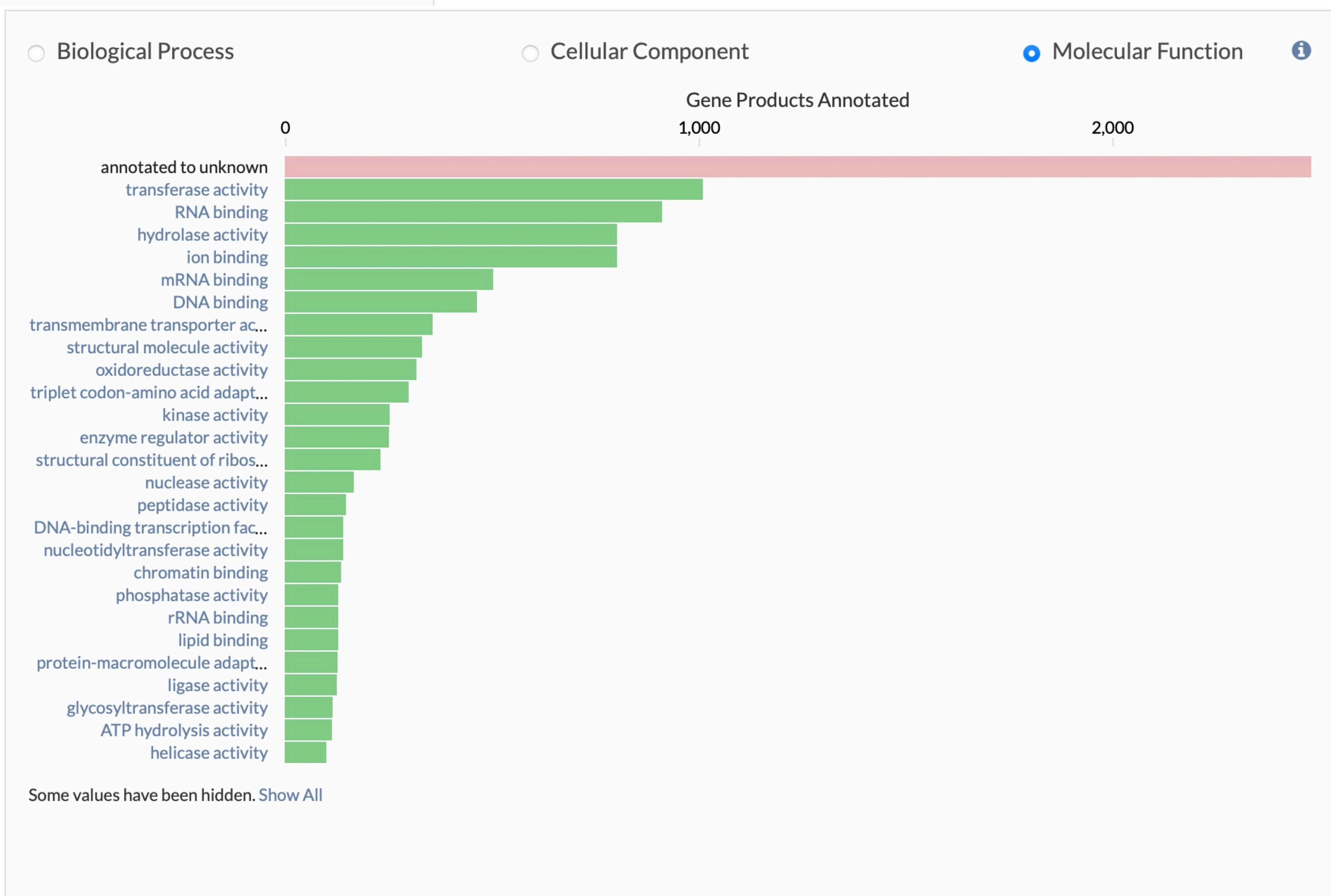
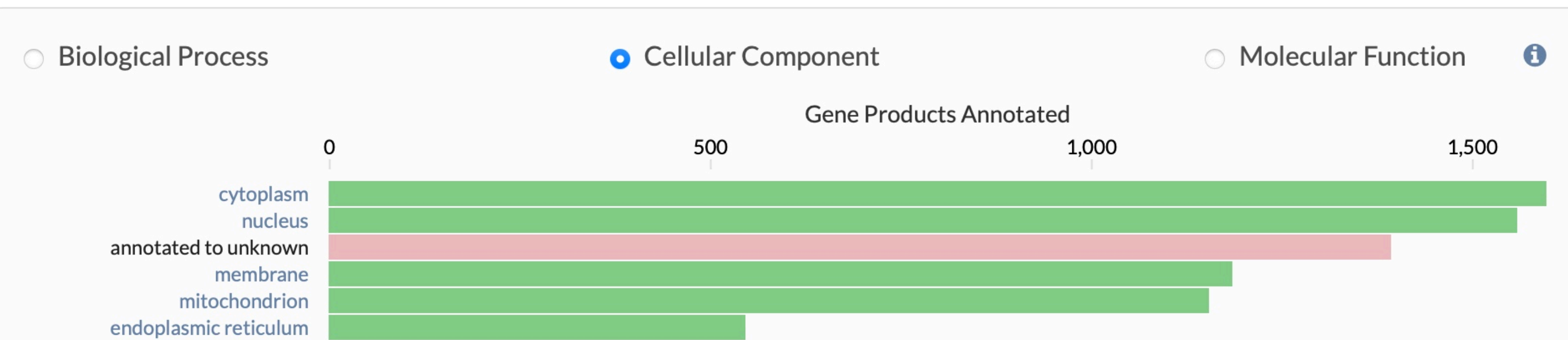


# Postępy analizy funkcjonalnej

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



Summary of Phenotype Annotations (as of 3/13/2023)

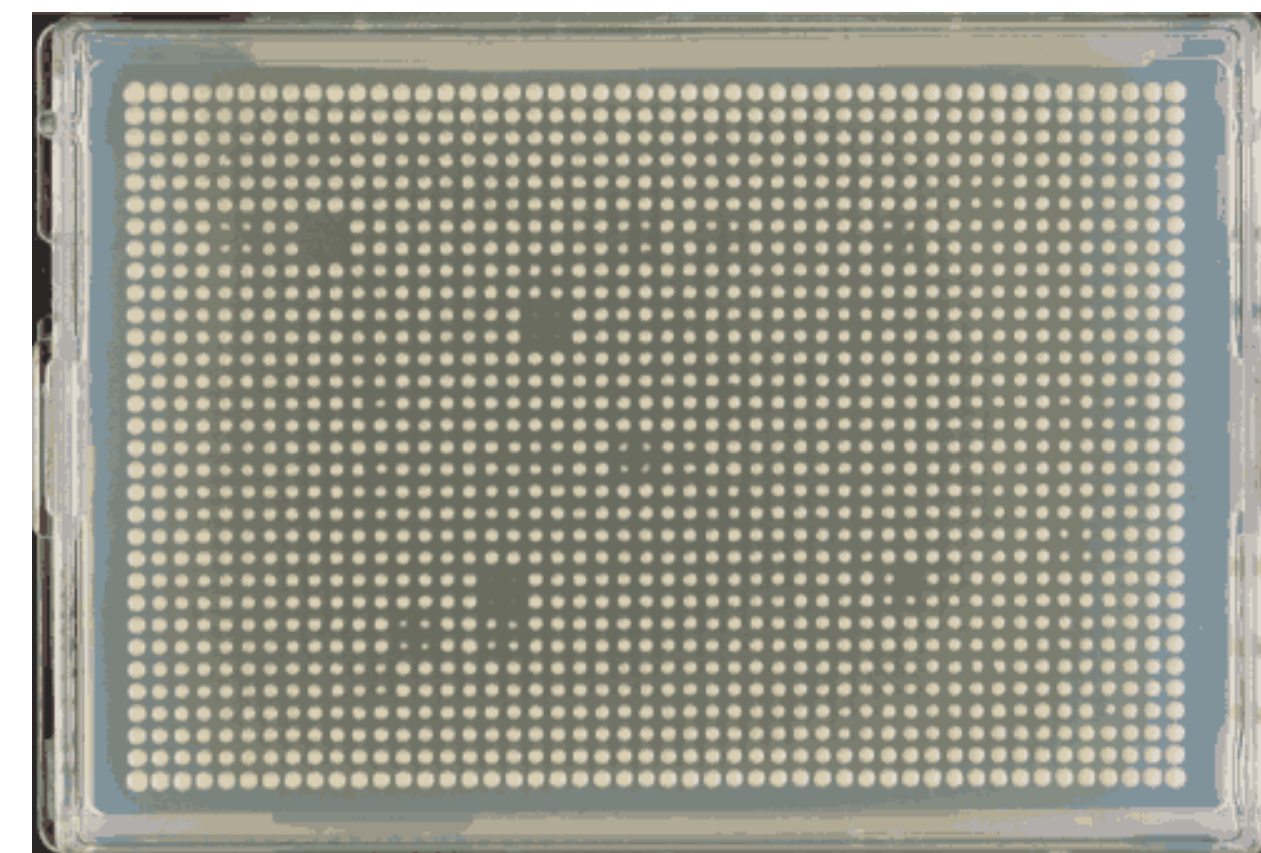
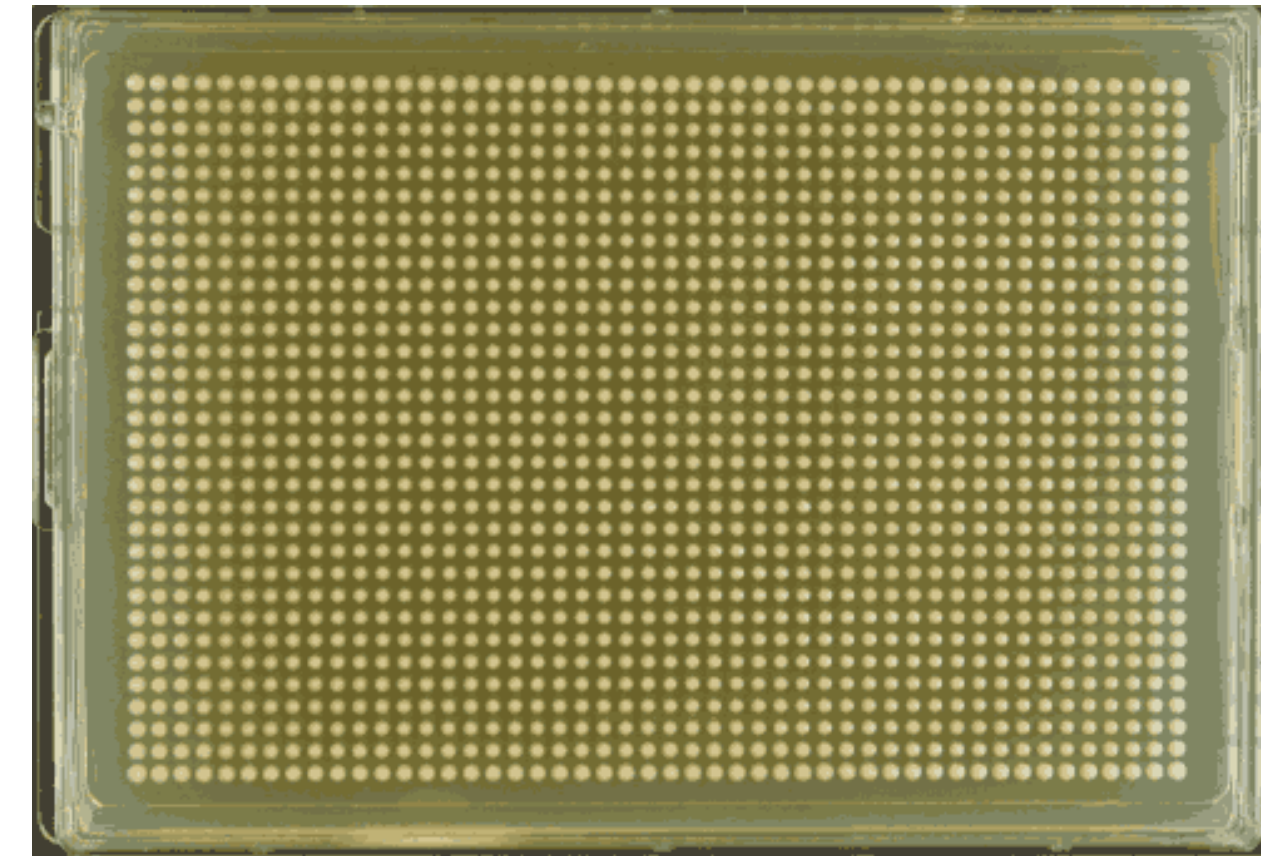


Summary of Gene Ontology (GO) Annotations (as of 3/13/2023)



# Analizy wysokoprzepustowe – roboty laboratoryjne

---



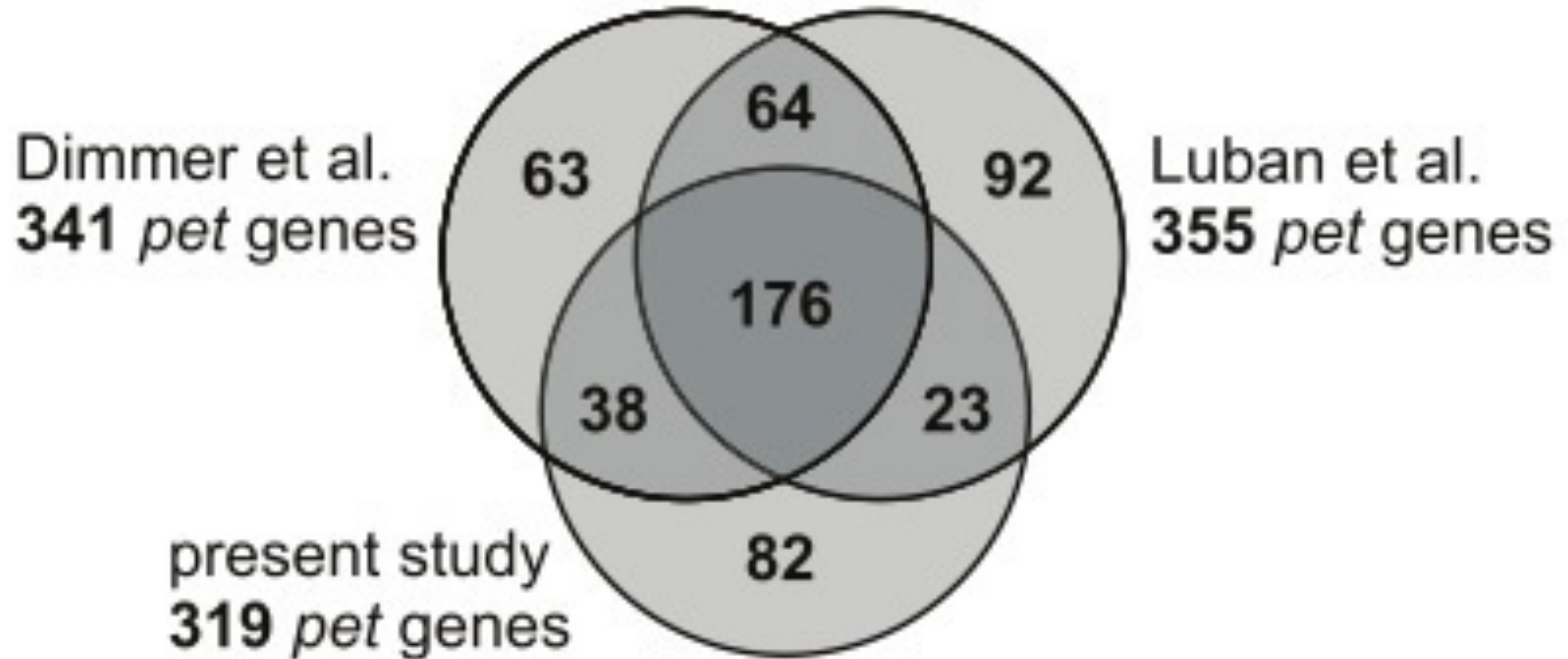
©Singer Instruments, UK



# Problem analiz wysokoprzepustowych

---

**(a)**



Geny *pet* (niezbędne do oddychania)

# Poszukiwanie interakcji genetycznych

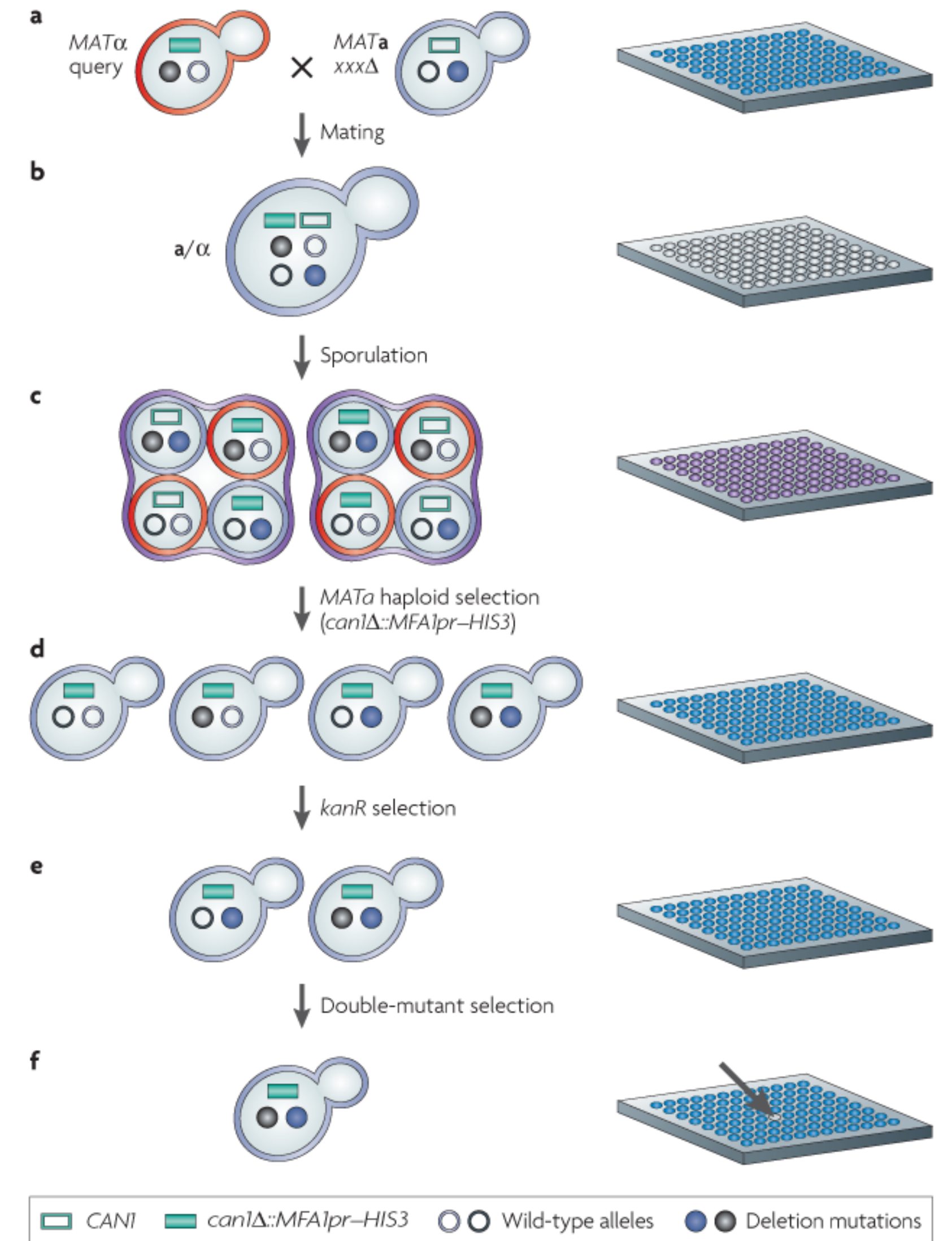
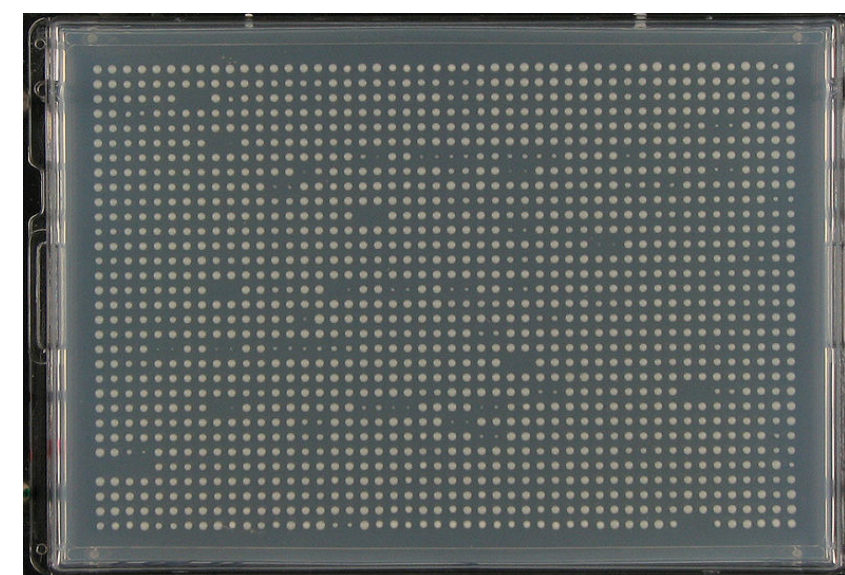
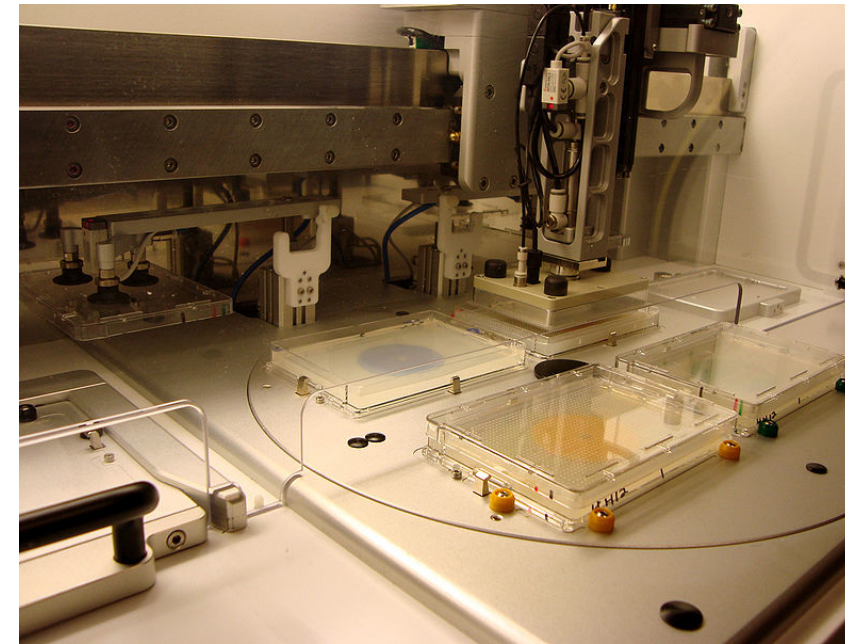
---

- 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)



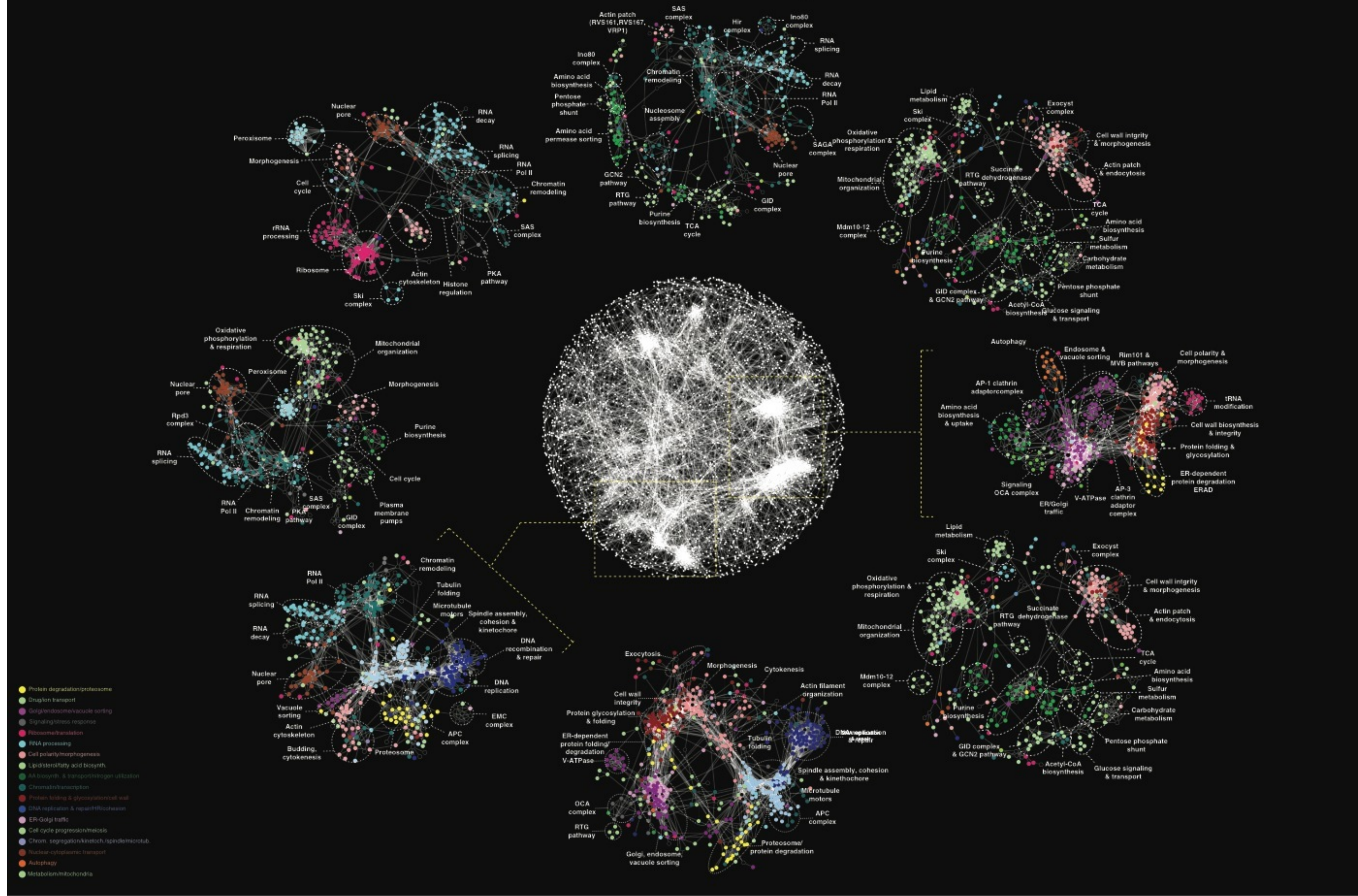
# SGA

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





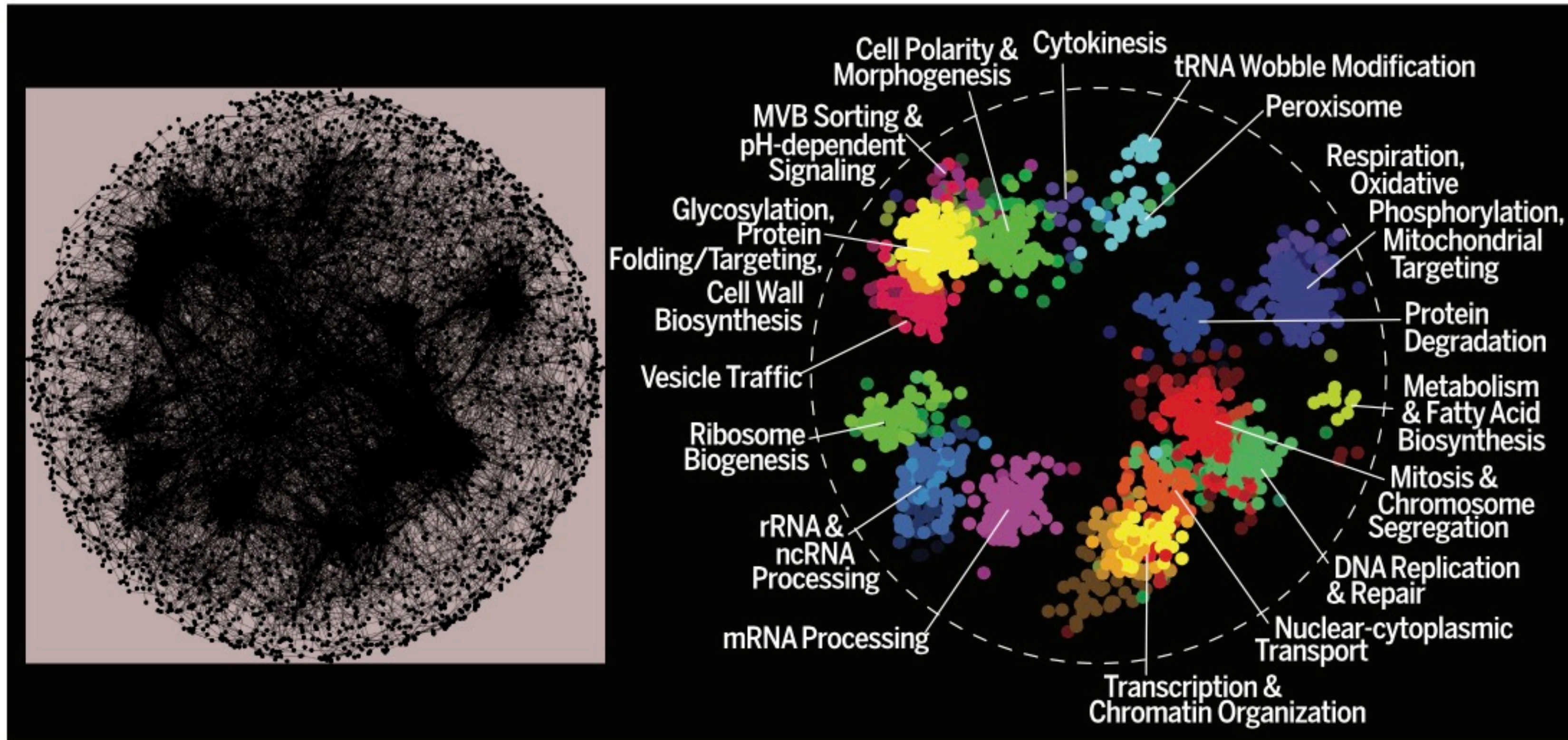
# The Genetic Landscape of a Cell





## 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. Caudy, Chad L. Myers,† Brenda Andrews,† Charles Boone†



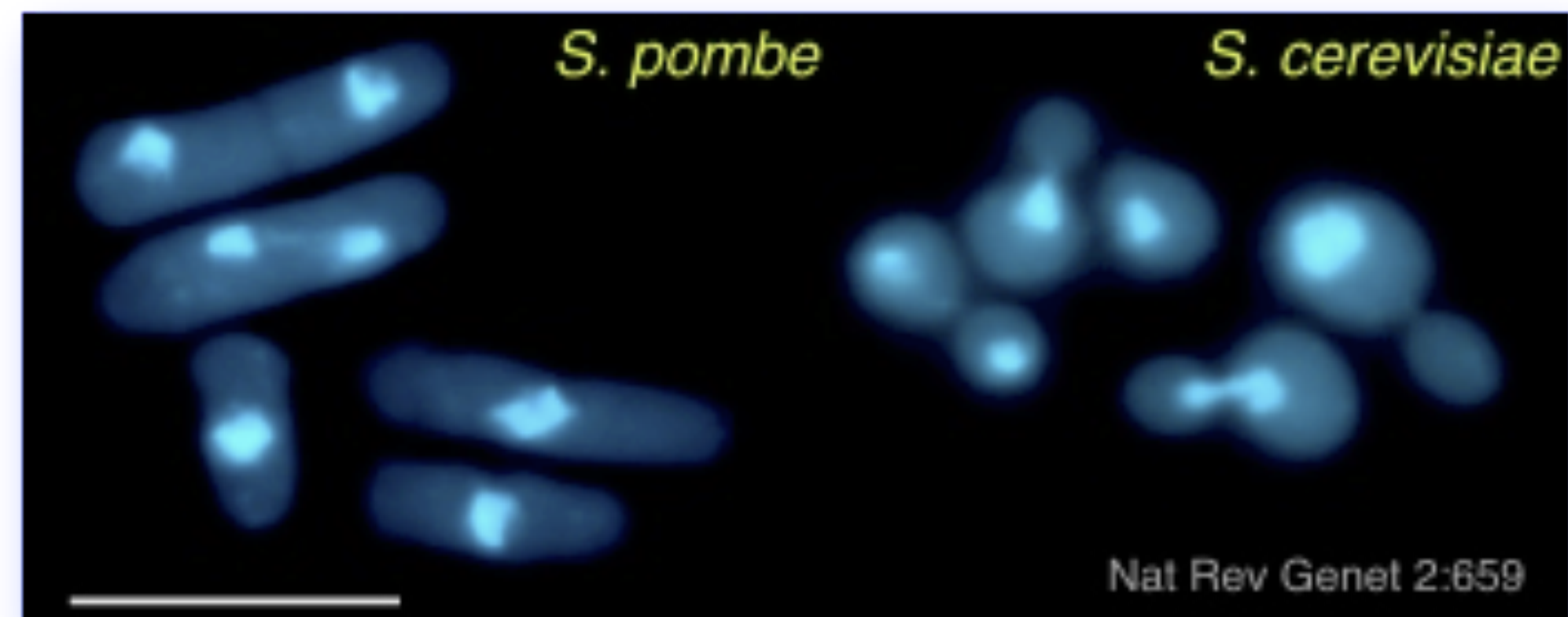
**A global network of genetic interaction profile similarities.** (Left) Genes with similar genetic interaction profiles are connected in a global network, such that genes exhibiting more similar profiles are located closer to each other, whereas genes with less similar profiles are positioned farther 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**

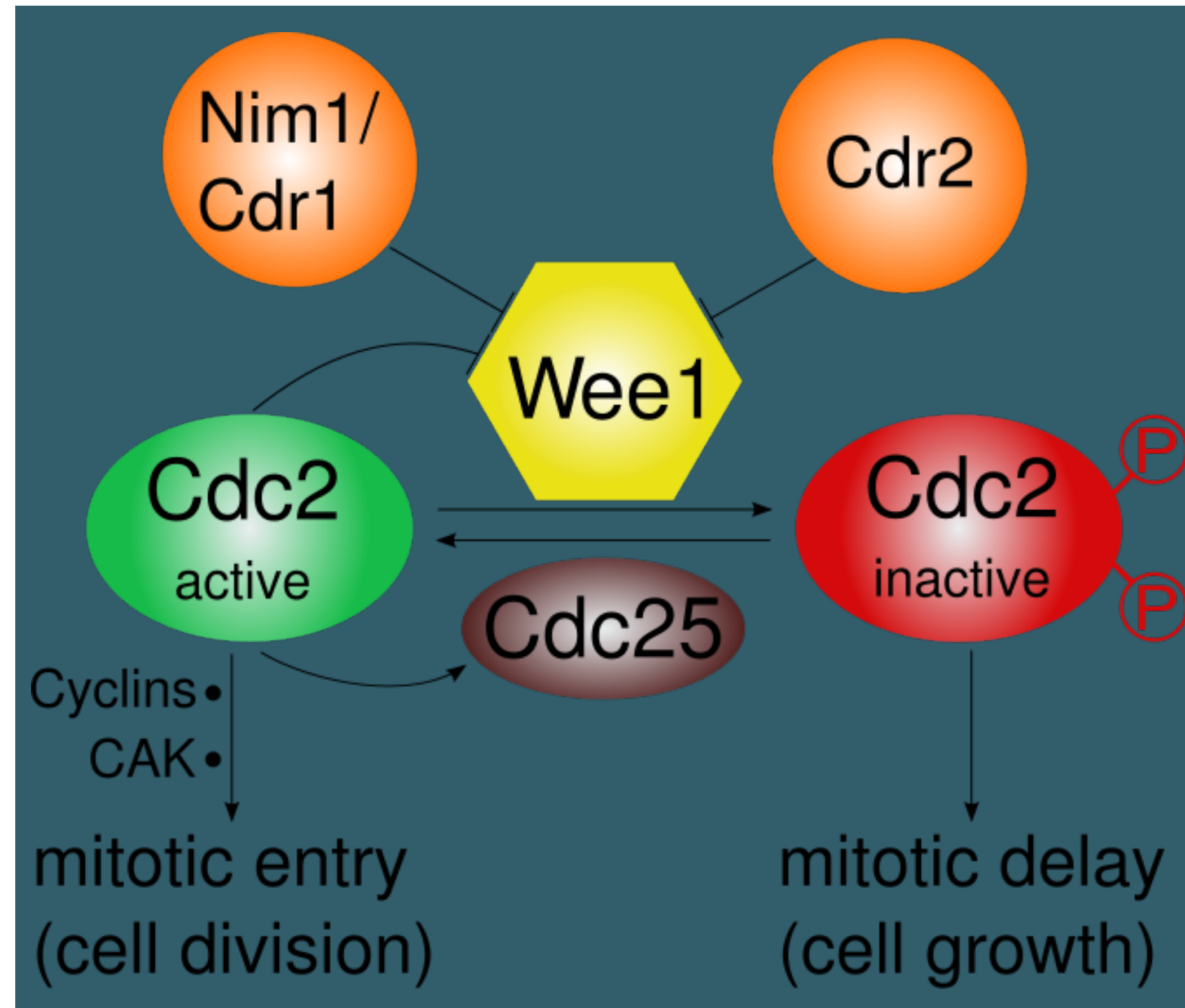
The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2001 was awarded jointly to Leland H. Hartwell, Tim Hunt and Sir Paul M. Nurse *"for their discoveries of key regulators of the cell cycle"*.

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

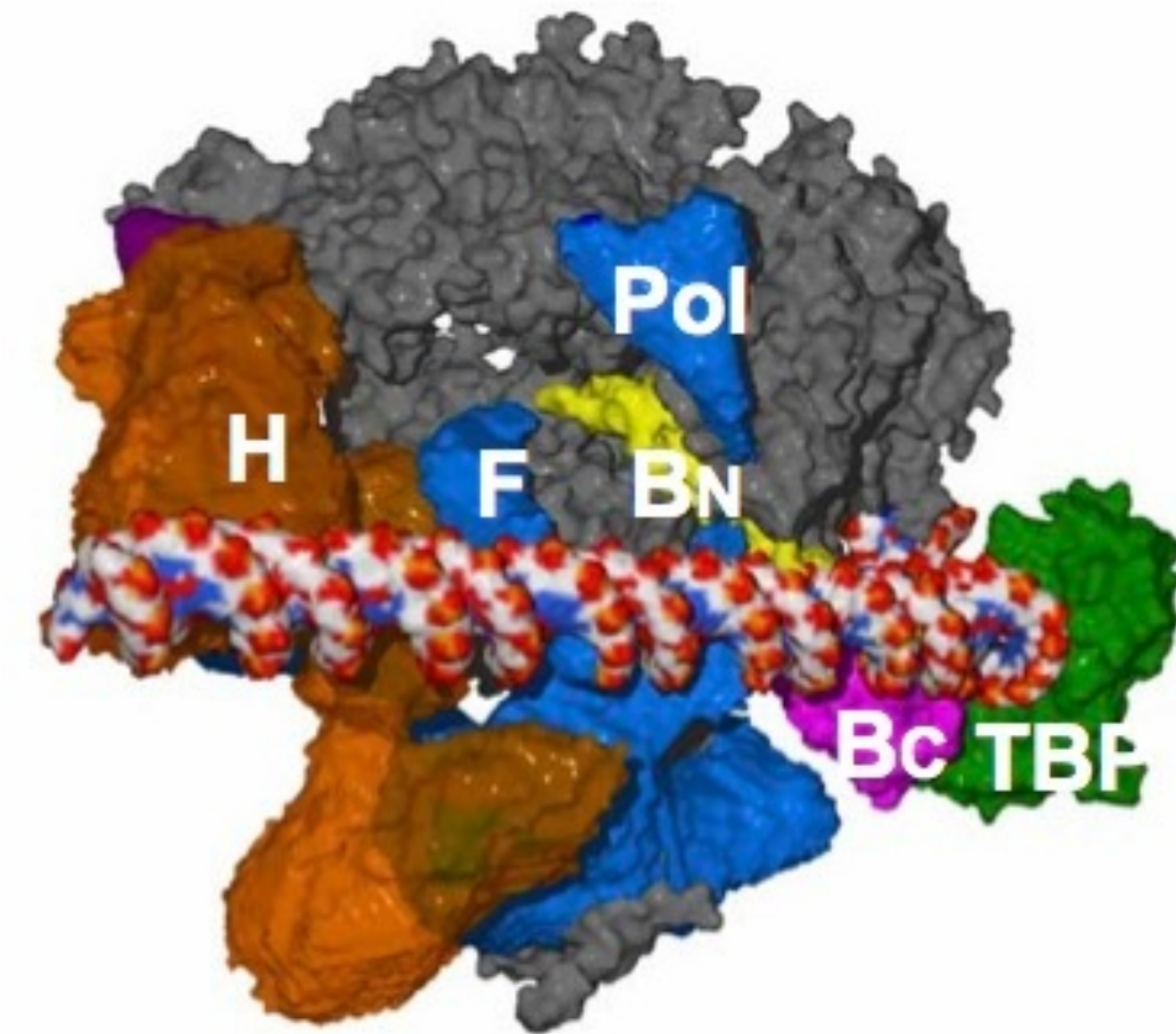
## Nobel Lecture

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"

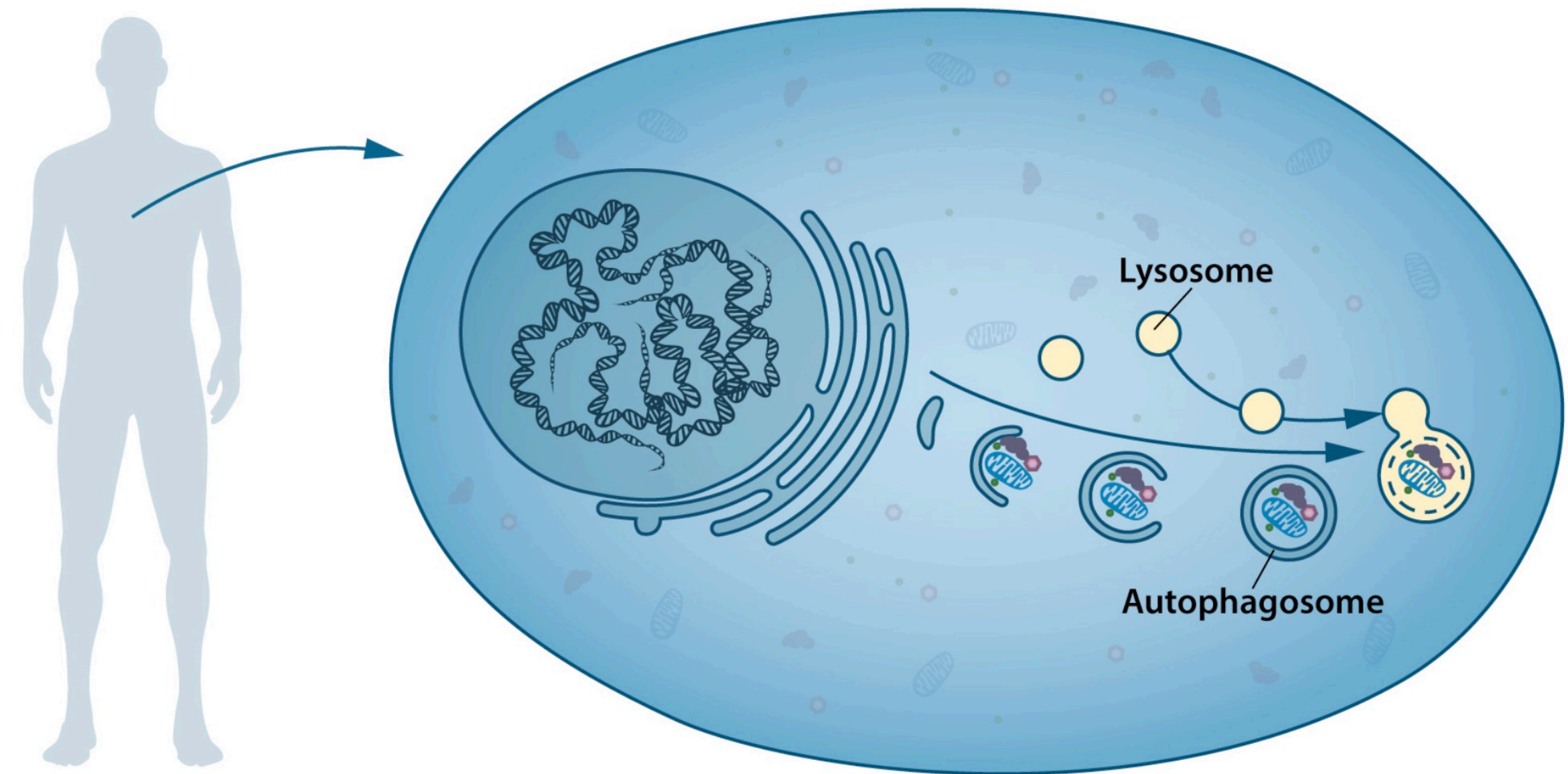
**Prize share:** 1/1



# Autofagia

---

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

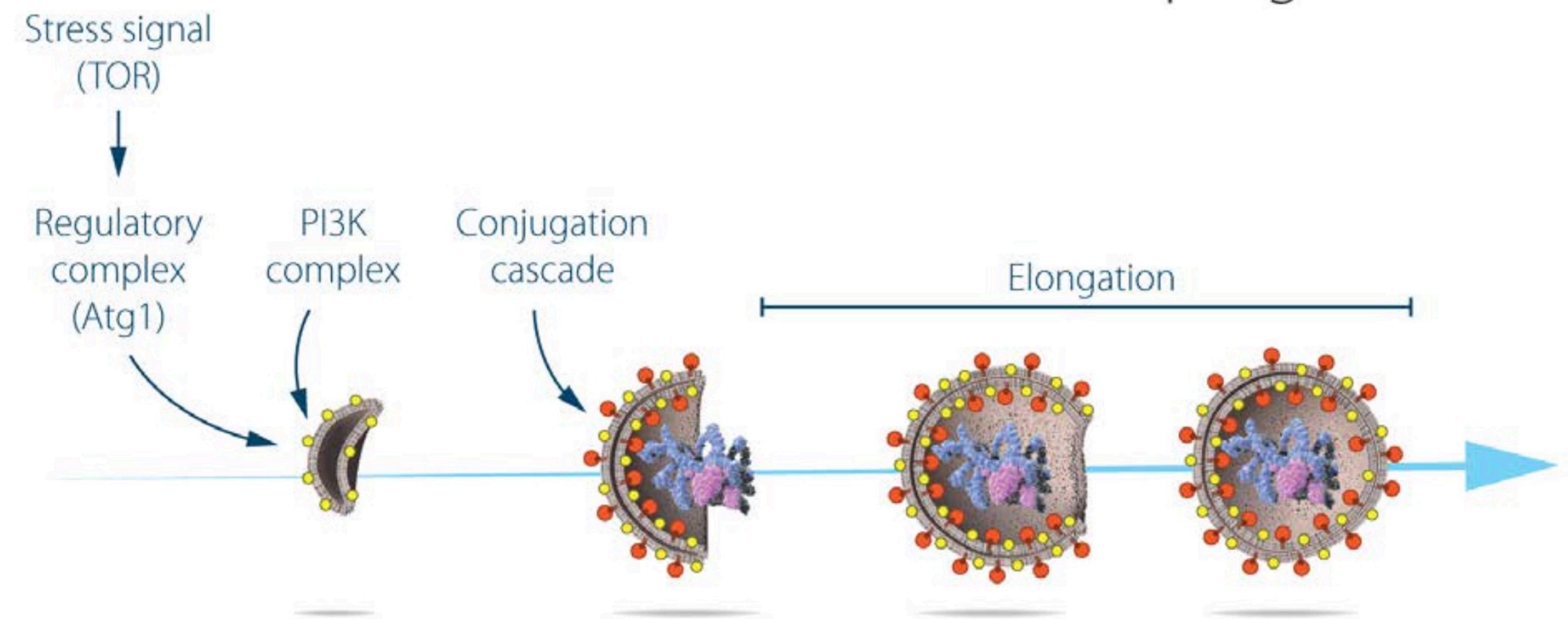
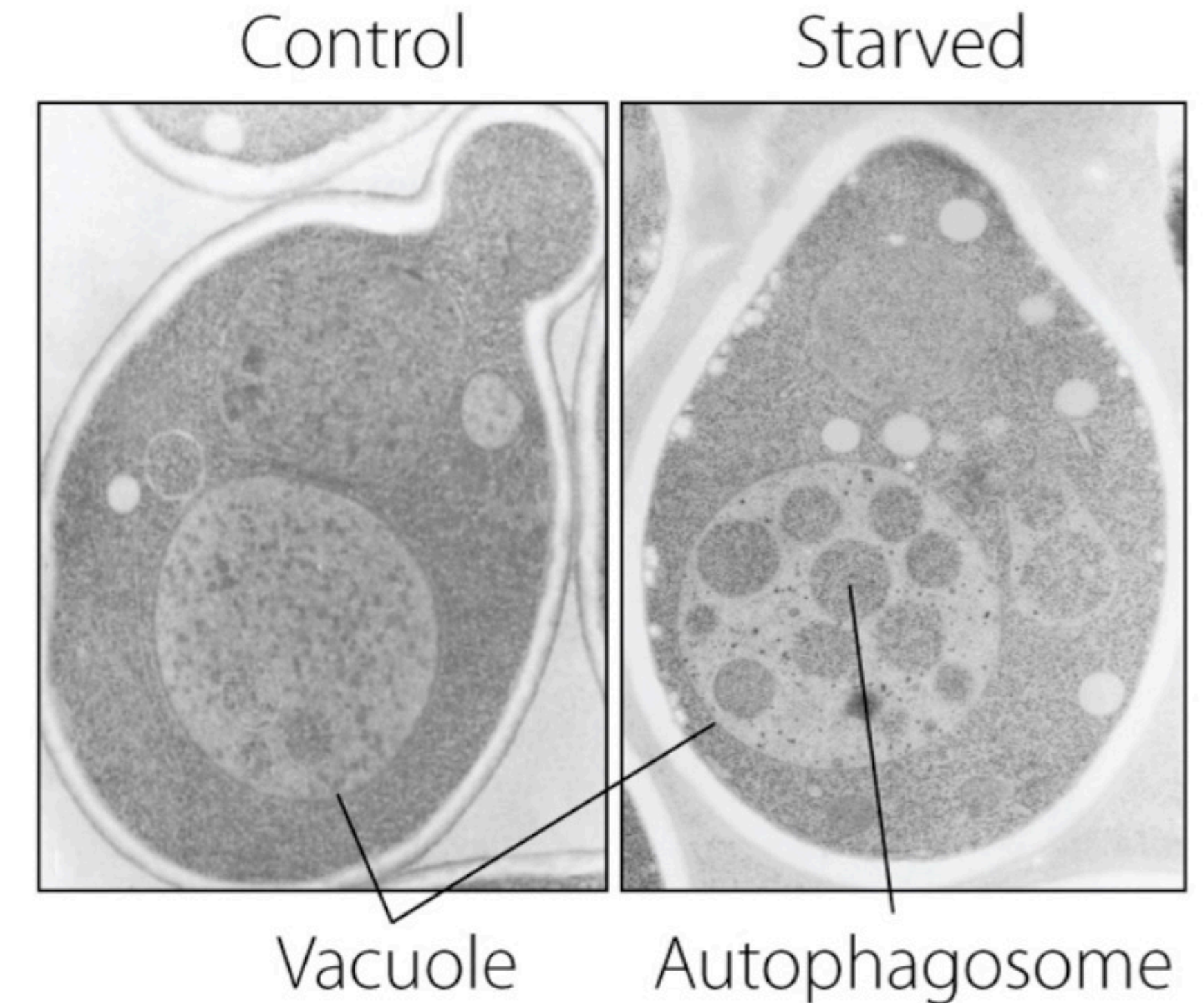


**Figure 1:** Our cells have different specialized compartments. Lysosomes constitute one such compartment and contain enzymes for digestion of cellular contents. A new type of vesicle called *autophagosome* was observed within the cell. As the autophagosome forms, it engulfs cellular contents, such 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.)

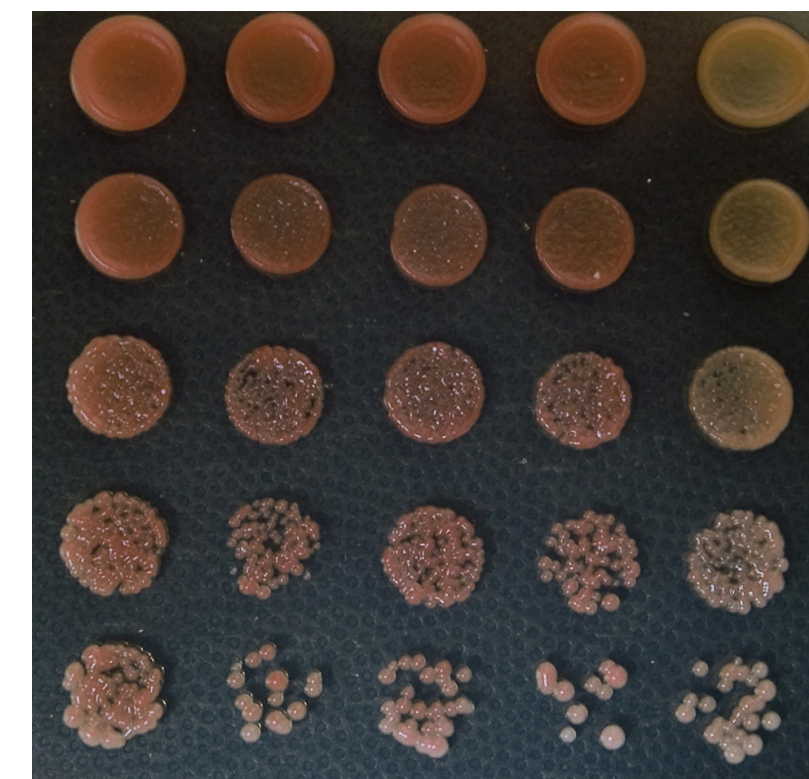




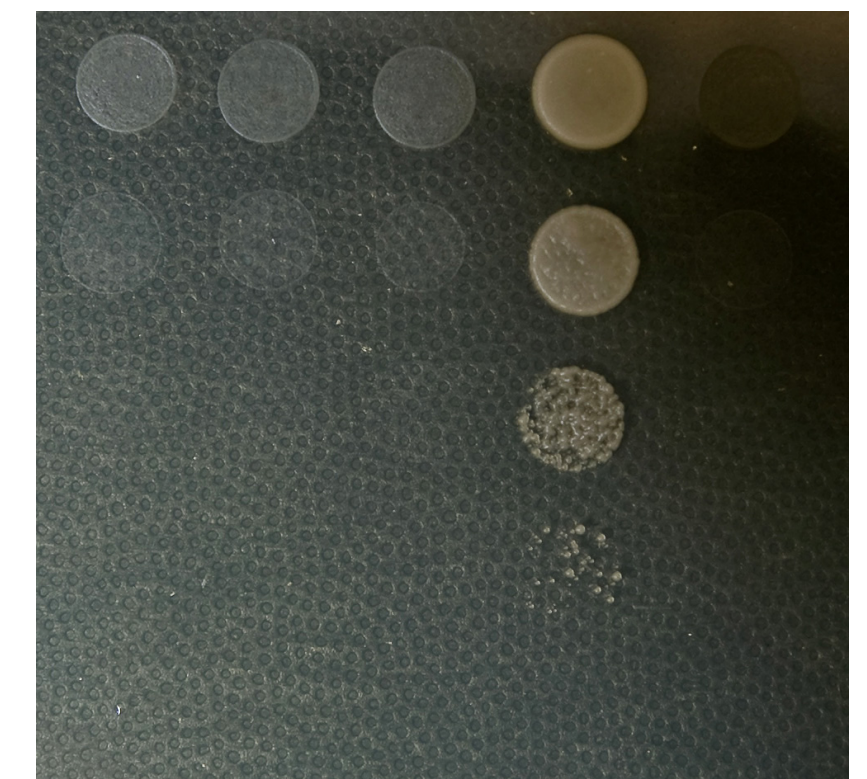
# *S. cerevisiae* i mitochondria – co szczególnego?

---

- Przeżywa bez funkcji oddechowej (fakultatywny tlenowiec, fermentacja)
- Mutanty z defektywnym oddychaniem – *petite* (lata 1940 - 1960)
- Przeżywa bez genomu mitochondrialnego (“*petite positive*”)
- U *S. cerevisiae* glukoza hamuje oddychanie (efekt Crabtree), inne gatunki preferują oddychanie



(fermentacja)

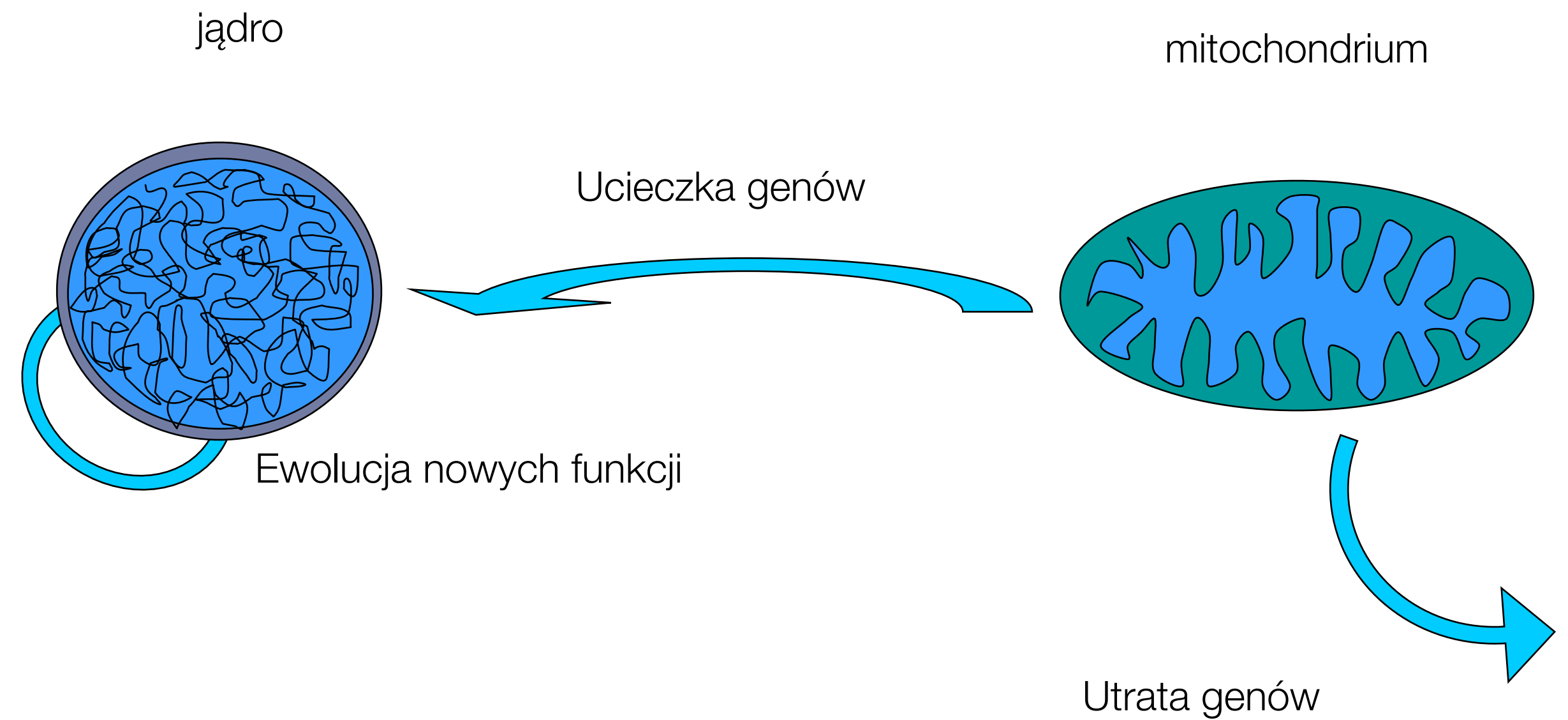


(oddychanie)

# Oddziaływania jądro-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).

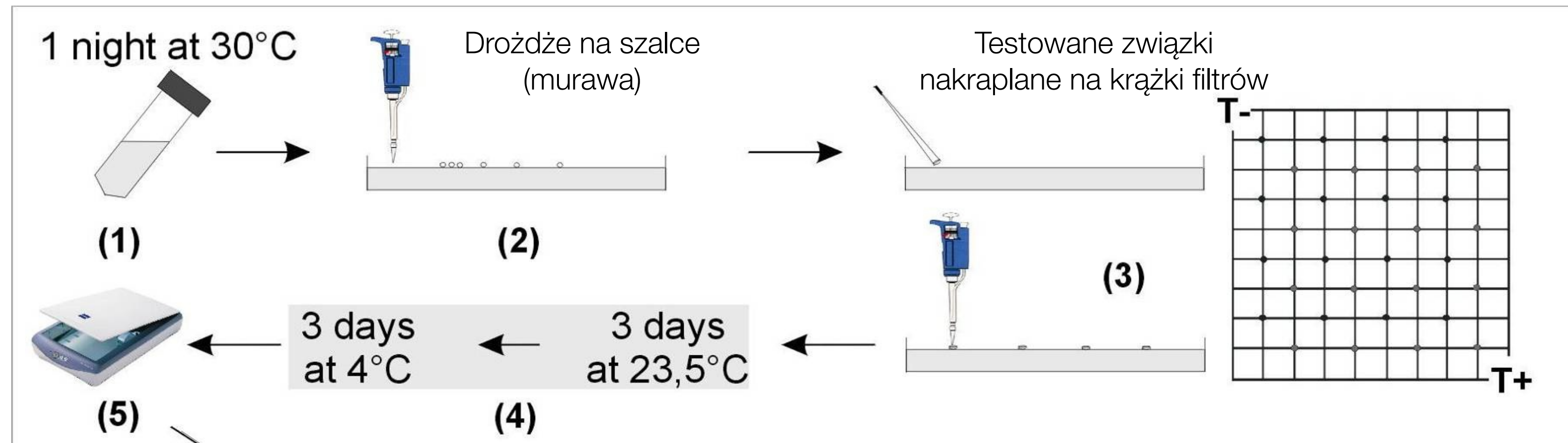
### Disease > Name

[web service URL](#)

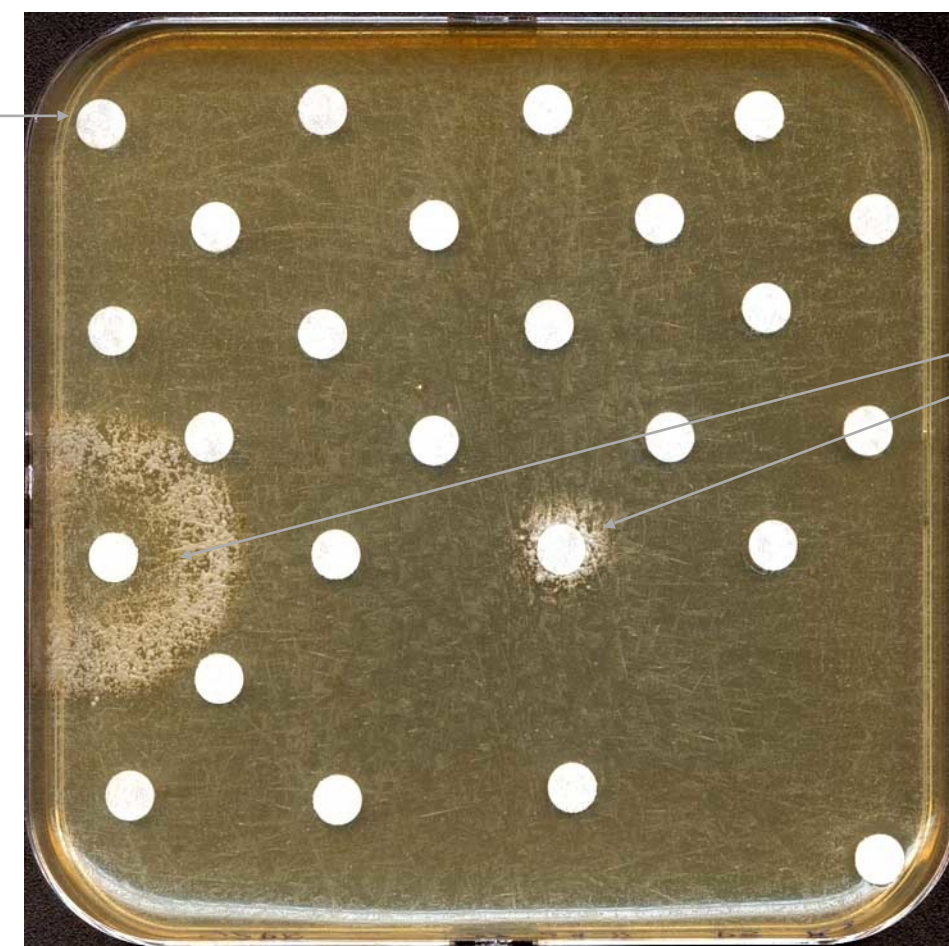
[Perl](#) | [Python](#) | [Ruby](#) | [Java](#) [\[help\]](#)

[export XML](#)

# Identyfikacja substancji aktywnych



kontrola negatywna



Związki aktywne



# Biologia syntetyczna - drożdże 2.0

- Projekt stworzenia syntetycznego genomu *S. cerevisiae*
- Obecnie 7 z 16 chromosomów
- W chromosomach sekwencje ułatwiające indukcję rearanżacji

## Design of a synthetic yeast genome

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

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

