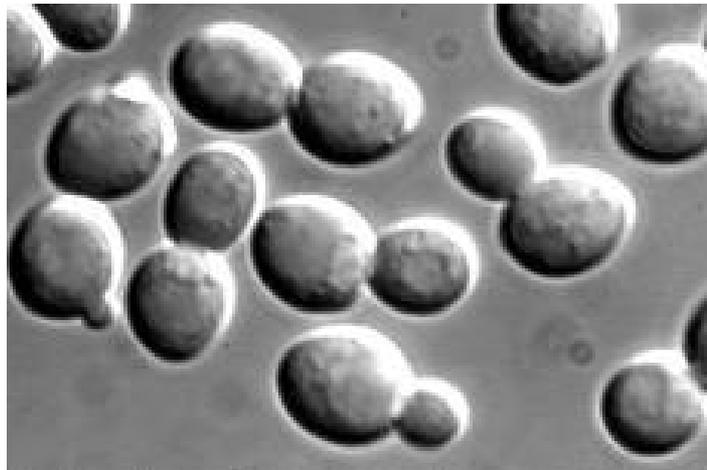


微生物學特論-實驗模式生物

酵母菌



呂俊毅

中央研究院分子生物研究所

什麼是實驗模式生物？

- 非人類的簡單實驗生物系統。

什麼是實驗模式生物？

- 非人類的簡單實驗生物系統。
- 不同的模式生物，被用來回答不同層次的生物問題。

常見的實驗模式生物



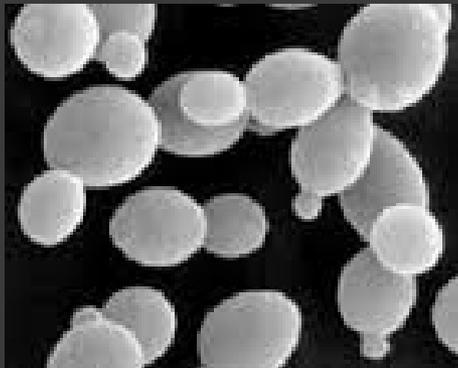
大腸桿菌



果蠅



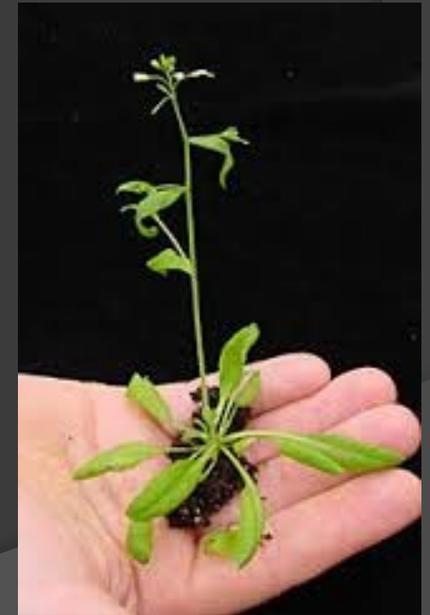
線蟲



酵母菌



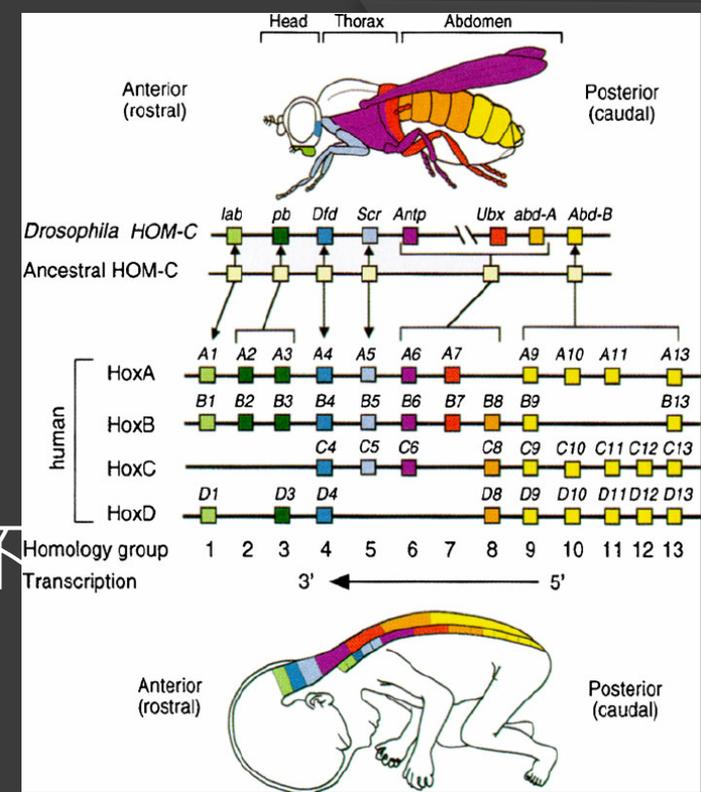
小鼠



阿拉伯芥

什麼是實驗模式生物？

- 非人類的簡單實驗生物系統。
- 不同的模式生物，被用來回答不同問題。
- 基於演化理論中的共同祖先推論，由模式生物所得到的知識，讓我們能進一步推測人類(或其他生物)系統的運作原理。



什麼是實驗模式生物？

- 非人類的簡單實驗生物系統。
- 不同的模式生物，被用來回答不同層次的生物問題。
- 基於演化理論中的共同祖先推論，由模式生物所得到的知識，讓我們能進一步推測人類(或其他生物)系統的運作原理。
- 模式生物系統的建立，是二十世紀生物學突飛猛進的一個重要因素。

什麼是實驗模式生物？

- 非人類的簡單實驗生物系統。
- 不同的模式生物，被用來回答不同層次的生物問題。
- 基於演化理論中的共同祖先推論，由模式生物所得到的知識，讓我們能進一步推測人類(或其他生物)系統的運作原理。
- 模式生物系統的建立，是二十世紀生物學突飛猛進的一個重要因素 – 為什麼？

常見的實驗模式生物



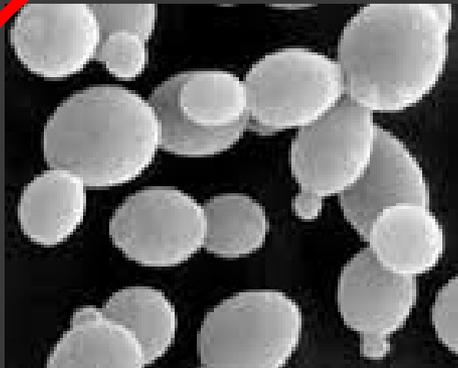
大腸桿菌



果蠅



線蟲



酵母菌



小鼠



阿拉伯芥

神的贈禮-是誰在暗中幫忙？

- 西元前2000年左右，古埃及人將忘記烤的麵糰擺在溫熱的地方，竟慢慢地脹大起來，這種麵糰烤出來後非常鬆軟。
- 從此人們便故意留一塊麵糰，讓酵母慢慢使它發大、變酸，再取一團作「麵種」留待下次發麵包。
- 古埃及人只知道方法，卻不懂得其原理，因此一直認為這是神在暗中幫忙，而認定麵包是「神的贈禮」。





- 為什麼麵糰會膨脹呢？



- 為什麼麵糰會膨脹呢？
- 為什麼「麵種」可以延續地用幾十年？



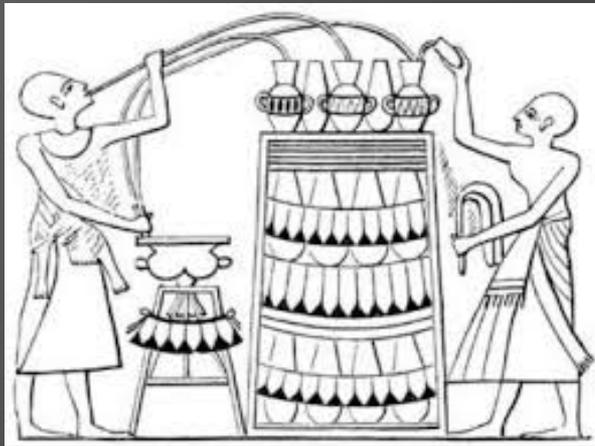
- 為什麼麵糰會膨脹呢？
- 為什麼「麵種」可以延續地用幾十年？
- 真的有“天然酵母菌”嗎？



- 為什麼麵糰會膨脹呢？
- 為什麼「麵種」可以延續地用幾十年？
- 真的有“天然酵母菌”嗎？
- 酵母是從哪裡來的？

和人類的歷史淵源

- 研究人員在西元前3000年埃及的陵墓發現的大量盛液體的土罐，這是古埃及人用來裝葡萄酒的陶罐，酒罐裡發現了酵母菌的蹤跡；特別是浮雕中，清楚地描繪了古埃及人栽培、採收葡萄、釀制步驟和飲用葡萄酒的情景，這至今已有5000多年的歷史。



一個世紀的差異

- 狗狗一百年進化史-為了配合人類生活文化，例如打獵、守衛、與可愛外型，經過商人不斷培育、配種，產生不同的外表。

古代長鬚牧羊犬

聖伯納犬

想到達爾文說過的那句名言了嗎!

1915年



2015年



一個世紀的差異

- 狗狗一百年進化史-為了配合人類生活文化，例如打獵、守衛、與可愛外型，經過商人不斷培育、配種，產生不同的外表。

想到達爾文說過的那句名言了嗎!

1915年



古代長鬚牧羊犬

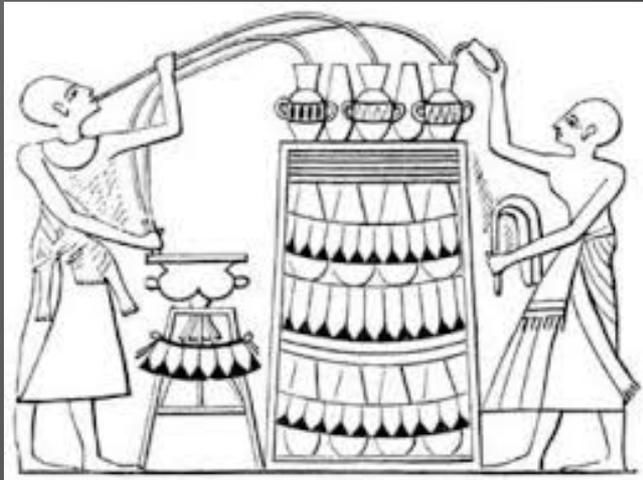
聖伯納犬



2015年



50個世紀的差異會有多少？



- 釀制葡萄酒至今已有5000多年的歷史。



圖片來源<http://www.bio.davidson.edu/>

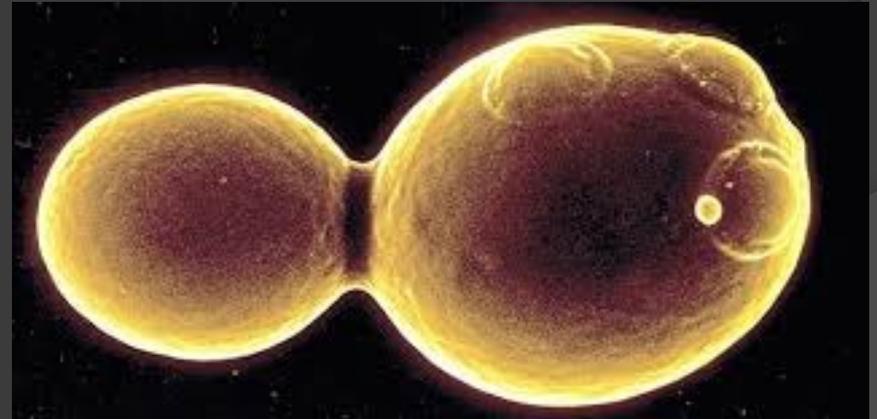
專業品酒員-喝酒維生的馬來西亞樹鼯



~
た

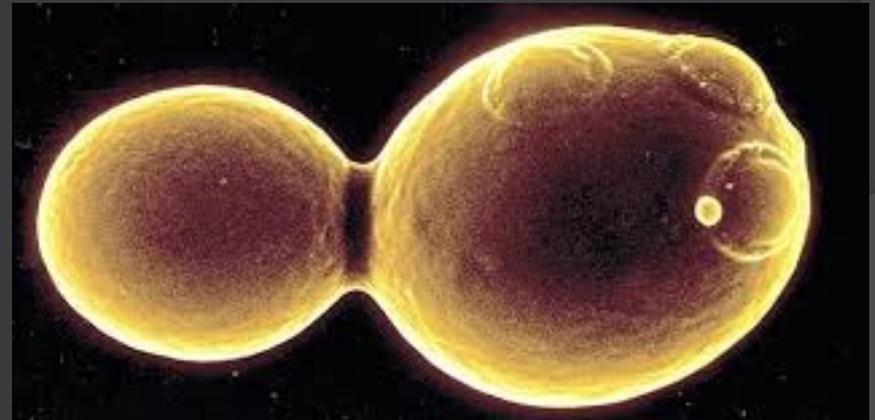


出芽酵母菌 (budding yeast)

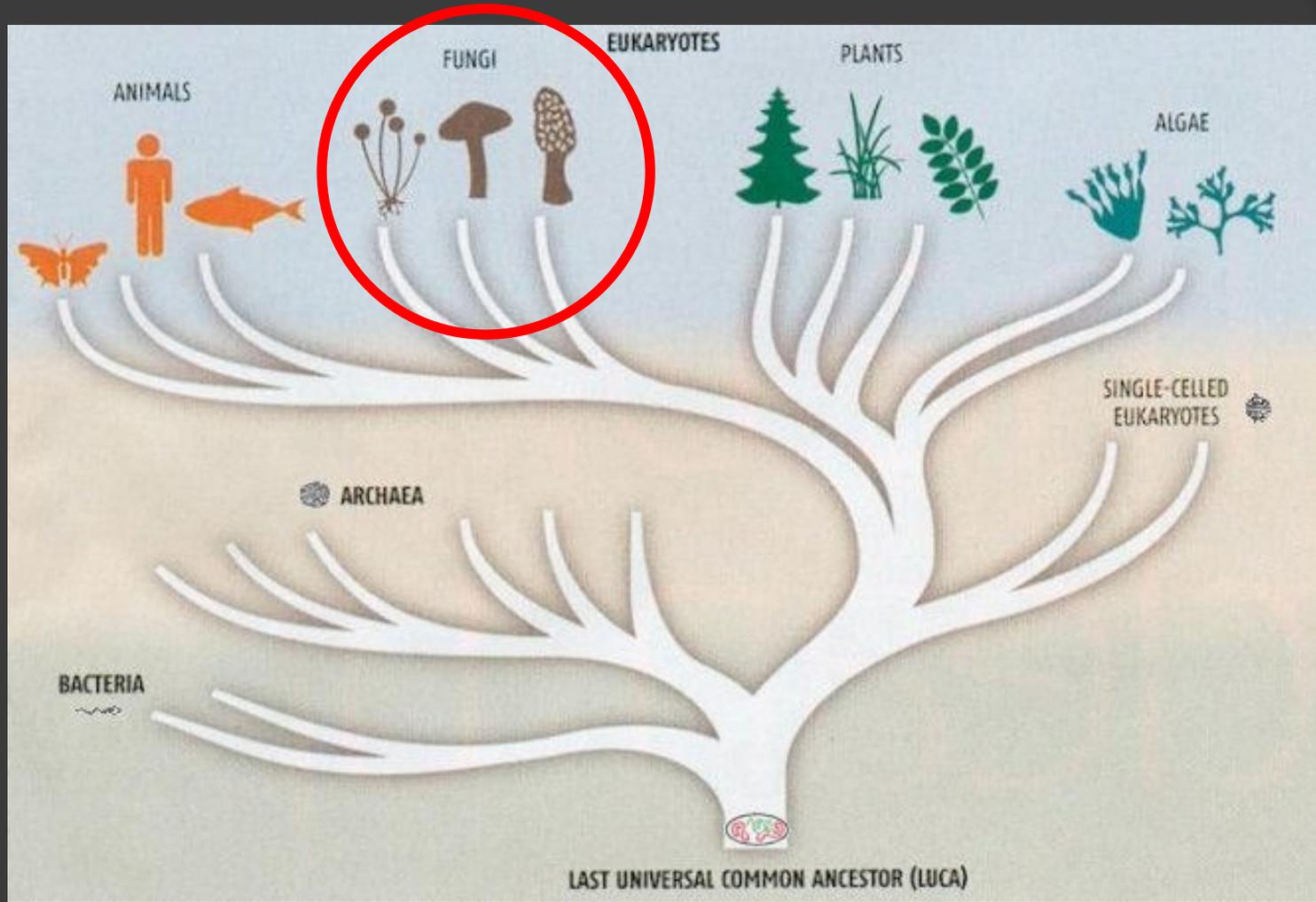


出芽酵母菌 (budding yeast)

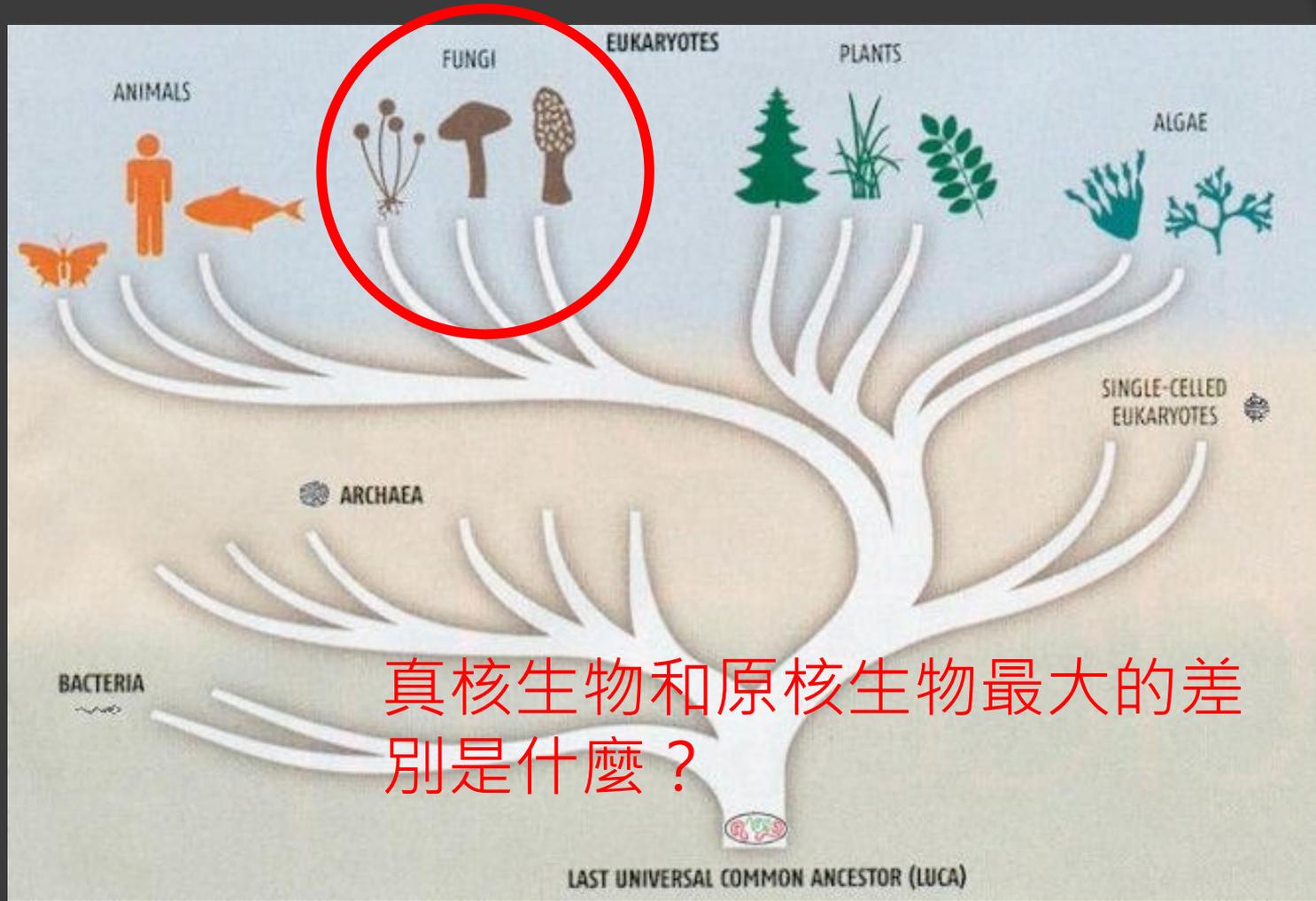
- 酵母菌不是細菌!
- 酵母菌也不是養樂多裡的乳酸菌喔!



分類學:真菌界



分類學:真菌界

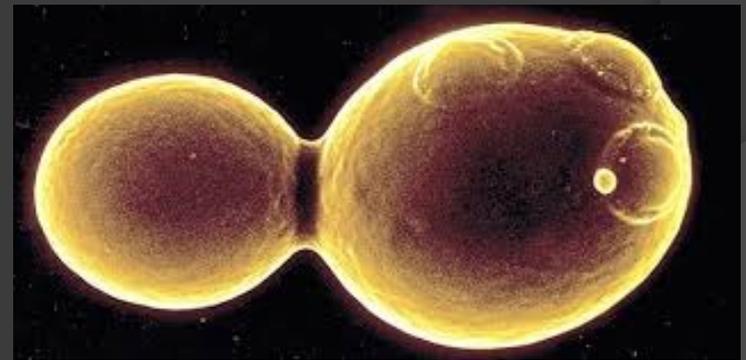


真核生物和原核生物最大的差別是什麼？

酵母菌

- 單細胞真核微生物，以出芽方式分裂生殖。
- 日常生活中用來製造啤酒，葡萄酒，威士忌和麵包饅頭的酵母就是出芽酵母菌。

- 學名：
Saccharomyces cerevisiae



酵母菌

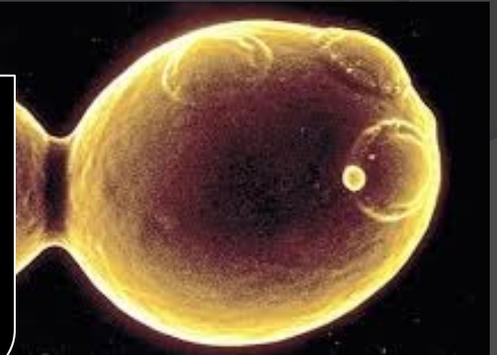
- 單細胞真核微生物，以出芽方式分裂生殖。
- 日常生活中用來製造啤酒，葡萄酒，威士忌和麵包饅頭的酵母就是出芽酵母菌。

- 學名：

Saccharomyces cerevisiae

Saccharo是拉丁語的糖
myces是拉丁語的真菌

原來這些奇怪的名字都是有意義的呀!





為什麼酵母菌製造的酒精會有香味
呢？

為什麼酵母菌製造的酒精會有香味呢？

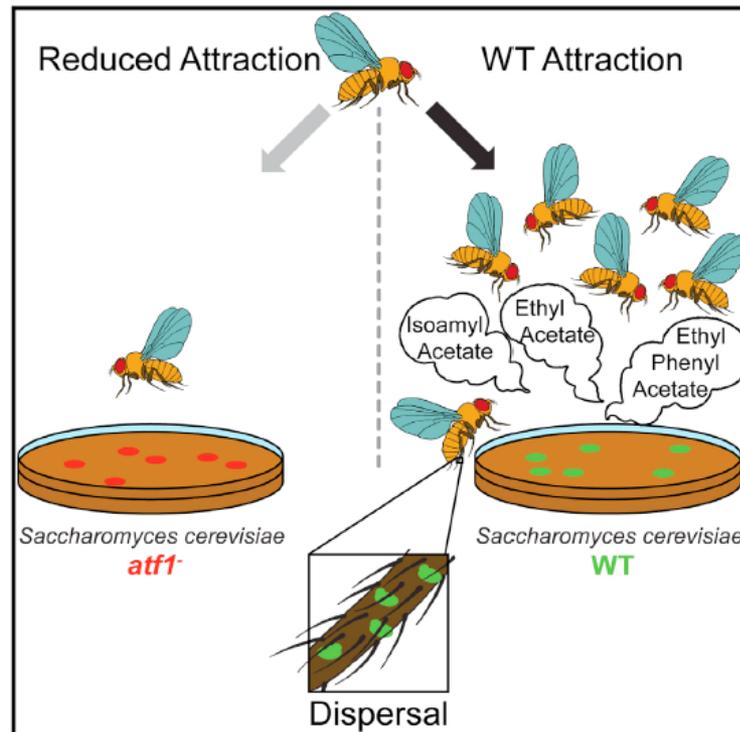
Cell Reports

Report

2014

The Fungal Aroma Gene *ATF1* Promotes Dispersal of Yeast Cells through Insect Vectors

Graphical Abstract



Authors

Joaquin F. Christiaens, Luis M. Franco, ..., Emre Yaksi, Kevin J. Verstrepen

Correspondence

emre.yaksi@nerf.be (E.Y.),
kevin.verstrepen@biw.vib-kuleuven.be (K.J.V.)

In Brief

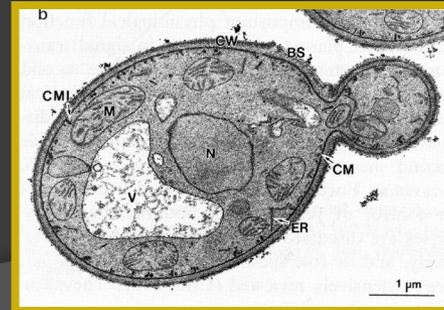
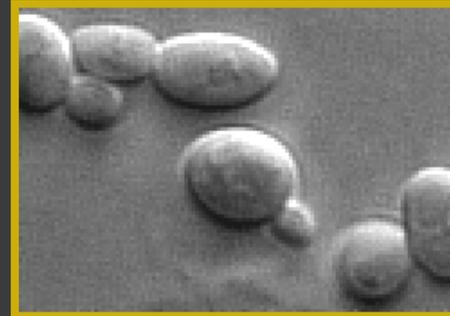
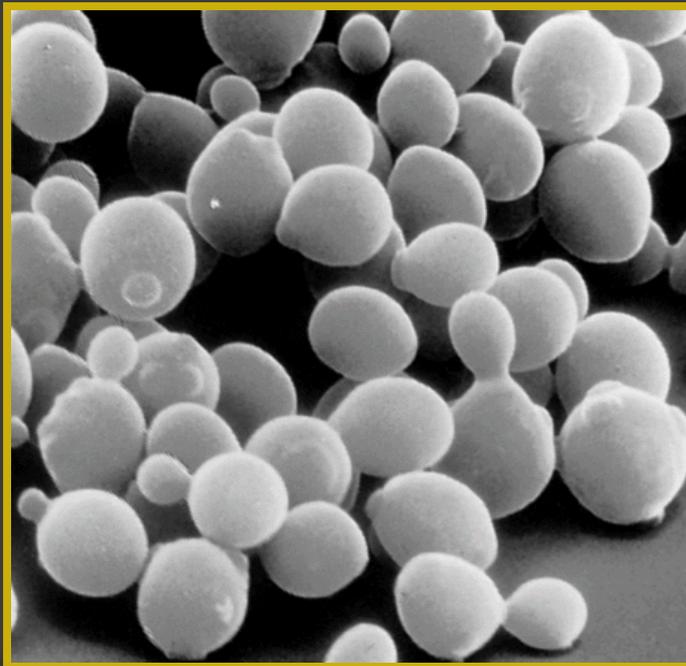
Yeast cells produce several different volatile acetate esters. Whereas these fruity aroma compounds are key contributors to the pleasing aroma of fermented beverages like beer and wine, their physiological role for the yeast cells that produce them remains unknown. Christiaens et al. show that two acetate esters, ethyl acetate and isoamyl acetate, help to attract fruit flies that serve as vectors that promote dispersal of the yeast cells. Deletion of the yeast *ATF1* gene, encoding a key acetate ester synthase, drastically reduces *Drosophila* attraction and therefore limits yeast dispersal.

Highlights

為什麼酵母菌會被選為實驗模式生物呢？

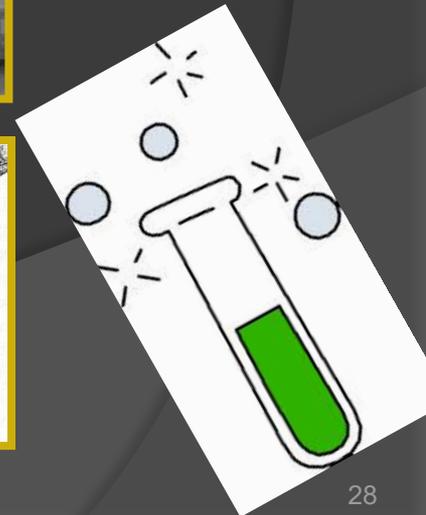
為什麼酵母菌會被選為實驗模式生物呢？

- ◎ (1) 單細胞真核微生物，容易培養，體積小且生長快速。
 - 成熟細胞直徑4–6 μm
 - 生長速度90分鐘/世代



一毫升有一
億個細胞喔！

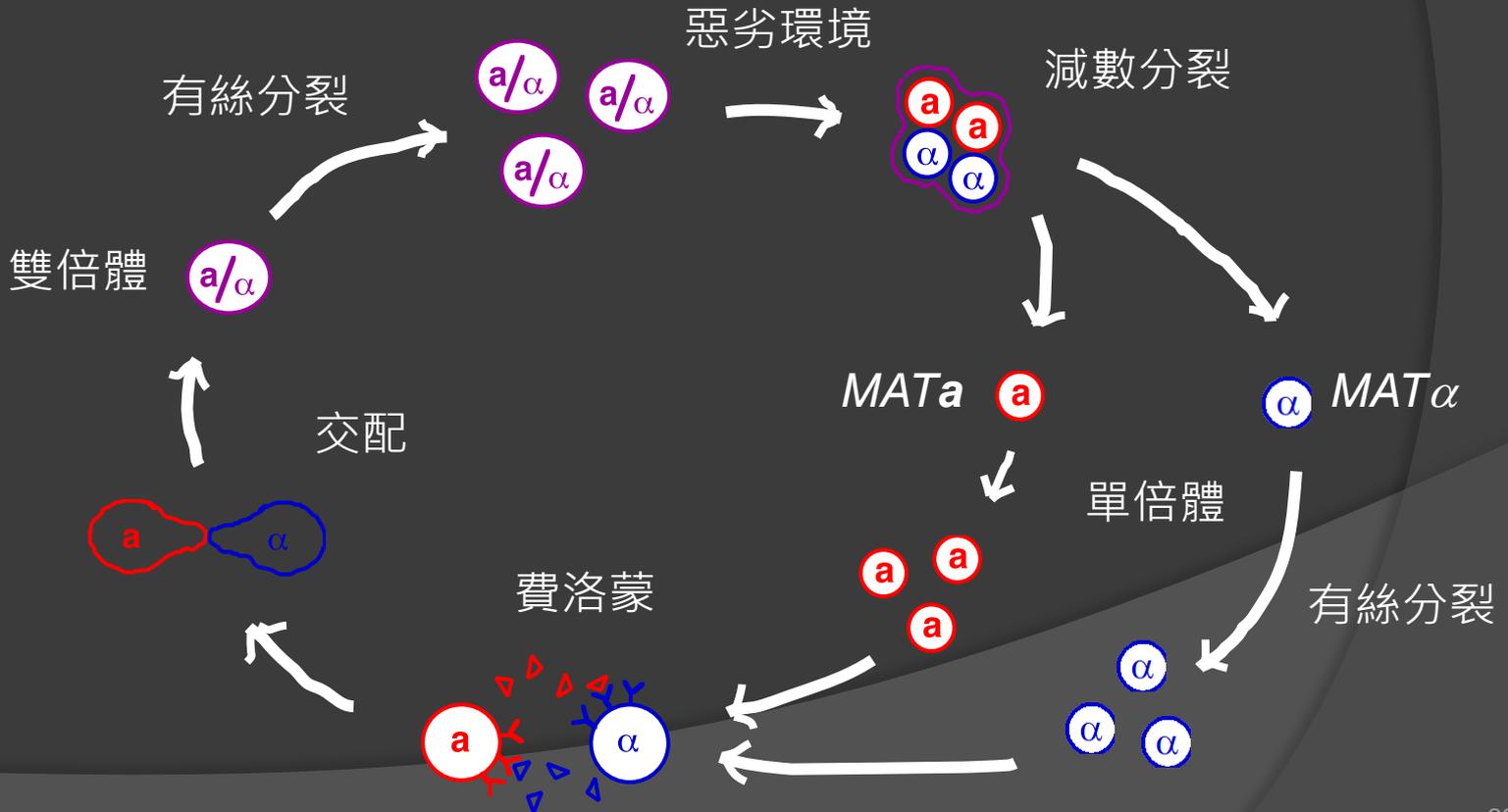
這是以量取
勝嗎？



為什麼酵母菌會被選為實驗模式生物呢？

- ◎ (2) 具備單倍體與雙倍體，有性生殖和無性生殖的生命週期。可以研究較複雜的問題。

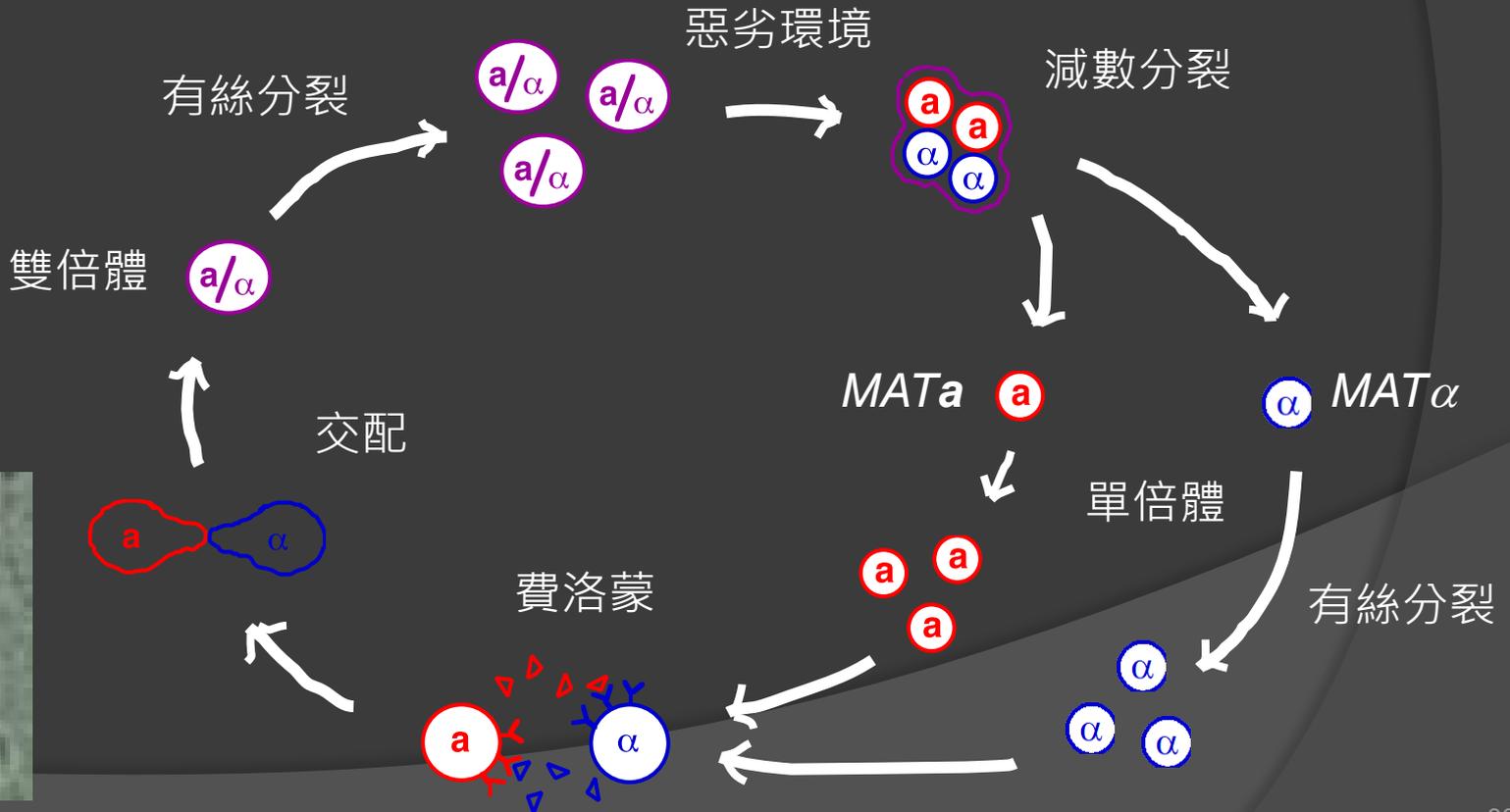
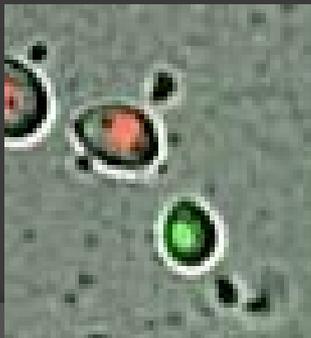
傷腦筋，
怎麼看起來比人類
還複雜？



為什麼酵母菌會被選為實驗模式生物呢？

- ◎ (2) 具備單倍體與雙倍體，有性生殖和無性生殖的生命週期。可以研究較複雜的問題。

傷腦筋，
怎麼看起來比人類
還複雜？



為什麼酵母菌會被選為實驗模式生物呢？

- ◎ (2) 具備單倍體與雙倍體，有性生殖和無性生殖的生命週期。可以研究較複雜的問題。
 - 穩定的單倍體讓突變株容易取得與分析。

因為大部分的突變都是隱性的！

單倍體

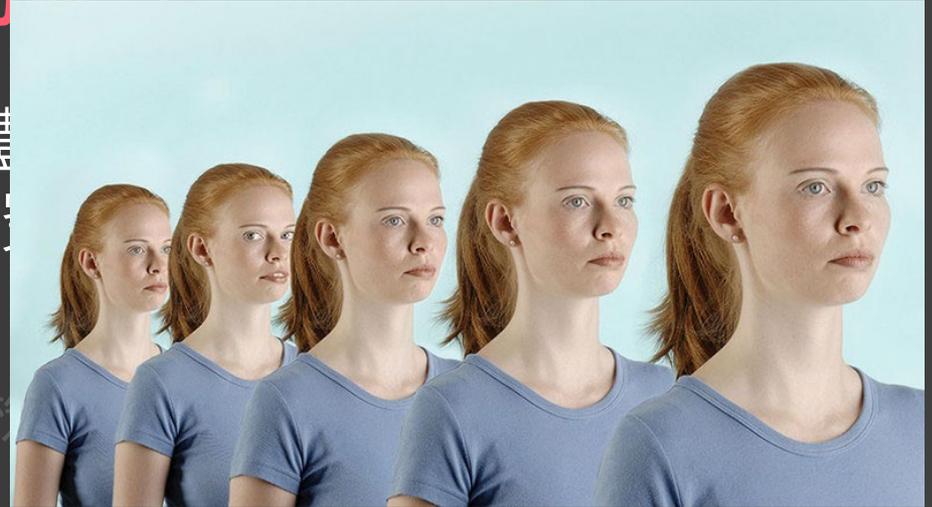


雙倍體



為什麼酵母菌會被選為實驗模式生物呢？

- ◎ (2) 具備單倍體與雙倍體殖的生命週期。可以研究



- 穩定的單倍體讓突變材料

- 無性生殖讓科學家可以比較完全一模一樣的細胞在各種情況下的表現。

就是讓實驗中的變數減到最少的意思。這對一個實驗的好壞很重要!



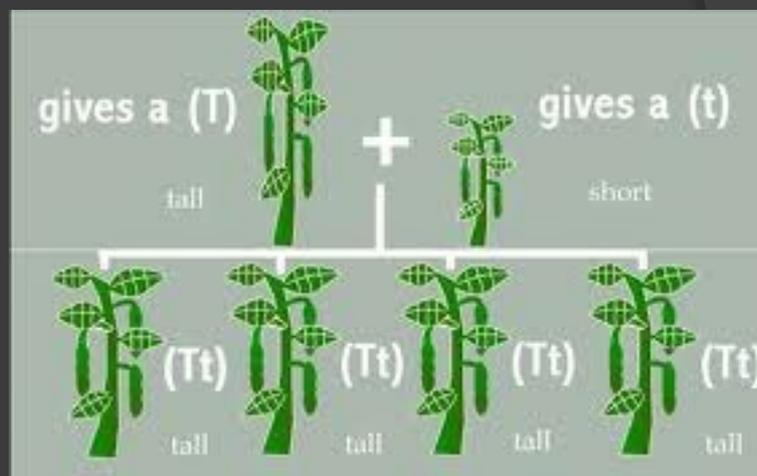
為什麼酵母菌會被選為實驗模式生物呢？

- ◎ (2) 具備單倍體與雙倍體，有性生殖和無性生殖的生命週期。可以研究較複雜的問題。
 - 穩定的單倍體讓突變株容易取得與分析。
 - 無性生殖讓科學家可以比較完全一模一樣的細胞在各種情況下的表現。
 - 可操控的有性生殖讓酵母菌成為最容易操作的遺傳實驗系統。

講到遺傳？你會想到誰？



孟德爾和他的豌豆。



Gregor Johann Mendel (1822-1884): 遺傳學之父

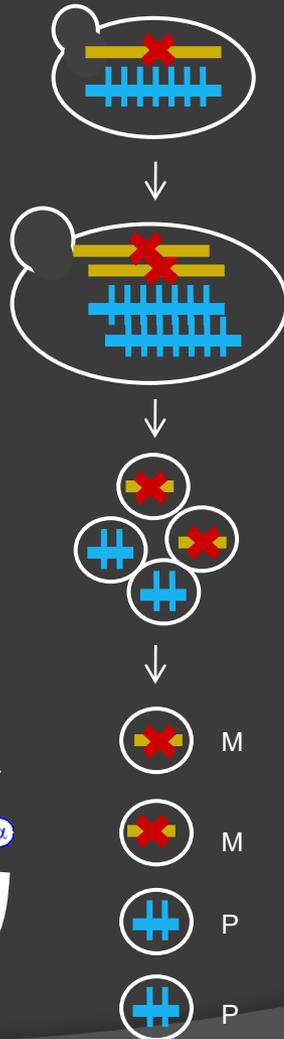
什麼是孟德爾的三大遺傳定律？

什麼是孟德爾的三大遺傳定律？

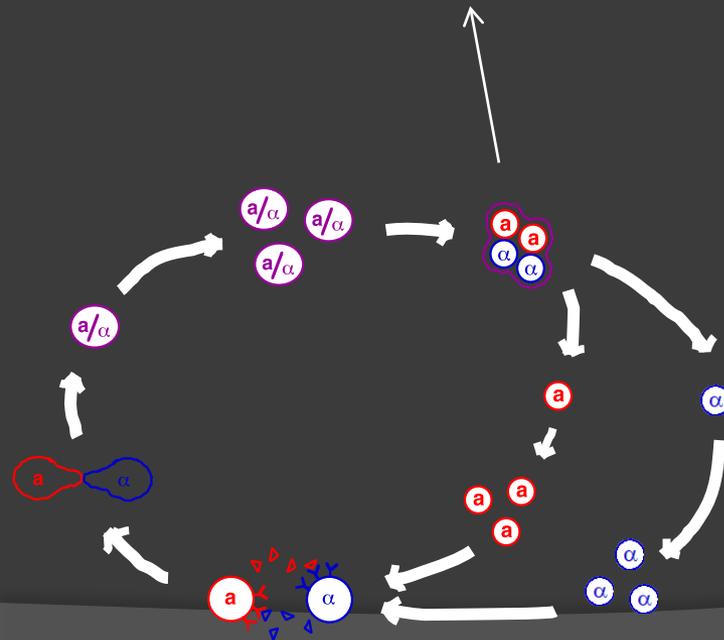
- Law of Segregation (分離律)
- Law of Independent Assortment (獨立分配律)
- Law of Dominance (顯性法則)

酵母菌的遺傳實驗操作

四分體孢子

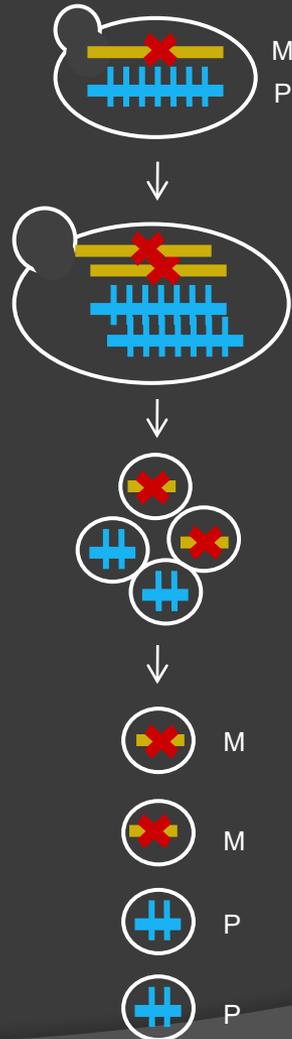


四分體解剖顯微鏡



酵母菌的遺傳實驗操作

四分體孢子



從四分體孢子
長出來的酵母菌

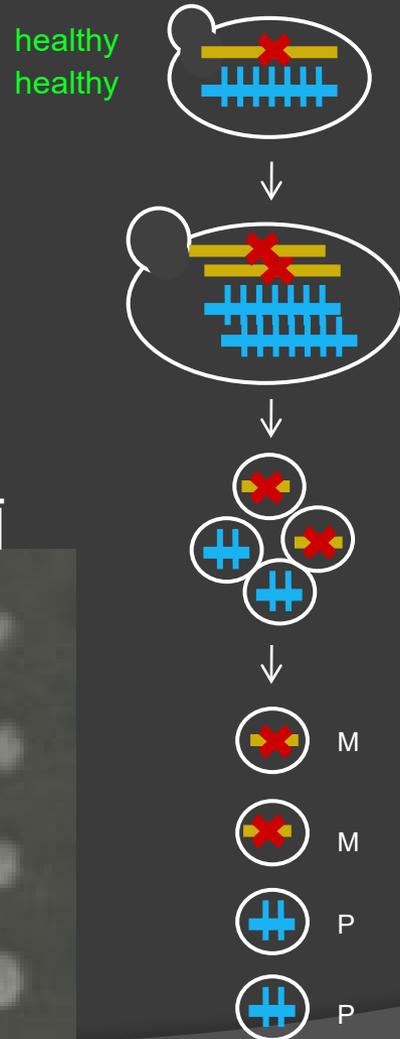


酵母菌培養盤



四分體解剖顯微鏡

分離律的實驗驗證

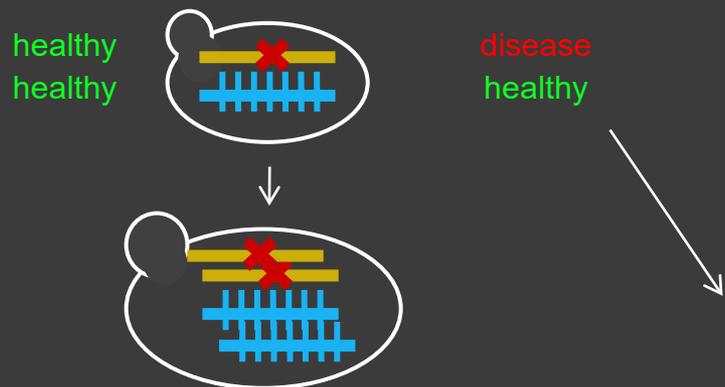


healthy
healthy

從四分體孢子
長出來的酵母菌



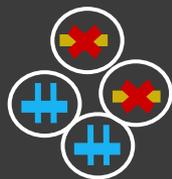
分離律的實驗驗證



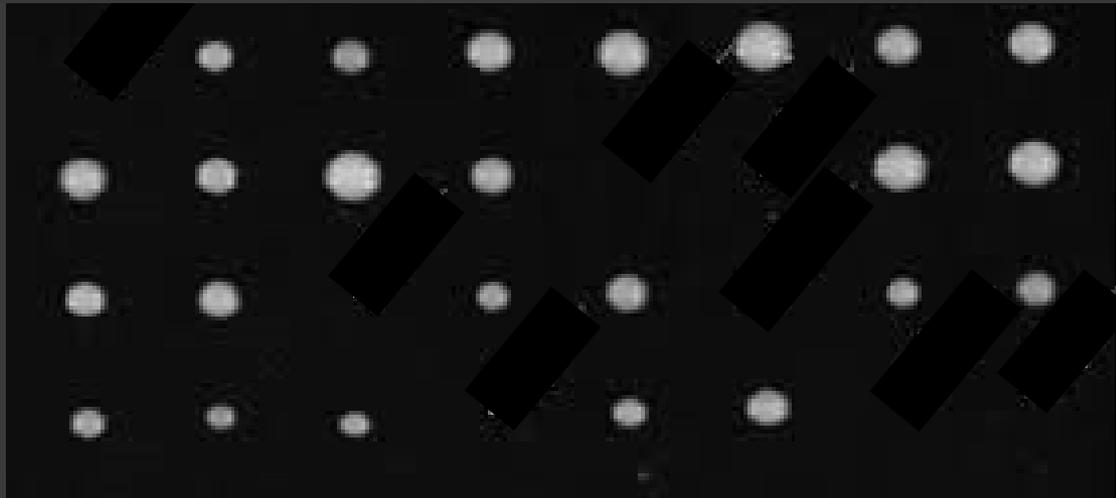
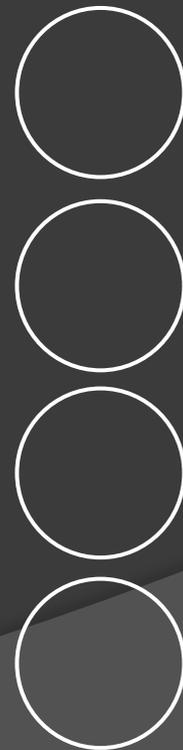
從四分體孢子
長出來的**酵母菌**



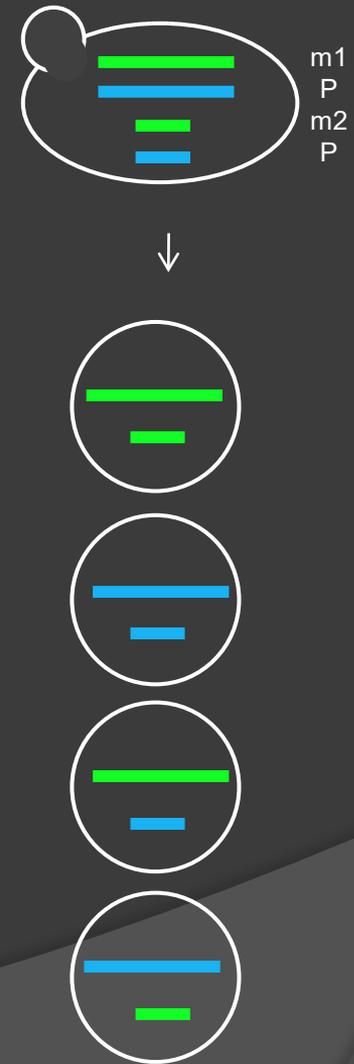
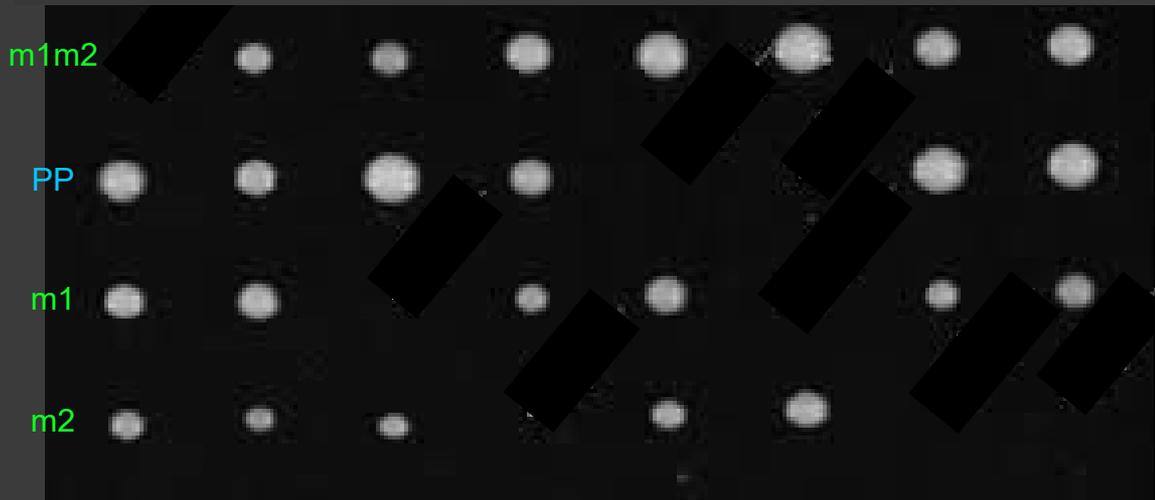
從四分體孢子
長出來的**酵母菌**



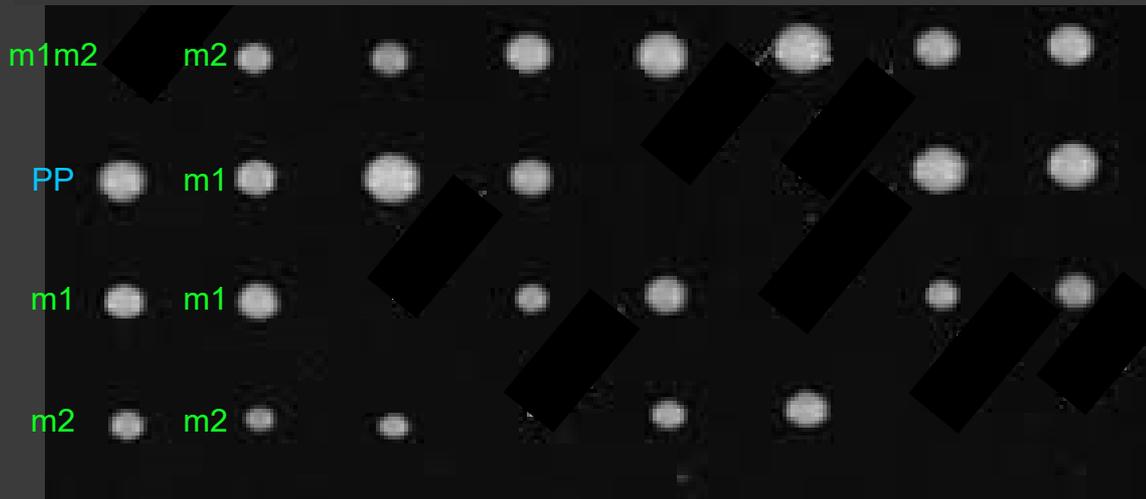
獨立分配律的實驗驗證



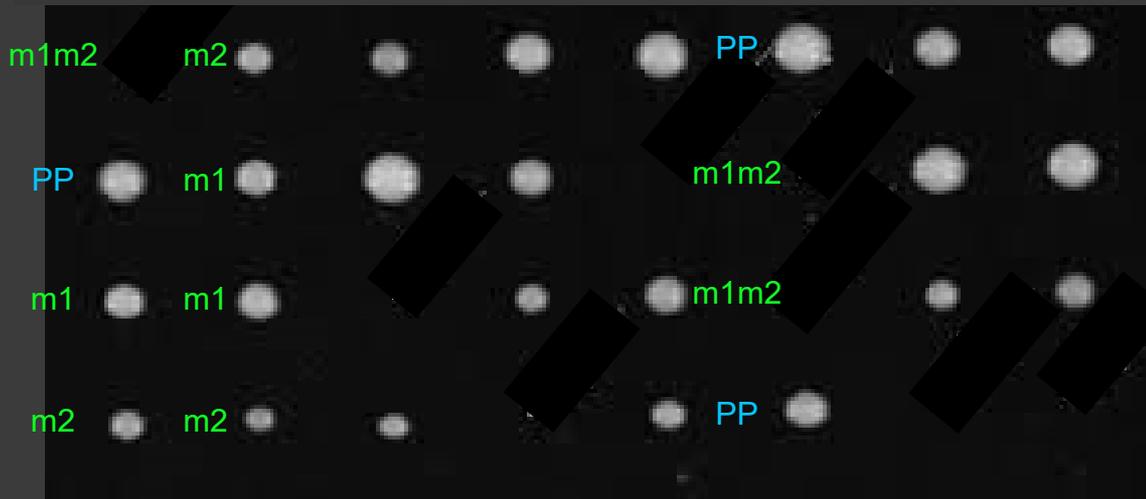
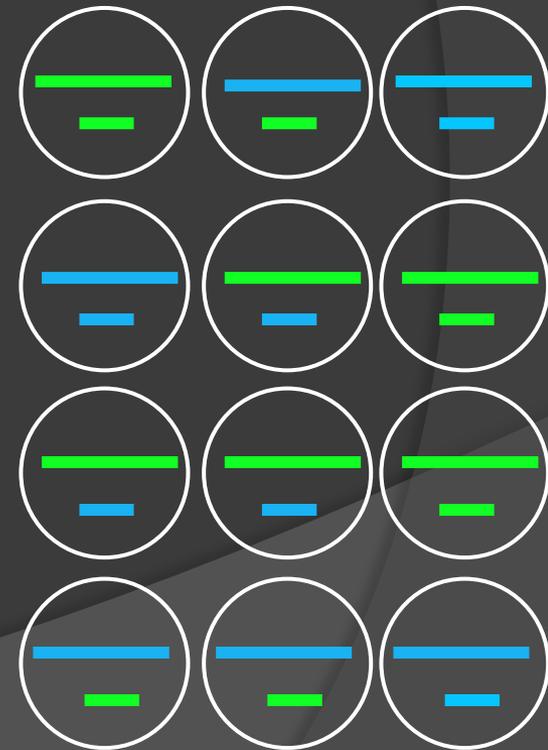
獨立分配律的實驗驗證



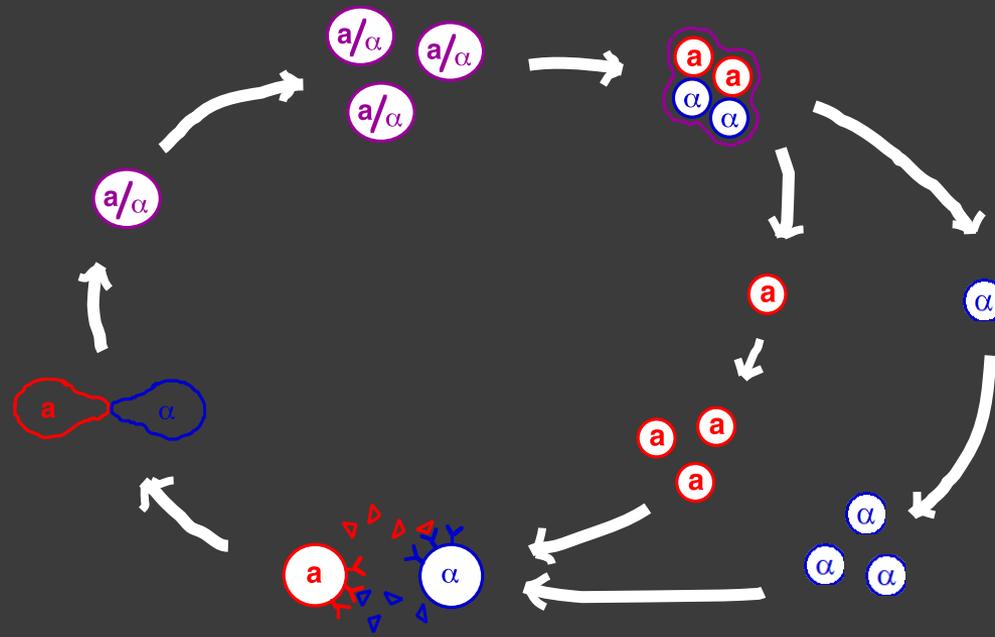
獨立分配律的實驗驗證



獨立分配律的實驗驗證

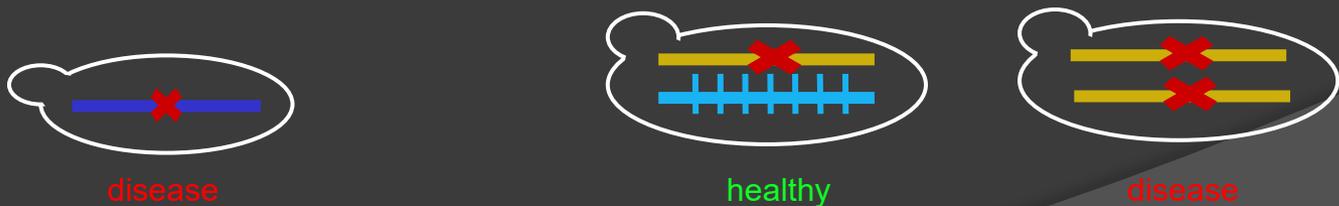


顯性法則的實驗驗證



單倍體

雙倍體

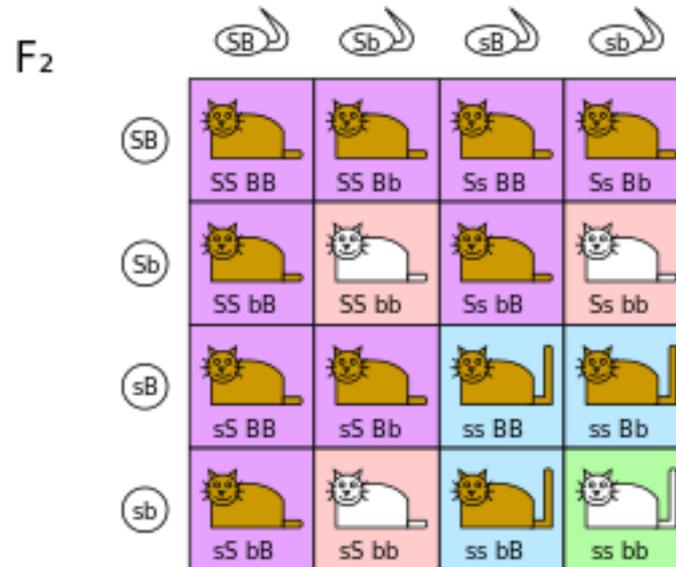
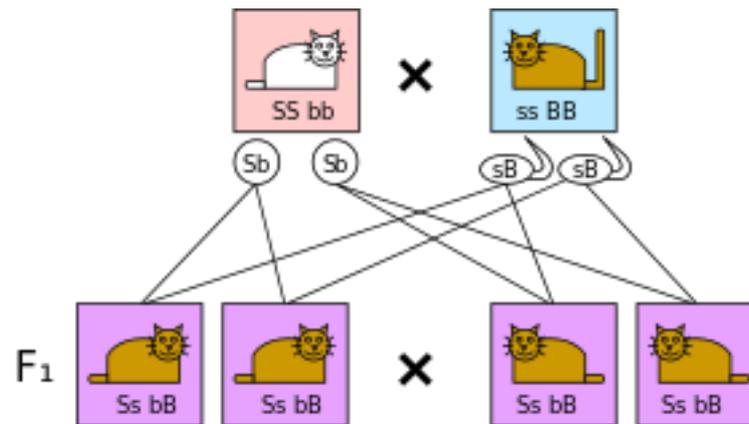


隱性、顯性

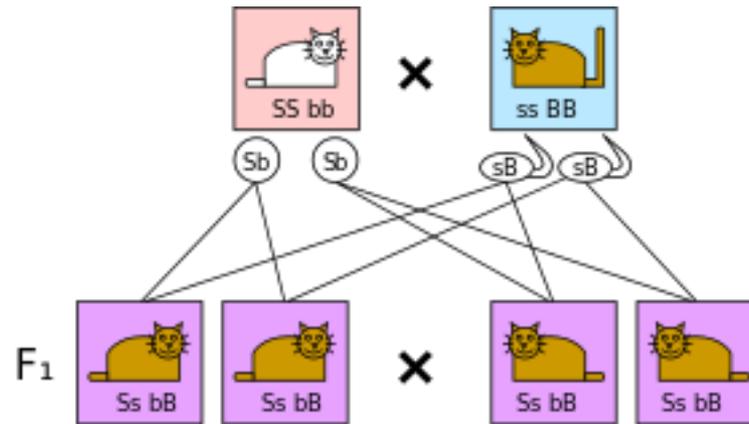


這些課本上的定律到底有什麼用啊
？

這些課本上的定律到底有什麼用啊？

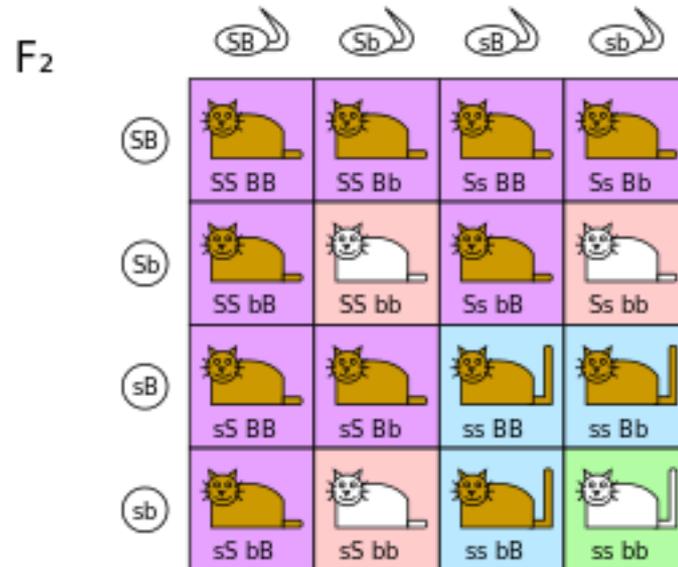


這些課本上的定律到底有什麼用啊？



分離律

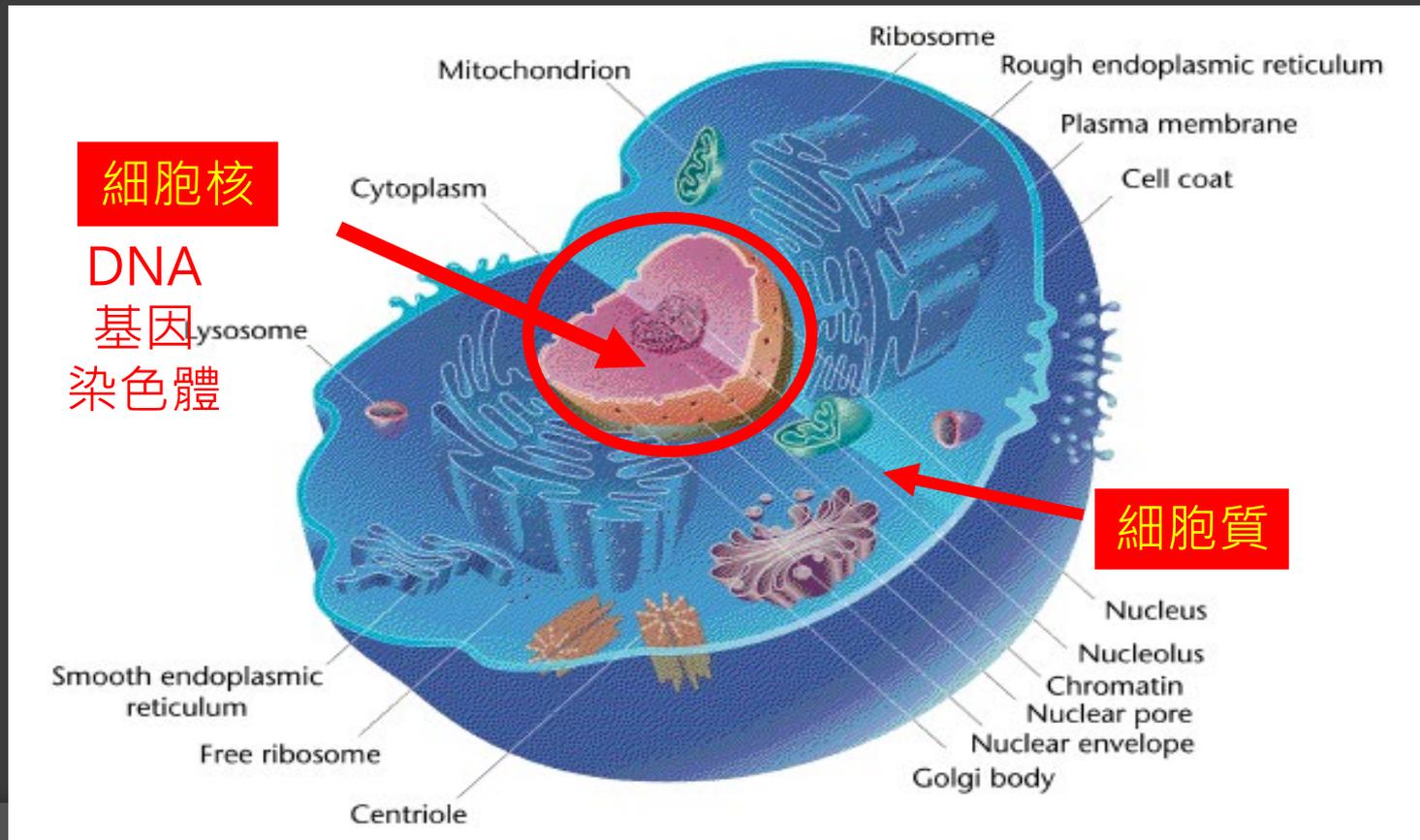
顯性法則



獨立分配律

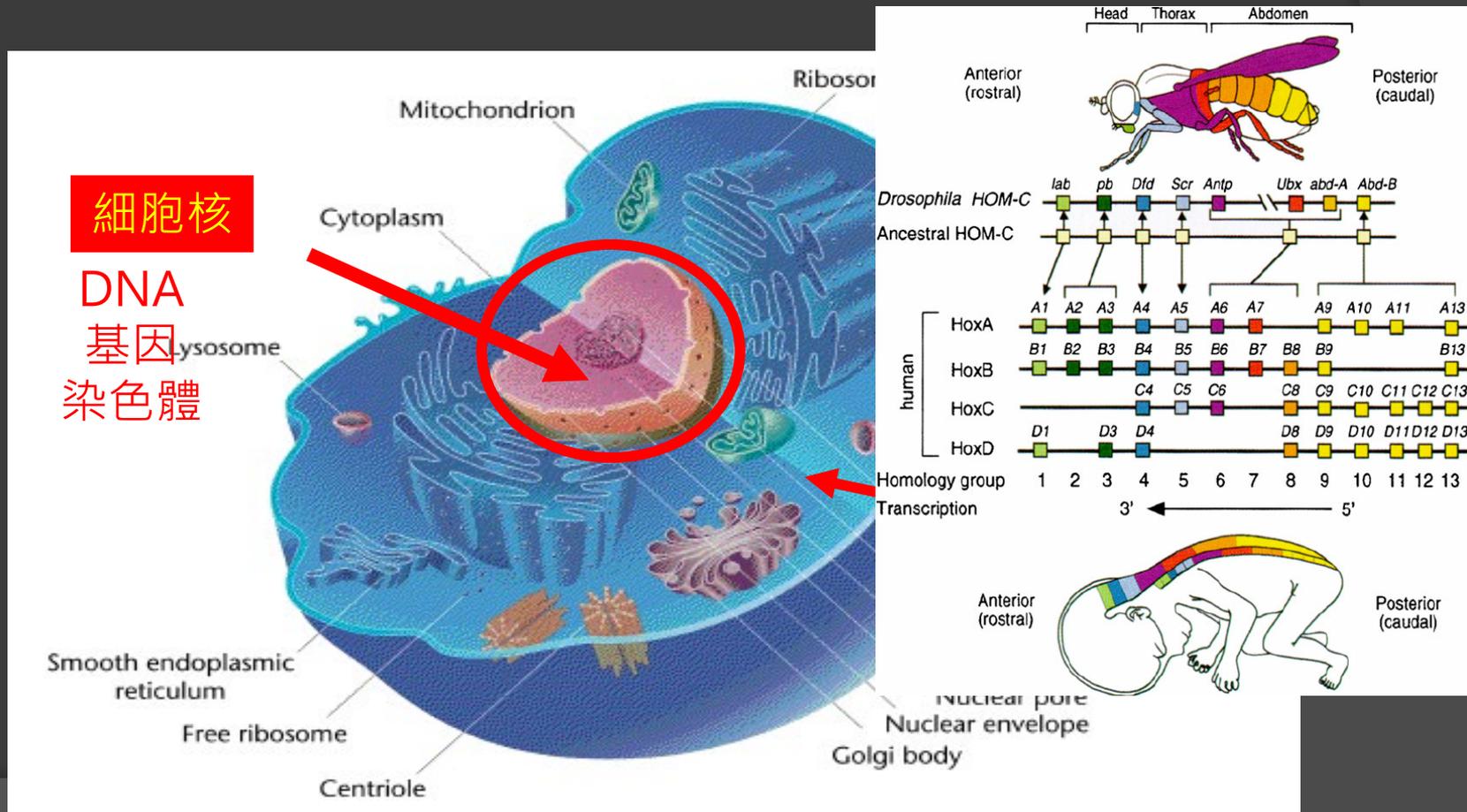
為什麼酵母菌會被選為實驗模式生物呢？

- ◎ (3) 在酵母菌發現的機制與基因，在哺乳類也有高度同源以及功能相似的機制與基因。



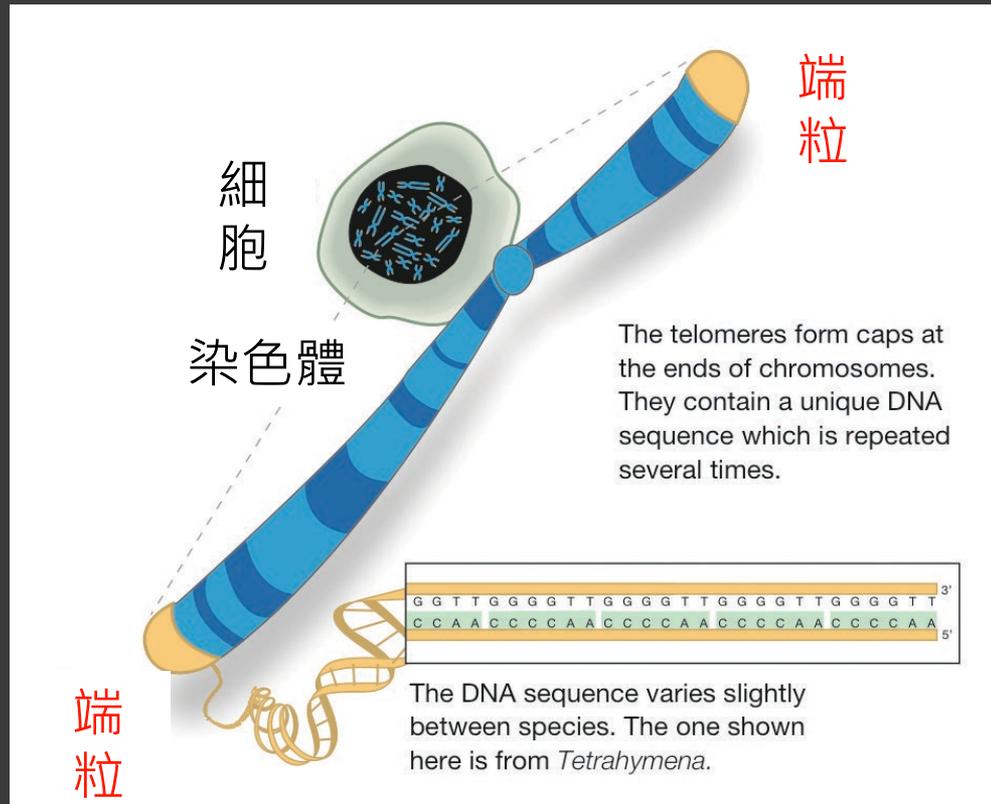
為什麼酵母菌會被選為實驗模式生物呢？

- ◎ (3) 在酵母菌發現的機制與基因，在哺乳類也有高度同源以及功能相似的機制與基因。



由酵母菌研究中獲得的重要發現(1)

- ◎ 染色體端粒 - 端粒是保護染色體末端完整的DNA重複序列，有穩定染色體的功能。



由酵母菌研究中獲得的重要發現(1)

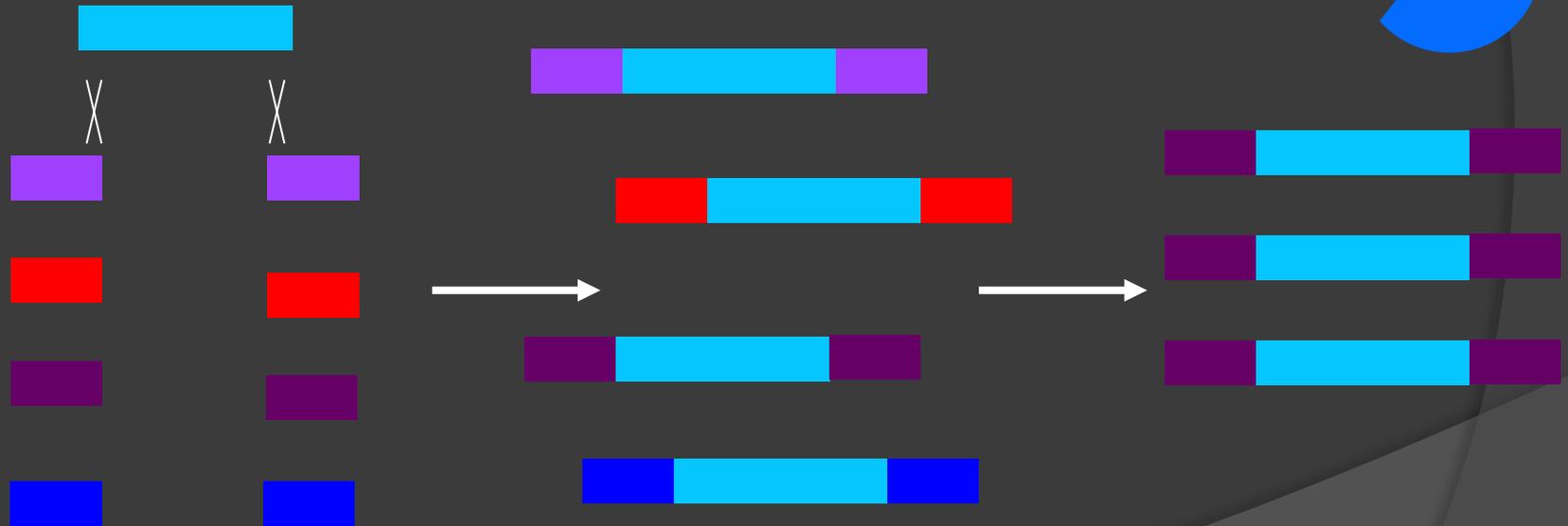
- ◎ 染色體端粒 - 染色體末端在DNA複製時會留下一段缺口，需要端粒酶的幫助才能補齊。

由酵母菌研究中獲得的重要發現(1)

- ◎ 染色體端粒 - 端粒是保護染色體末端完整的DNA重複序列，有穩定染色體的功能。

許多很重要的實驗設計都很簡單！

抗藥基因



來自細胞的任意DNA片段

穩定的迷你染色體



由酵母菌研究中獲得的重要發現(1)

- ◎ 染色體端粒 - 端粒是保護染色體末端完整的DNA重複序列，有穩定染色體的功能。

- 端粒功能的缺失會促使老化，而許多癌細胞都具有過度活化的端粒酶。

- Szostak 因這個發現而獲得2009年諾貝爾生理醫學獎。

早知道就該去研究酵母菌的!



Jack W. Szostak



由酵母菌研究中獲得的重要發現(1)

- ◎ 染色體端粒 - 端粒是保護染色體末端完整的DNA重複序列，有穩定染色體的功能。

- 端粒功能的缺失會促使老化，而許多癌細胞都具有過度活化的端粒酶。

- Szostak 因這個發現而獲得2009年諾貝爾生理醫學獎。

早知道就該去研究酵母菌的!

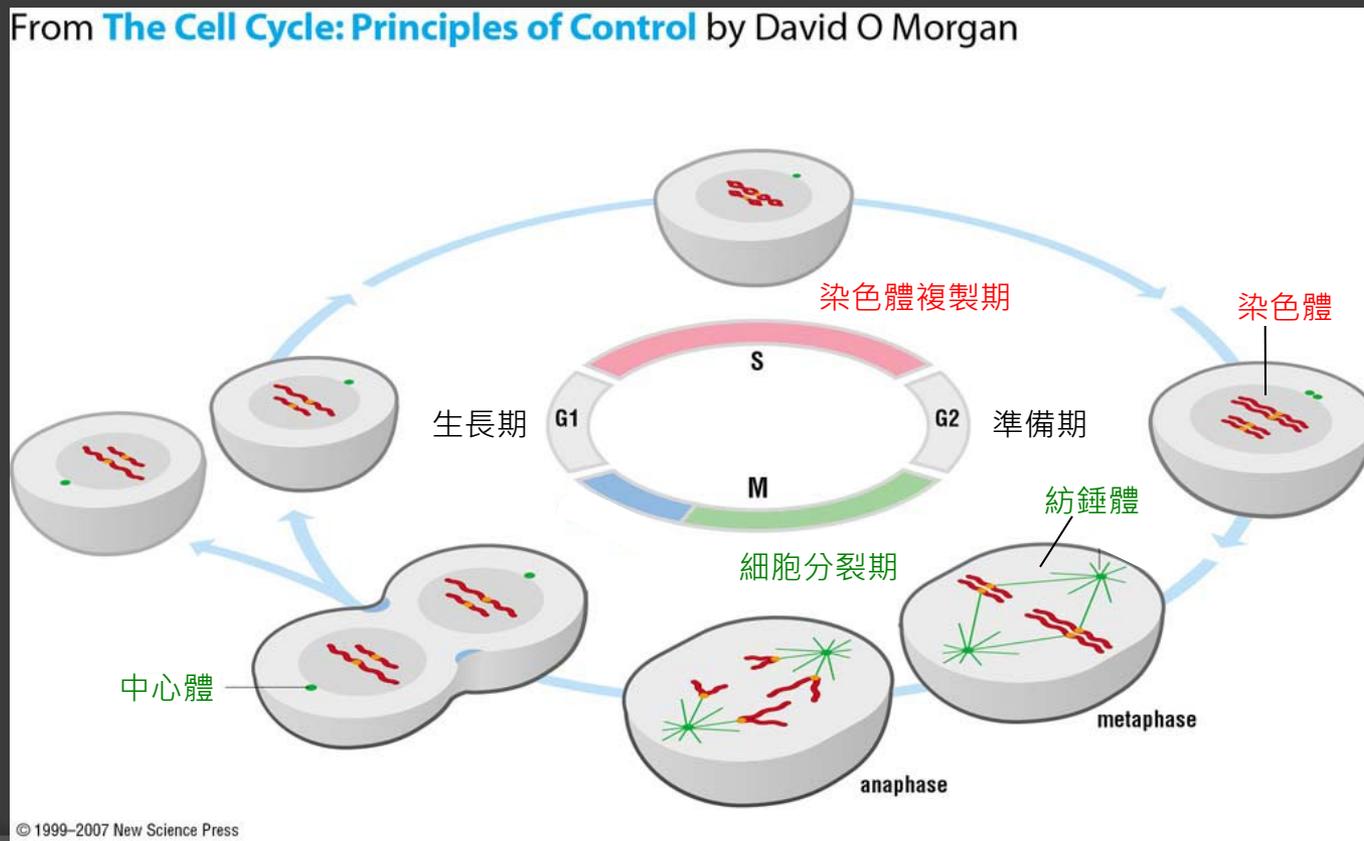


Jack W. Szostak



由酵母菌研究中獲得的重要發現(2)

- ◎ 細胞週期 - 不同細胞週期會有顯著不同的細胞型態，整個過程受到嚴格的調控。

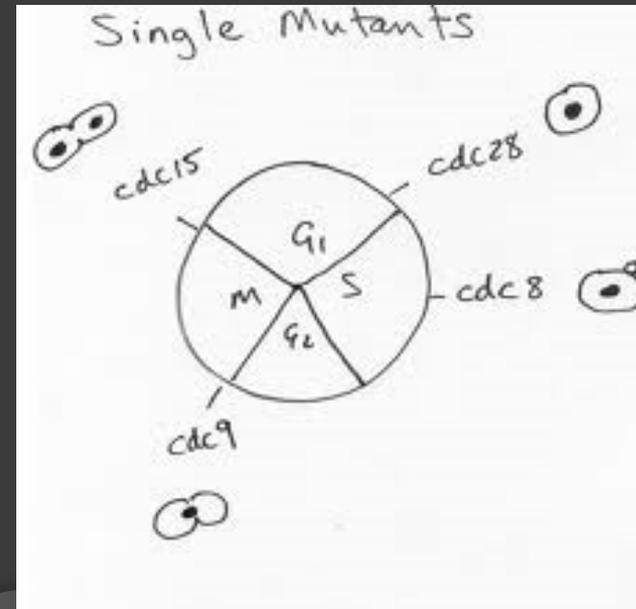
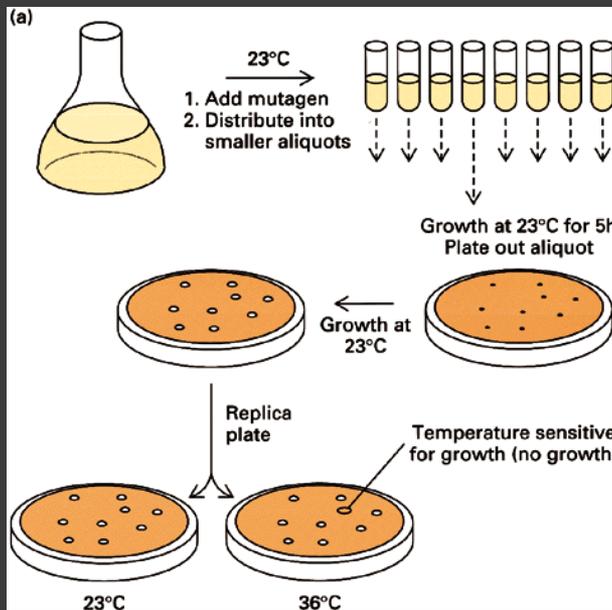


由酵母菌研究中獲得的重要發現(2)

- ◎ **細胞週期** - 不同細胞週期會有顯著不同的細胞型態，整個過程受到嚴格的調控。

這麼簡單啊？

- Leland H. Hartwell 的細胞週期實驗

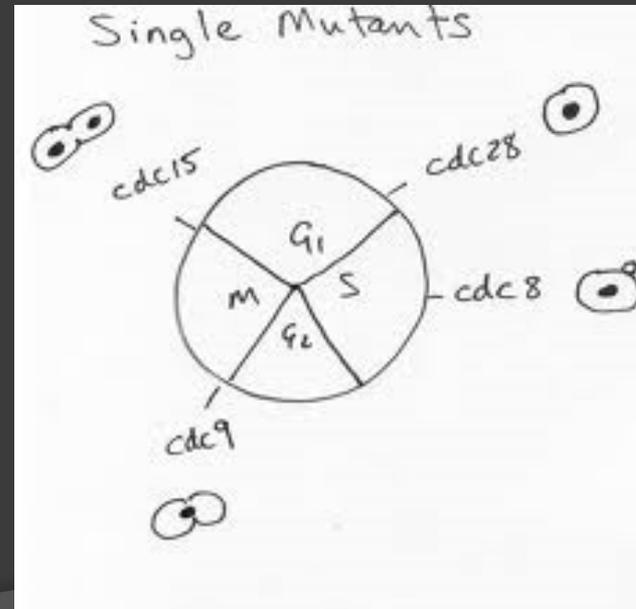
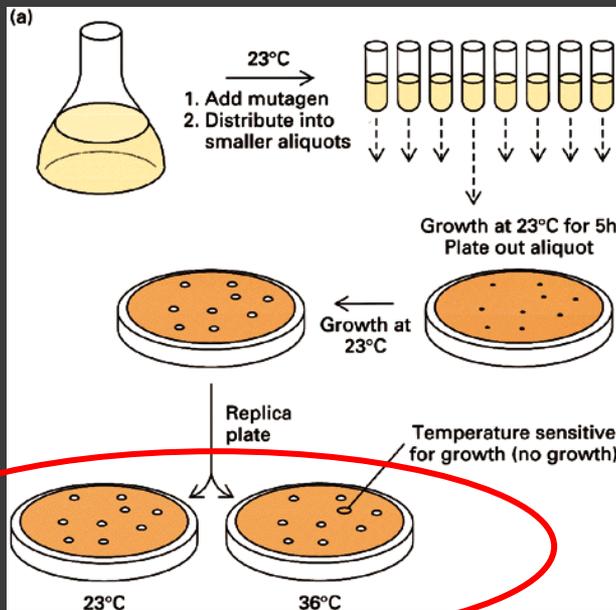


由酵母菌研究中獲得的重要發現(2)

- ◎ **細胞週期** - 不同細胞週期會有顯著不同的細胞型態，整個過程受到嚴格的調控。

這麼簡單啊？

- Leland H. Hartwell 的細胞週期實驗

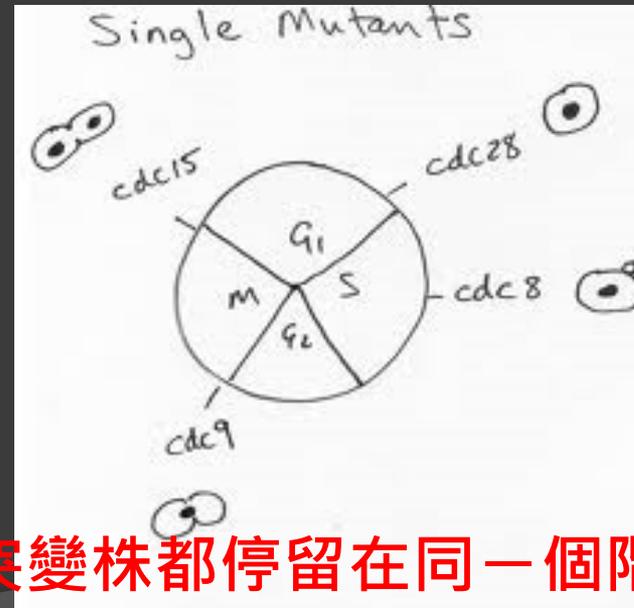
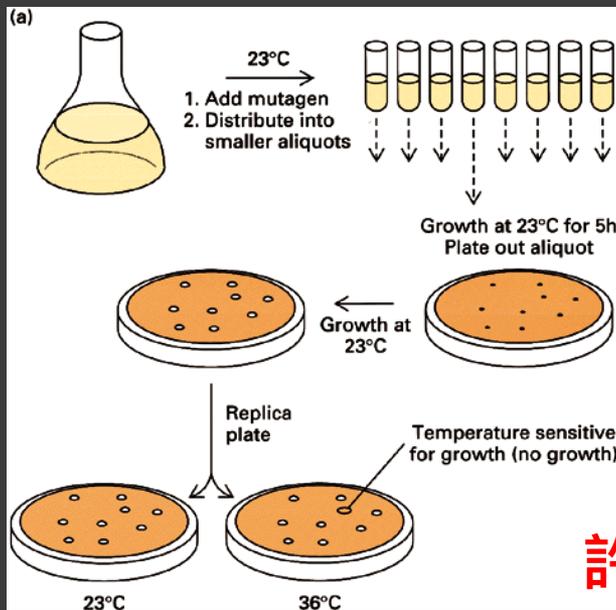


由酵母菌研究中獲得的重要發現(2)

- ◎ **細胞週期** - 不同細胞週期會有顯著不同的細胞型態，整個過程受到嚴格的調控。

這麼簡單啊？

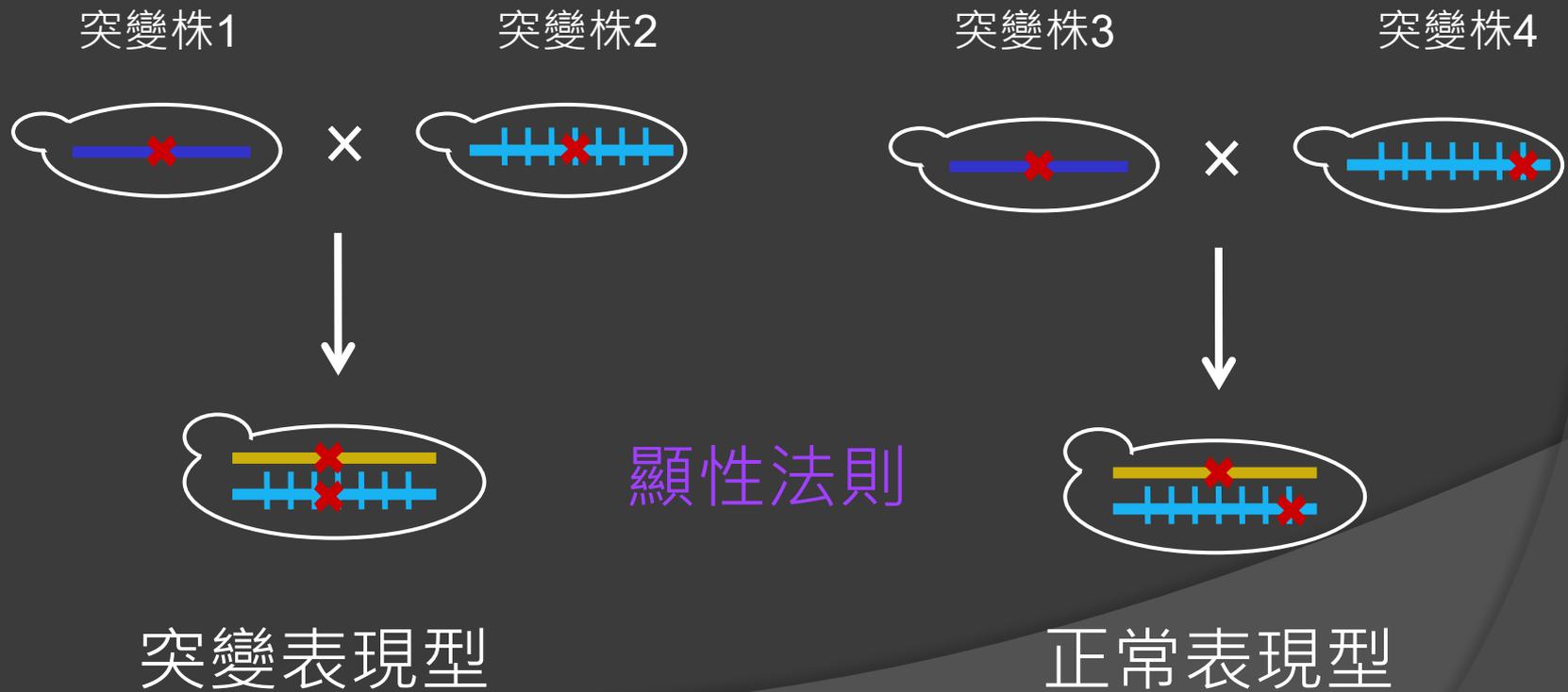
- Leland H. Hartwell 的細胞週期實驗



許多突變株都停留在同一個階段，到底突變是不是發生在同個基因？

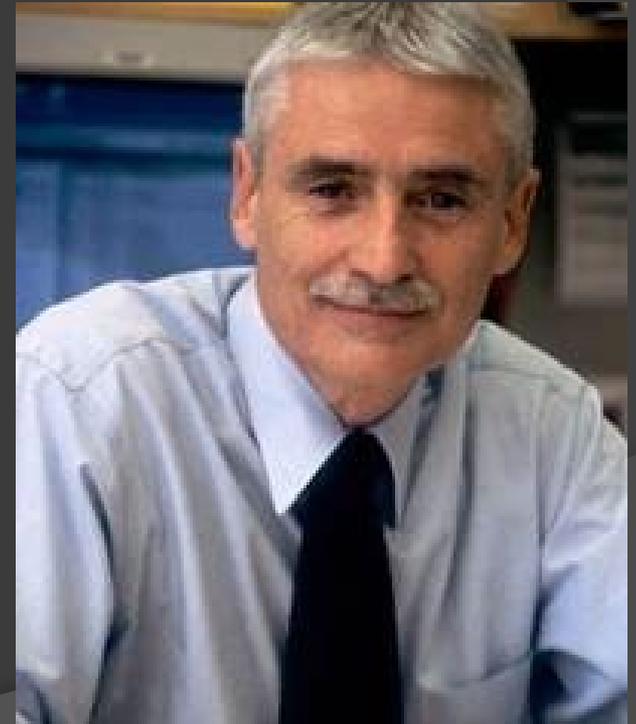
由酵母菌研究中獲得的重要發現(2)

許多突變株都停留在同一個階段，到底突變是不是發生在同個基因？



由酵母菌研究中獲得的重要發現(2)

- ◎ **細胞週期** - 在細胞複製、分裂的過程，若有缺陷，細胞週期就會停下來，直到要求被滿足才繼續進行至下一階段。
 - 在人類體內，若細胞週期調控出現缺失，會病變成癌細胞。
 - Hartwell 因這個發現而獲得2001年諾貝爾生理醫學獎。



Leland H. Hartwell

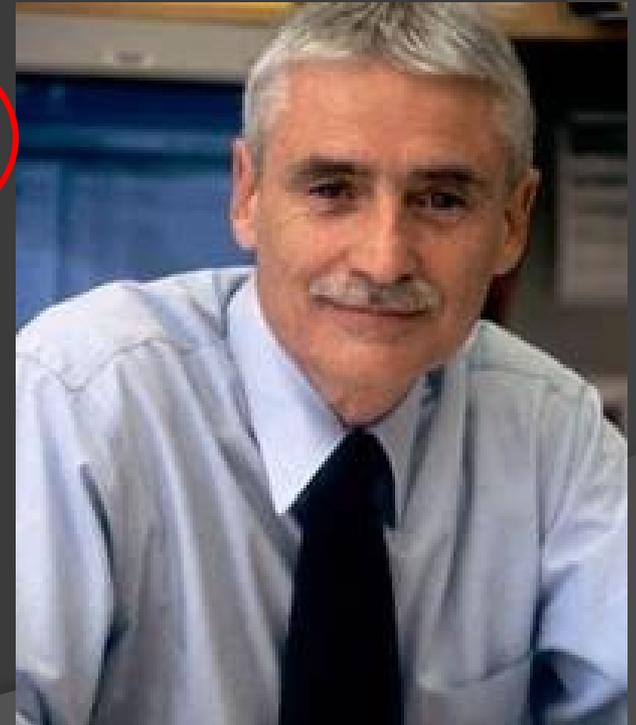
由酵母菌研究中獲得的重要發現(2)

- ◎ **細胞週期** - 在細胞複製、分裂的過程，若有缺陷，細胞週期就會停下來，直到要求被滿足才繼續進行至下一階段。

- 在人類體內，若細胞週期調控出現缺失，會病變成癌細胞。

什麼！酵母菌也會跟癌症有關！

- Hartwell 因這個發現而獲得 2001年諾貝爾生理醫學獎。



Leland H. Hartwell

還有更多精彩的呢！

我的志願...

- ◎ 我想要作和疾病相關的研究，因為它與人類的健康息息相關...
- ◎ 我想要進醫學系，以後才能救人...
- ◎ 我想作一些對人類有貢獻的研究...

其實並不
一定是如
此!



由酵母菌研究中獲得的重要發現(3)

- ◎ 減數分裂的分子機制
- ◎ DNA修補
- ◎ 粒線體的維持與構造
- ◎ 細胞自體吞噬機制
- ◎ ...

再也不敢
小看酵母
菌了!

早就跟
你說了!



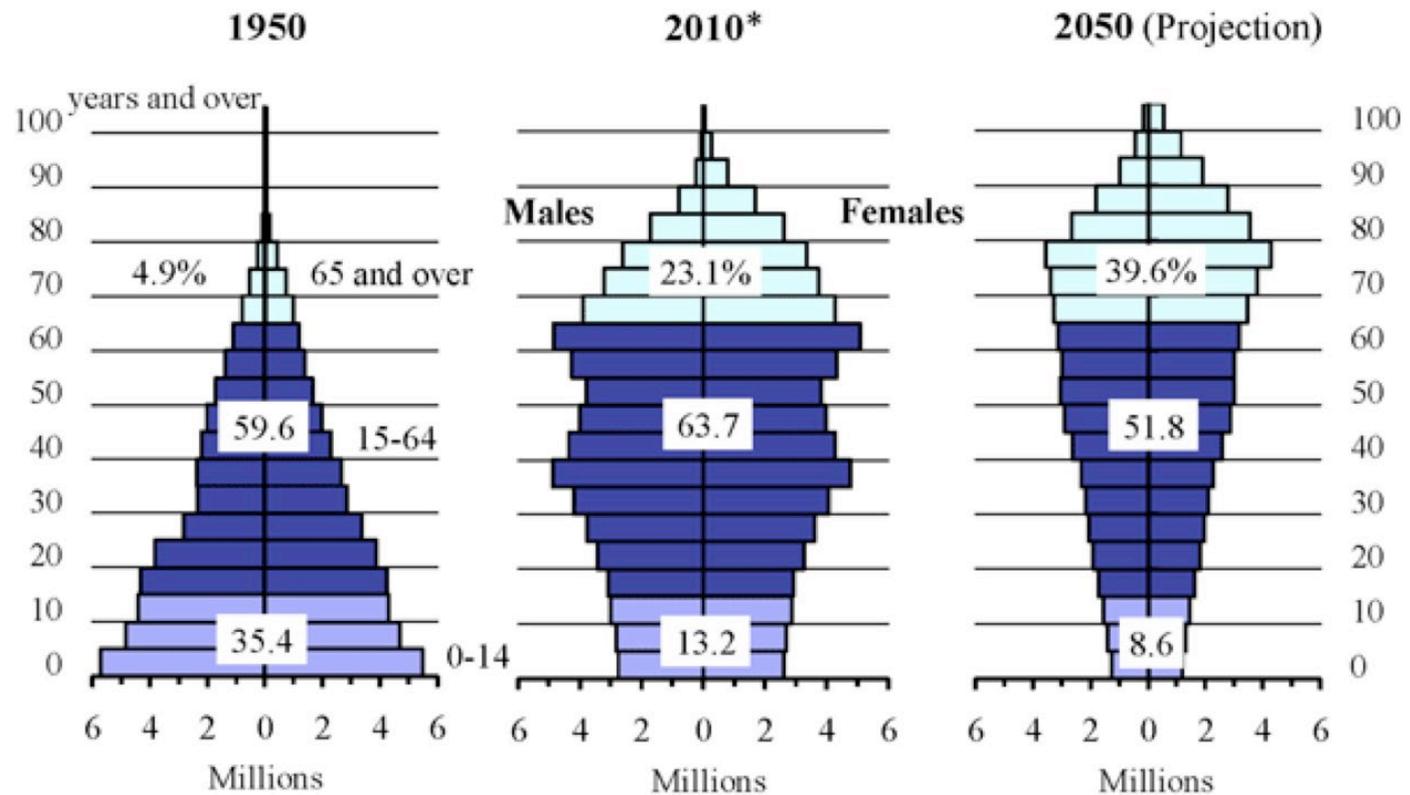
你可能不知道的事實...

過去十幾年，已經有這麼多研究酵母菌的生物學家得到諾貝爾獎了...

- ◎2016年生理學或醫學獎：Yoshinori Ohsumi
- ◎2013年生理學或醫學獎：Randy Schekman
- ◎2009年生理學或醫學獎：Jack Szostak
- ◎2006年化學獎：Roger Kornberg

目前還有什麼有趣的問題呢？

◎ 細胞老化的研究。



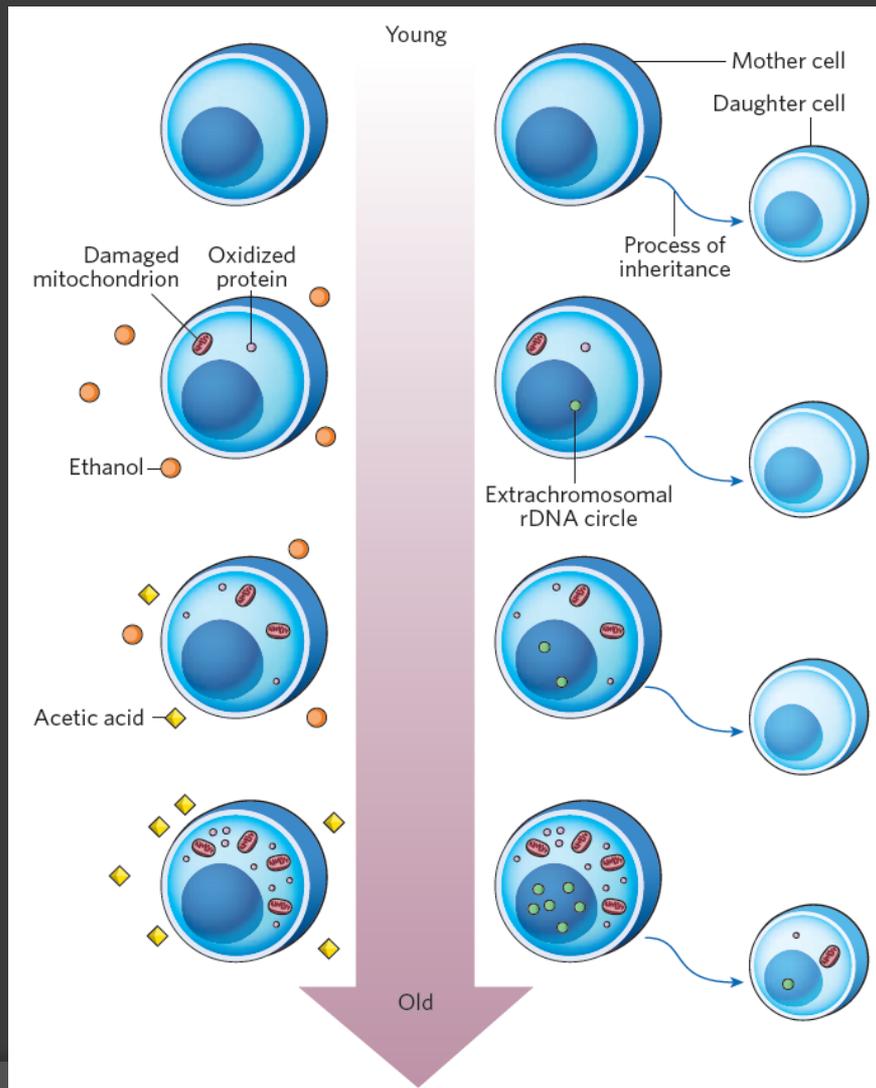
Source: Statistics Bureau, MIC; Ministry of Health, Labour and Welfare.

目前還有什麼有趣的問題呢？

◎ 細胞老化的研究。

Chronological aging:

- How long a cell can stay alive in a non-dividing, quiescence-like state.
- Neuron cells.
- The target of rapamycin (TOR) pathway

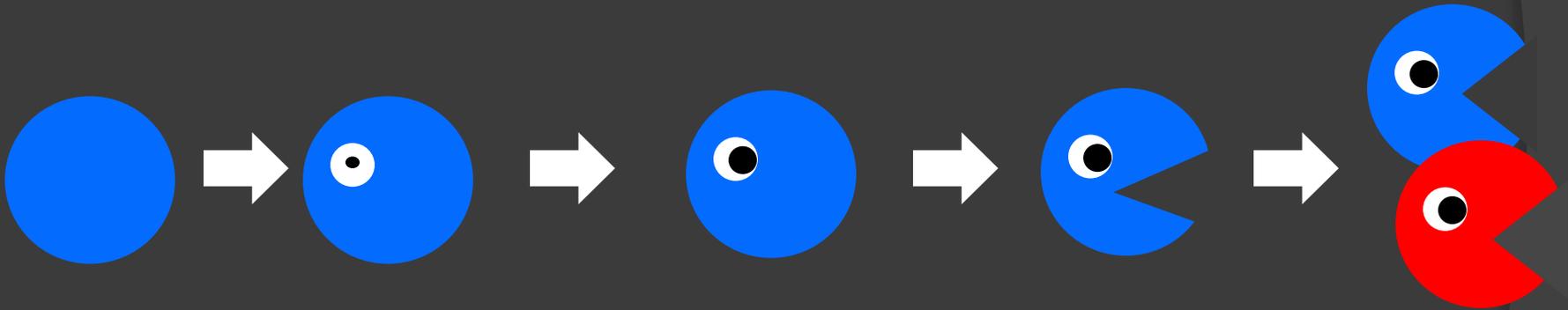


Replicative aging:

- How many times a mother cell can divide before senescence.
- Stem cells.
- Sirtuins

目前還有什麼有趣的問題呢？

- ◎ 實驗演化的研究。

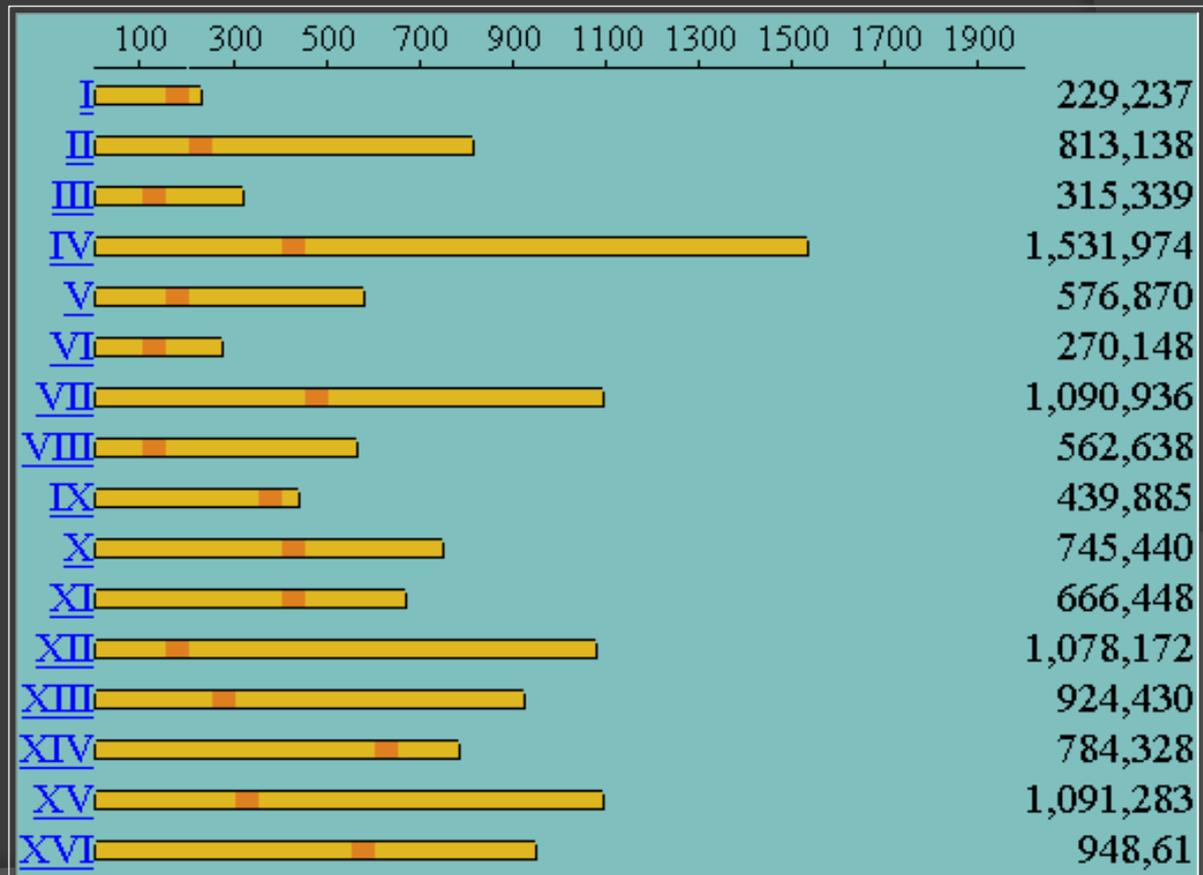


為什麼酵母菌會被選為實驗模式生物呢？

- ◎ (4) 具備簡單的基因體，是目前基因體分析最透徹的模式生物。 *Saccharomyces cerevisiae* complete genome

- 16條染色體。

- 1996年完成基因體定序，是首度完成的真核生物。



為什麼酵母菌會被選為實驗模式生物呢？

◎ (4) 具備簡單的基因體，是目前基因體分析最透徹的模式生物。

- 16條染色體。

- 基因體尺寸 = 1.2×10^7 bp

人類 = 3.3×10^9 bp (270X)

果蠅 = 1.8×10^8 bp (15X)

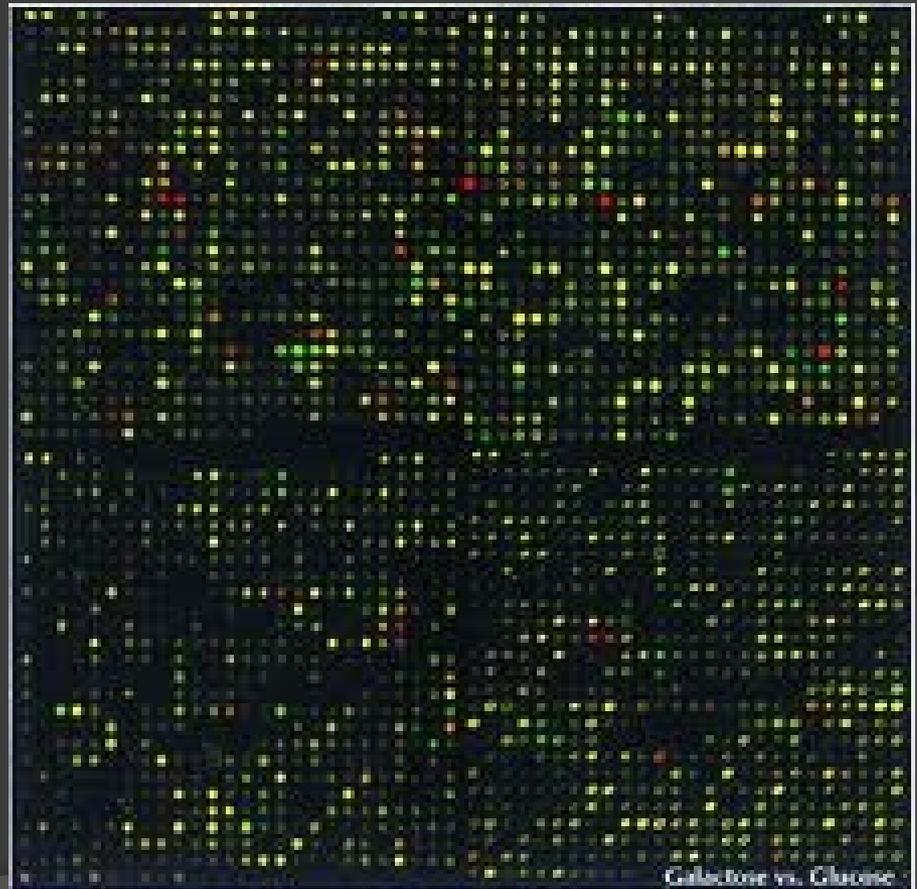
大腸桿菌 = 4.6×10^6 bp (0.3X)

- 6607個基因。

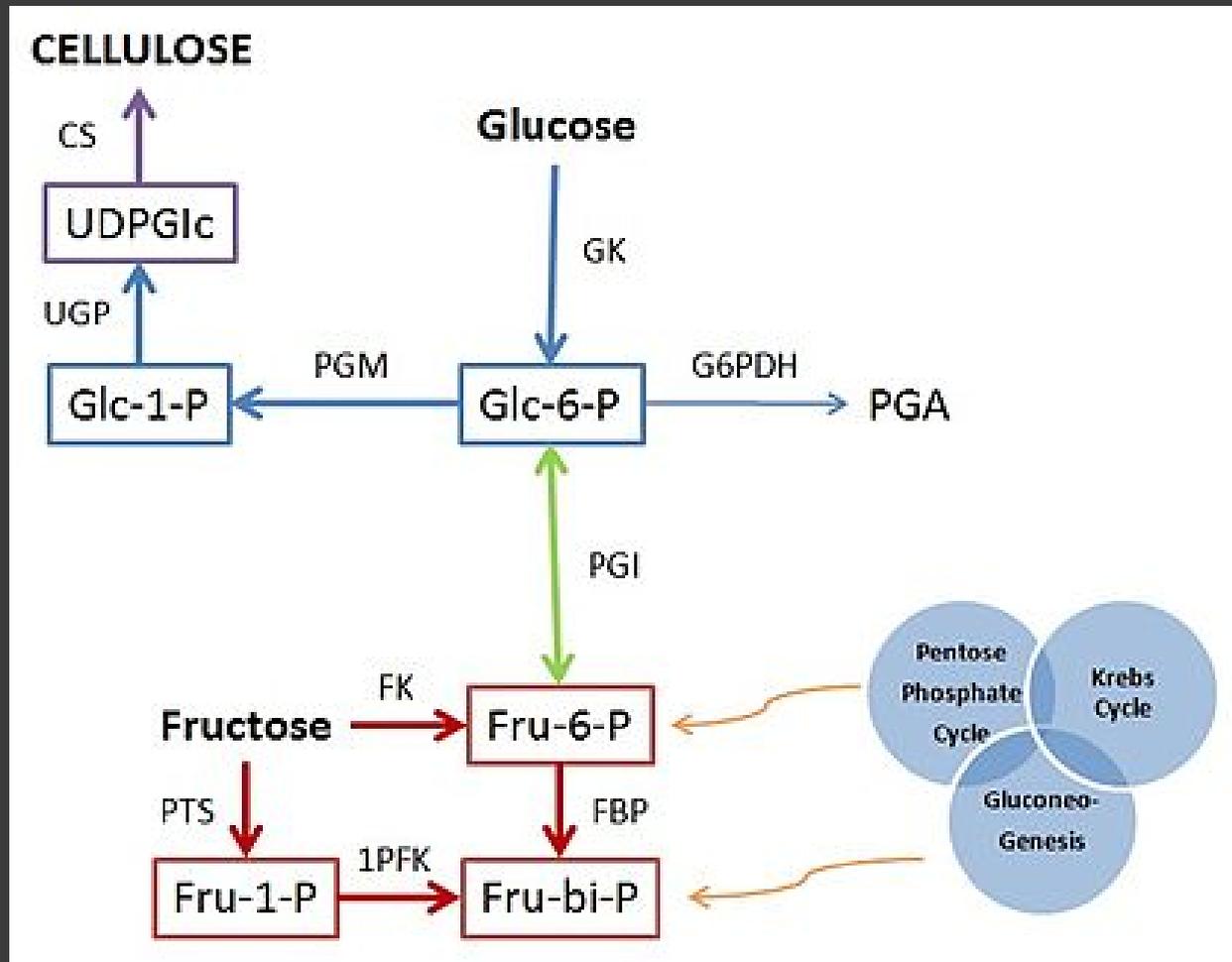
為什麼酵母菌會被選為實驗模式生物呢？

- ◎ (4) 具備簡單的基因體，是目前基因體分析最透徹的模式生物。

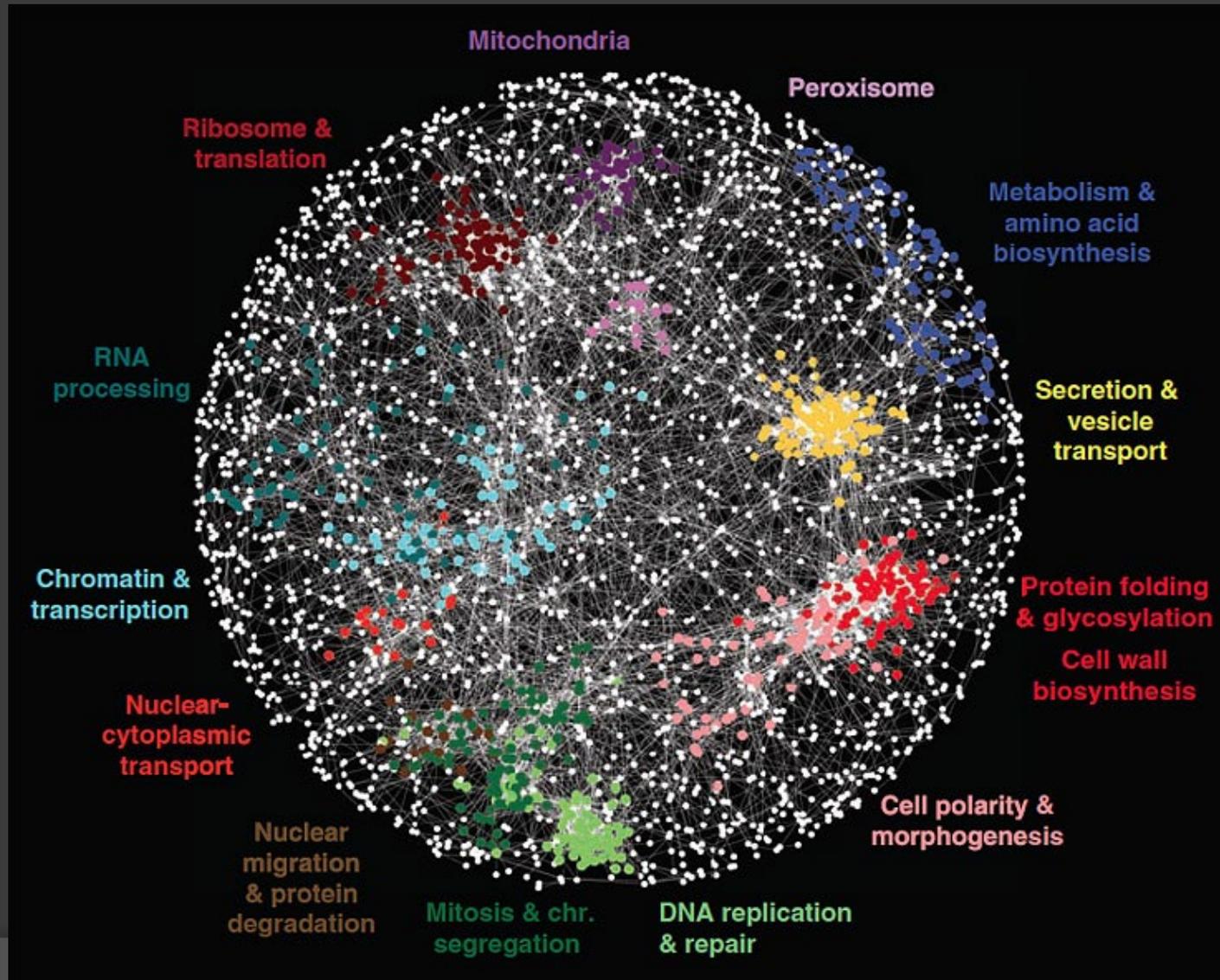
- 因為基因體定序完成，所以可以設計生物晶片或次世代定序，作全基因體的分析。



酵母菌的基因體分析，開啓了一個全新的生物學領域



酵母菌的基因體分析，開啓了一個全新的生物學領域

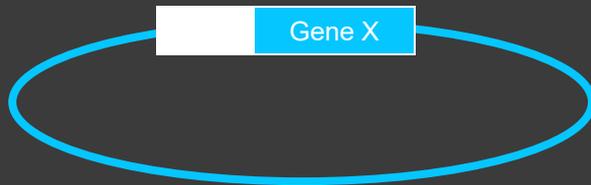


酵母菌是一個很好的實驗模式生物

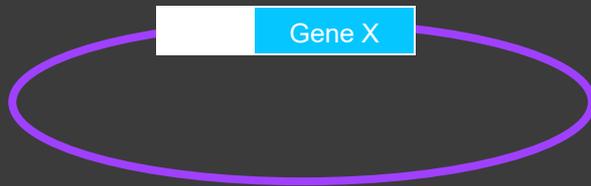
- ◎ (1) 單細胞真核微生物，容易培養，體積小且生長快速。
- ◎ (2) 具備單倍體與雙倍體，有性生殖和無性生殖的生命週期。可以研究較複雜的問題。
- ◎ (3) 在酵母菌發現的機制與基因，在哺乳類也有高度同源以及功能相似的機制與基因。
- ◎ (4) 具備簡單的基因體，是目前基因體分析最透徹的模式生物。

除此之外，酵母菌也是一個重要的 生物科技工程平台

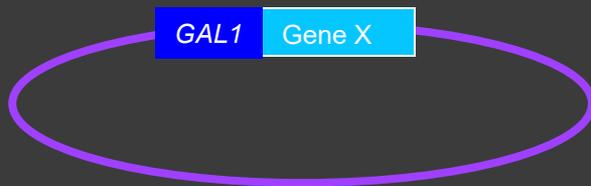
可以表現不同量的外來基因改造：



CEN plasmid: ~ 1X



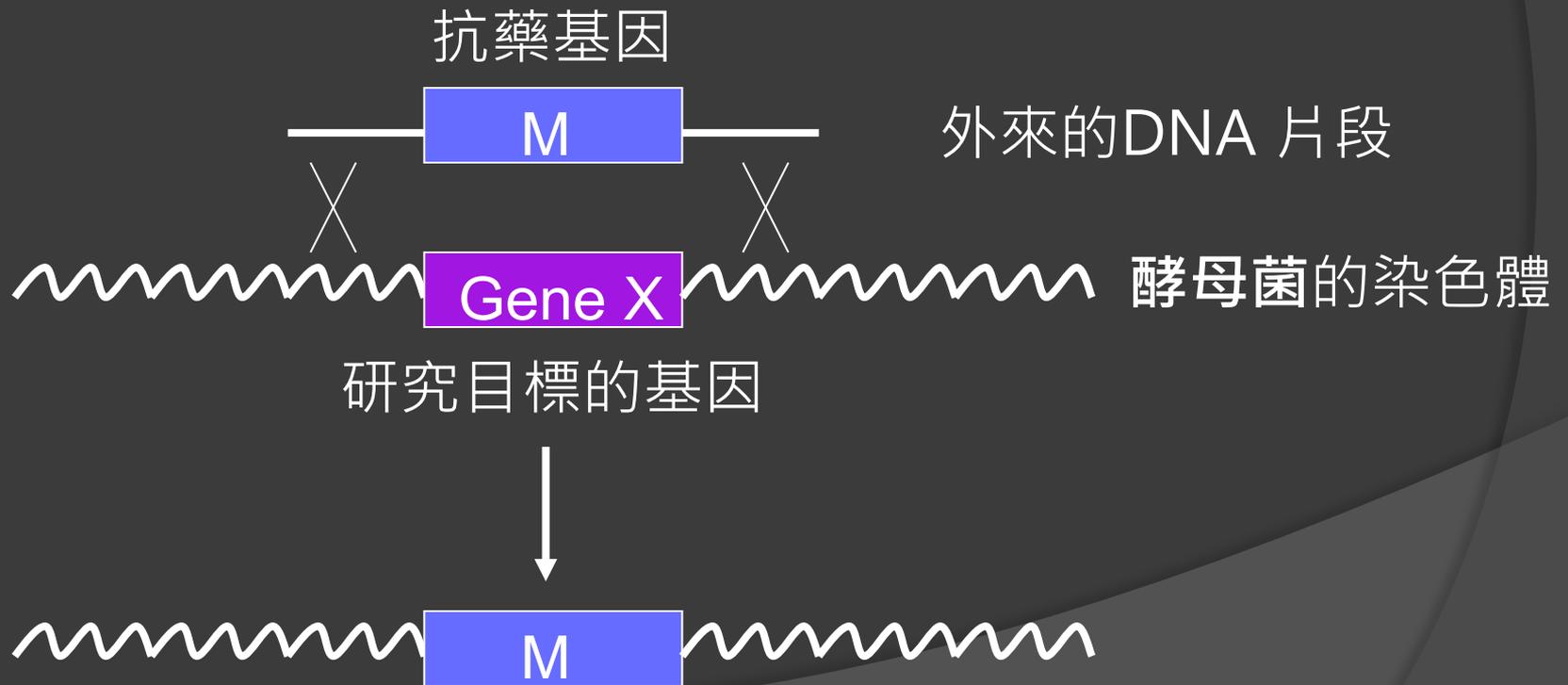
2- μ m plasmid: ~
60X



2- μ m plasmid w/
GAL1 promoter: ~ 400X

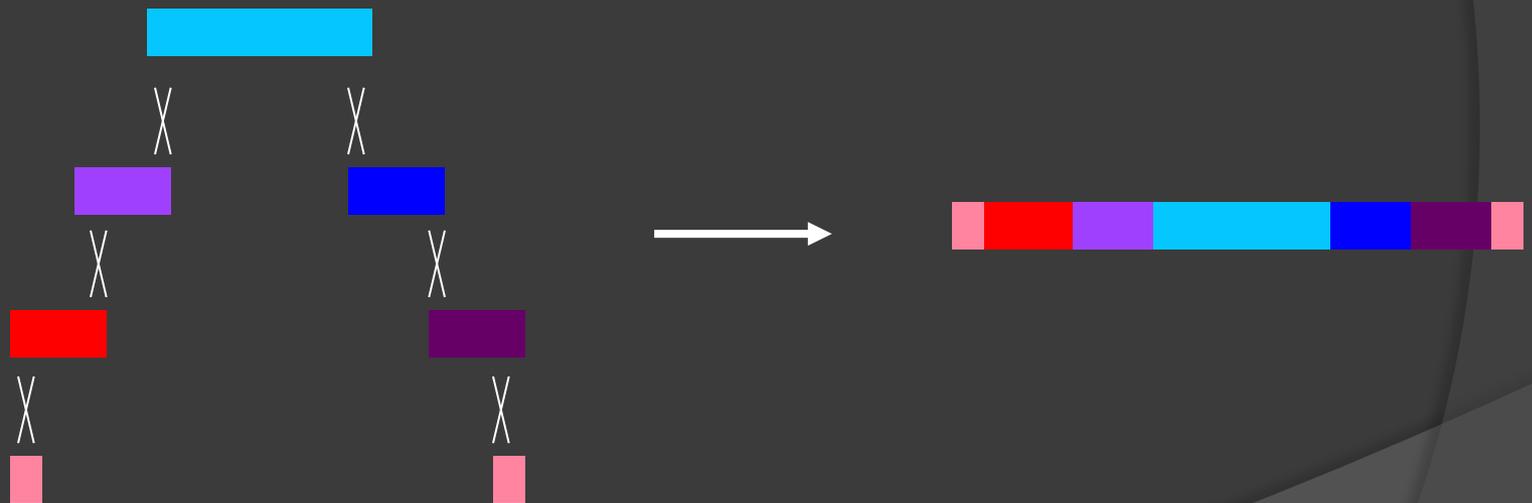
酵母菌有高效率的同源DNA重組能力

可用來作基因剔除:



酵母菌可以用來建造和複製外來的人造染色體

可以同時表現幾百個外來的基因：



利用酵母菌創造生質能源的平台

LETTER

2014

doi:10.1038/nature12771

Efficient ethanol production from brown macroalgae sugars by a synthetic yeast platform

Maria Enquist-Newman^{1*}, Ann Marie E. Faust^{1*}, Daniel D. Bravo^{1*}, Christine Nicole S. Santos^{1†}, Ryan M. Raisner¹, Arthur Hanel¹, Preethi Sarvabhowman¹, Chi Le¹, Drew D. Regitsky^{1†}, Susan R. Cooper¹, Lars Peereboom², Alana Clark¹, Yessica Martinez¹, Joshua Goldsmith¹, Min Y. Cho¹, Paul D. Donohoue¹, Lily Luo¹, Brigit Lamberson¹, Pramila Tamrakar¹, Edward J. Kim¹, Jeffrey L. Villari¹, Avinash Gill^{1†}, Shital A. Tripathi^{1†}, Padma Karamchedu¹, Carlos J. Paredes¹, Vineet Rajgarhia^{1†}, Hans Kristian Kotlar³, Richard B. Bailey¹, Dennis J. Miller², Nicholas L. Ohler¹, Candace Swimmer¹ & Yasuo Yoshikuni^{1,4,5}



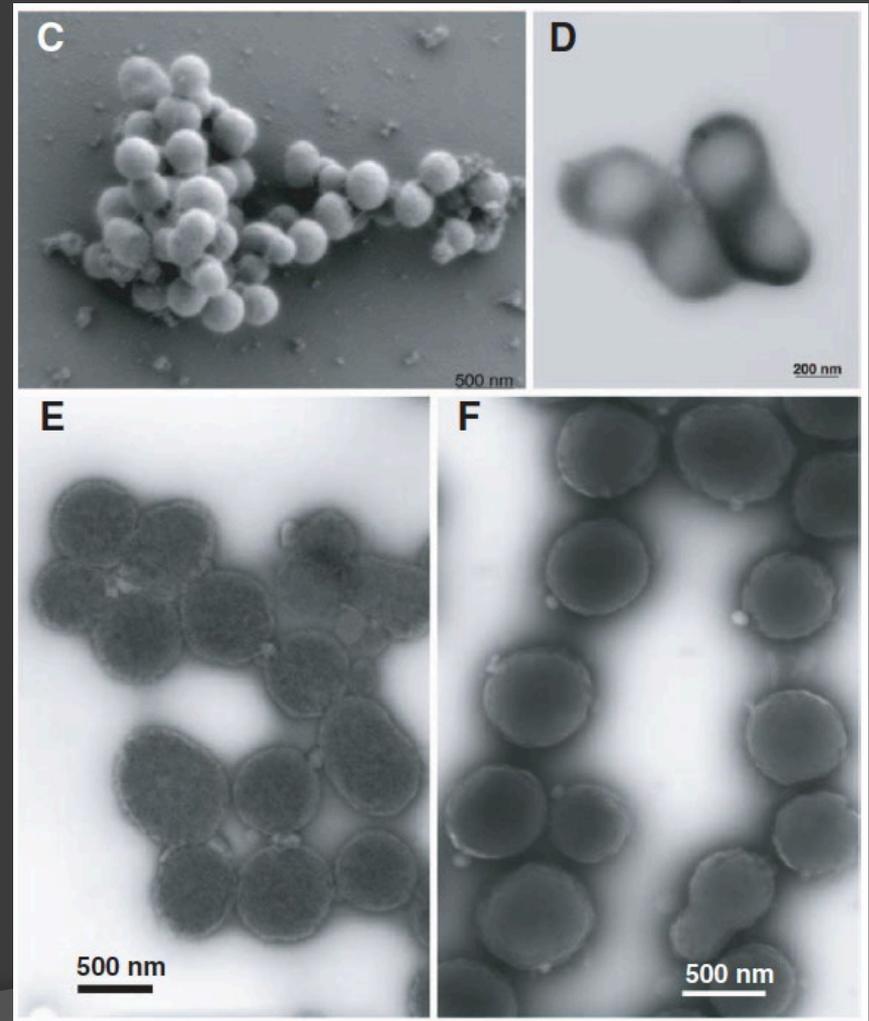
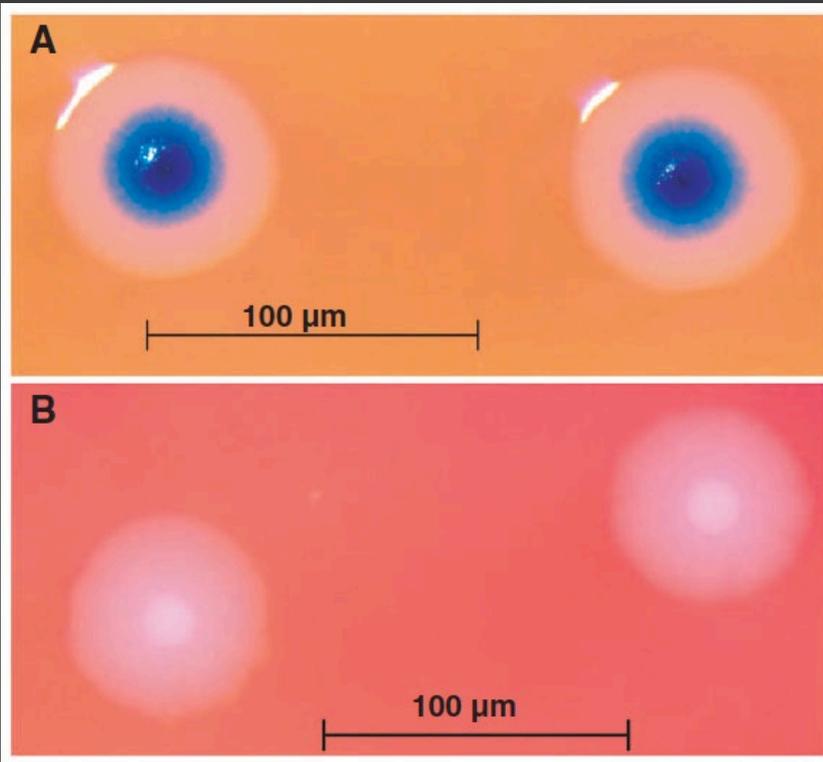
褐藻

79

Creation of a Bacterial Cell Controlled by a Chemically Synthesized Genome

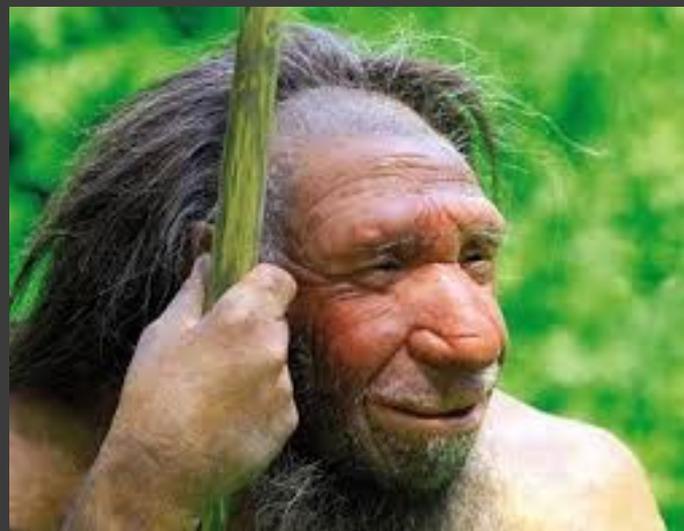
Daniel G. Gibson,¹ John I. Glass,¹ Carole Lartigue,¹ Vladimir N. Noskov,¹ Ray-Yuan Chuang,¹ Mikkel A. Algire,¹ Gwynedd A. Benders,² Michael G. Montague,¹ Li Ma,¹ Monzia M. Moodie,¹ Chuck Merryman,¹ Sanjay Vashee,¹ Radha Krishnakumar,¹ Nacyra Assad-Garcia,¹ Cynthia Andrews-Pfannkoch,¹ Evgeniya A. Denisova,¹ Lei Young,¹ Zhi-Qing Qi,¹ Thomas H. Segall-Shapiro,¹ Christopher H. Calvey,¹ Prashanth P. Parmar,¹ Clyde A. Hutchison III,² Hamilton O. Smith,² J. Craig Venter^{1,2*}

Craig Venter 的人造 細菌 (2 0 1 0) !





長毛象



尼安德塔人





如果你感興趣
想了解更多話...

呂俊毅 研究員

02-2789-9216

JLEU@IMB.SINICA.EDU.TW

