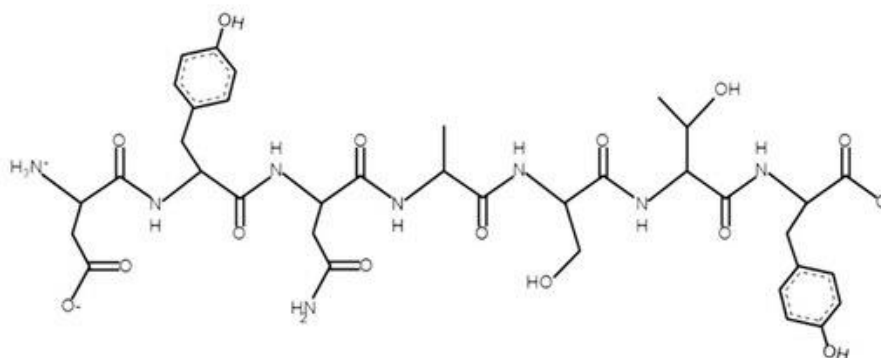




Династия
Фонд Дмитрия Зимина

Школа молекулярной и теоретической биологии 2015

School of Molecular and Theoretical Biology



HHMI
HOWARD HUGHES MEDICAL INSTITUTE



<http://bioschool.dynastyfdn.com/>



Исполнительный директор:
Анна Пиотровская
Executive director:
Anna Piotrovskaya

Директор:
Дмитрий Кокорин
Director:
Dmitry Kokorin



Научный директор:
Фёдор Кондрашов
Academic director:
Fyodor Kondrashov

Менеджер проектов:
Виктор Толдов
Project manager:
Victor Toldov



Заместитель директора:
Мария Гаврюшина
Deputy director:
Maria Gavryushina

ПРОЕКТЫ / PROJECTS

Лаборатория генетики дрожжей, феромонов и видообразования / *Гийом Фильон*
Laboratory of yeast genetics, pheromones and speciation / *Guillaume Fillion*

Лаборатория бактериальной геномики / *Михаил Гельфанд & Ко*
Laboratory of bacterial and structural genomics / *Mikhail Gelfand & Co.*

Проект 1: Как живут бактерии в нашем кишечнике / *Семен Лейн*
Project 1: What synthesize and what consume bacteria living in our guts / *Semen Leyn*

Проект 2: Сахарное Лего – II / *Анна Казнадзей и Мария Тутукина*
Project 2: Sugar Lego – II / *Anna Kaznadzey and Maria Tutukina*

Проект 3: Сладкие регуляторы / *Юрий Коростелев*
Project 3: Lucky LacI regulators / *Yury Korostelev*

Проект 4: Структура РНК / *Зоя Червонцева*
Project 4: RNA structure / *Zoe Chervontseva*

Проект 5: Четыре гуанина апокалипсиса / *Артур Залевский и Софья Гарушянц*
Project 5: Four guanines of Apocalypse / *Artur Zalevsky and Sofya Garushyants*

Проект 6: Пространственная структура ДНК / *Александра Галицына*
Project 6: 3D structure of DNA / *Alexandra Galitsyna*

Лаборатория физики белка / *Дмитрий Иванков*
Laboratory of protein physics / *Dmitry Ivankov*

Лаборатория апоптоза / *Гелина Копеина*
Laboratory of apoptosis / *Gelina Kopeina*

Лаборатория анализа омиксных данных / *Иван Кулаковский*
Laboratory of omics data analysis / *Ivan Kulakovskiy*

Лаборатория количественной биологии / *Михаил Пантелеев*
Laboratory of Quantitative Biology / *Mikhail Panteleev*

Лаборатория онкологии / *Андрей Пархитко*
Laboratory of oncology / *Andrey Parhitko*

Лаборатория плазмид / *Пётр Свобода*
Laboratory of plasmids / *Petr Svoboda*

Лаборатория рационального дизайна лекарственных препаратов / *Пётр Власов*
Laboratory of Rational Drug Design / *Peter Vlasov*

Лаборатория транспозонов / *Хосе Луис Гарсиа Перес*
Laboratory of transposons / *Jose Luis Garcia Perez*

Лаборатория фитогормонов / *Дорошков Алексей*
Laboratory of phytohormones / *Doroshkov Aleksey*

Лаборатория генетики дрожжей, феромонов и видообразования

Руководитель: Гийом Фильон

Laboratory of yeast genetics, pheromones and speciation

Head of laboratory: Guillaume Filion



Целью нашего экспериментального проекта будет проверка того, важны ли феромоны дрожжей в их видообразовании. Дрожжи не имеют пола – мужского и женского – в привычном нам понимании, но у них есть так называемые «типы спаривания», “alpha” и “a”. Дрожжи “alpha” продуцирует феромон, называемый alpha-пептидом, который привлекает дрожжей “a”. Контакт дрожжей упомянутых типов приводит к их слиянию и формированию диплоидного гибрида. Но пока неизвестно, эффективны ли («привлекательны») феромоны между разными видами дрожжей. Чтобы проверить это, мы с помощью генетических манипуляций в конкретном виде дрожжей - *Saccyharomyces cerevisiae* - заменим alpha-пептид на аналогичный из другого вида, и пронаблюдаем, остаются ли такие гибридные дрожжи привлекательны для дрожжей «своего» “a”-типа. Это позволит нам разобраться в какой мере видообразование, в случае дрожжей, определялось эволюцией конкретно феромонов. – или предопределялось образованием гибридов из далёких особей.

The aim of this practical course is to determine experimentally whether yeast pheromones contribute to speciation. Yeast do not have males and females, but mating types, which are called 'a' and 'alpha'. Type 'alpha' yeast produce a pheromone called the alpha peptide, which attracts type 'a' yeast. When yeast of type 'alpha' and 'a' meet, they fuse and form a diploid hybrid. It is presently unclear whether pheromones are attractive between species. To answer this question, we will use baker's yeast *Saccyharomyces cerevisiae*. With genetic techniques, we will replace the alpha peptide of *Saccyharomyces cerevisiae* by the alpha peptides from other species and test whether these transformed yeast can mate with type 'a' yeast. These results will allow us to understand if the evolution of yeast pheromones promotes speciation, or favors the formation of hybrids from distant species.

Лаборатория бактериальной и структурной геномики

Руководитель: Михаил Гельфанд & Ко



Laboratory of bacterial and structural genomics

Head of laboratory: Mikhail Gelfand & Co.

Проект 1: Как живут бактерии в нашем кишечнике / Семен Лейн

Project 1: What synthesize and what consume bacteria living in our guts / Semen Leyn

Кишечную микрофлору человека часто называют еще одним органом человеческого тела. Бактерии, населяющие кишечник, выполняют множество функций, таких как защита хозяина от патогенов или производство питательных веществ, необходимых человеку. Изучение молекулярных механизмов работы этого микробного сообщества необходимо для понимания влияния микрофлоры на здоровье человека. В рамках международной программы Human Microbiome Project (HMP) было получено множество геномов кишечных бактерий. Мы проанализируем эти геномы, чтобы изучить возможности синтеза и транспорта аминокислот бактериями кишечной микрофлоры. Мы будем использовать базы данных метаболической аннотации для реконструкции путей биосинтеза аминокислот в бактериях, а также попробуем различные методы поиска недостающих элементов путей и новых транспортеров. В результате будет получено предсказание фенотипов бактерий по определенным аминокислотам.

The human gut microbiome often called a “new organ” of the human body. Bacteria that inhabit the human gut perform many functions such as protection from pathogens or production of nutrients. Study of molecular mechanisms underlying the functionality of the gut microbiome is essential for understanding its influence on human health. International Human Microbiome Project has generated many genomes of the human gut bacteria. We shall study the amino acid biosynthetic and transport capabilities of human gut bacteria by analysing of their genomes. We shall use databases of metabolic annotation to reconstruct pathways for amino acid biosynthesis. We shall apply comparative genomic methods to fill gaps in the biosynthetic pathways and to find transporters. As the result we shall predict amino acid phenotypes of the human gut bacteria.

Проект 2: Сахарное Лего – II / Анна Казнадзей и Мария Тутукина

Project 2: Sugar Lego – II / Anna Kaznadzey and Maria Tutukina

В статье в Nature был описан кластер генов *yihTSUV*, отвечающий за рост *E. coli* на сульфоглюкозе. Однако, эти гены очень похожи на лактозные – анализ был сделан на прошлой школе, а потом их участие в метаболизме лактозы подтвердилось экспериментально. Данные количественной ПЦР, помимо активации *yihTS* при росте на лактозе, говорят еще и о том, что *yihTS* могут транскрибироваться отдельно от *yihU*. Задача состоит в том, чтобы найти промотор и понять, в каких условиях он работает.

1. Поиск промотора перед *yihT*: выравнивание области перед геном *yihT* из разных бактерий, поиск консенсусов глазами, сравнение с предсказанием PlatProm, подбор примеров.

2. Экспериментальная проверка предсказаний: ПЦР потенциальной промоторной области перед *yihT* с подобранными праймерами и band-shift с РНК.

3. Анализ экспрессии генов *yihU* и *yihT* на имеющихся транскриптомных и экспрессионных данных с целью выбора условий, наиболее подходящих для проверки их дифференциальной экспрессии.

4. Приготовление сред, «посадка» бактерий на рост в выбранных условиях и выделение из них РНК.

5. Оценка экспрессии – обратная транскрипция с полученной РНК и ПЦР в реальном времени. Анализ полученных данных.

A paper in Nature described a gene locus *yihTSUV* allowing *E. coli* to grow on sulfoglucose. However, our 2014 project demonstrated that these genes closely resemble genes of lactose ones, and subsequently their involvement in the lactose metabolism was confirmed in experiment.

qPCR demonstrated that besides activation of *yihTS* during growth on lactose, these genes may be transcribed independently of *yihU*. The problem is to find and characterize the promoter.

1. Identification of the *yihT* promoter: alignment of upstream regions from several bacteria, sequence gazing, computer prediction using PlatProm, selection of primers.

2. Experimental validation: PCR of the promoter region using the selected primers and band-shift with RNA polymerase.

3. Analysis of expression of *yihU* and *yihT* using available transcriptomic data and selection of growth conditions suitable for the analysis of differential expression. а имеющихся транскриптомных и экспрессионных данных с целью.

4. Preparation of media, cultivation of bacteria, preparation of RNA.

5. Analysis of expression with real-time PCR. Statistical analysis of the results.

Проект 3: Сладкие регуляторы / Юрий Коростелев

Project 3: Lucky LacI regualtors / Yury Korostelev

Связываясь с различными молекулами сахаров, транскрипционные факторы семейства LacI могут включать или выключать гены, ответственные за метаболизм этих сахаров. Хочется понять, какие аминокислотные остатки отвечают за связывание с правильным сахаром, и как они это делают. Нужно будет сопоставить несколько пространственных структур белков с разными молекулами сахаров и найти отличия в организации областей связывания сахаров в белке. Работа состоит в разглядывании трехмерных структур белков – их можно будет нарисовать на компьютере или даже записать видео. Для этого надо будет научиться работать с базой данных трехмерных структур белков Protein Data Bank и научиться писать небольшие программы в среде *PyMol* для работы с файлами структур. Предварительного умения программировать не требуется.

LacI-family transcription factors bind sugar molecules and activate or repress genes responsible for the metabolism of these sugars. We want to understand which amino acid residues are responsible for specific recognition of proper sugar molecules. We shall fit multiple spatial structures and find the differences and regularities in the structure of sugar-binding domains. We shall visualize and analyze 3D protein structures using data from the PDB database and scripts in the *PyMol* language. Preliminary programming experience is useful but not essential.

Проект 4: Структура РНК / Зоя Червонцева
Project 4: RNA structure / Zoe Chervontseva

Транскрипция и трансляция многих генов бактерий регулируется за счет формирования в растущем транскрипте альтернативных структур РНК. У нас есть программа, которая предсказывает места, где в геноме могут образоваться такие структуры. Однако эти системы довольно быстро эволюционируют, и даже в довольно близких бактериях один и тот же ген может регулироваться по-разному.

Задача состоит в том, чтобы для нескольких наборов генов предсказать регуляторные структуры и описать эволюционную историю этих генов. Для этого, кроме наших собственных программ, надо будет использовать базу данных RFAM и программы анализа РНКовых структур (RNAfold, Infernal). Уметь программировать полезно, но не обязательно.

Transcription and translation of many bacterial genes is regulated by formation of alternative RNA structures in the nascent transcript. We have a program that predicts where in the genome such structures may form. However, such regulatory systems evolve at a fast rate, and one gene may be regulated by different mechanisms even in closely related bacteria.

The problem is to predict the regulatory structures for several groups of genes and reconstruct their evolutionary history. To do that we shall use, in addition to our own programs, the RFAM database of RNA structures and programs for prediction of these structures such as RNAfold and Infernal. Programming skills may be useful, but not essential.

Проект 5: Четыре гуанина апокалипсиса / Артур Залевский и Софья Гарушянц
Project 5: Four guanines of Apocalypse / Artur Zalevsky and Sofya Garushyants

ДНК бывает не только двуцепочечной, как мы привыкли себе ее представлять. В геномах всех живых организмов встречаются также четырехцепочечные участки (G-квадруплексы). Их роль в живых системах является предметом интенсивного изучения. Уже известно, что они могут выполнять структурные и регуляторные функции. Мы попытаемся найти G-квадруплексные мотивы у бактерий с самыми короткими геномами и попытаемся понять для чего они там нужны.

Double helix DNA is not the only possible DNA-form that occur in the living cells. Some parts of genome are able to form four-stranded elements (G-quadruplex motifs). Such elements are intensively studied, and are shown to play an important role in telomere preservation and regulation of expression. We shall search for G-quadruplex motifs in short bacterial genomes, and to investigate their function.

Проект 6: Пространственная структура ДНК / Александра Галицына
Project 6: 3D structure of DNA / Alexandra Galitsyna

Генетическая информация эукариот хранится в ядре в форме линейных молекул ДНК. Их суммарная длина может достигать нескольких метров, при этом объем ядра составляет всего несколько микрометров. Таким образом, ДНК существует в форме сложно свернутой трехмерной структуры. Эта укладка поддерживается с помощью большого количества вспомогательных белков, которые вместе с ДНК формируют хроматин. Хроматин и его связь с жизнью клетки изучается более ста лет, но только сейчас появилась техническая возможность задавать фундаментальные вопросы. Так, в последние годы активно исследуется белок CTCF, который скрепляет ДНК в крупные

петли. Петли хроматина в свою очередь формируют компактные глобулы, или топологически ассоциированные домены (ТАДы). Белок CTCF присоединяется к ДНК в определенных позициях – сайтах связывания. Сайты связывания могут быть расположены на прямой или обратной цепи ДНК, что определяет направление присоединения CTCF. По существующей гипотезе, положение и направление присоединения белка CTCF определяет границы ТАДов. В работе предлагается проверить эту гипотезу для хроматина курицы. Для этого мы найдем сайты связывания CTCF в геноме курицы и сопоставим результат с экспериментальными данными (ChIP-Seq на CTCF). Далее мы сопоставим подтвержденные сайты связывания и границы ТАДов. Результатом работы является подтверждение или опровержение существующей гипотезы. Для обработки у нас есть данные по трем типам клеток курицы (результаты ChIP-Seq и список границ ТАДов), поэтому при активной и успешной работе мы сможем также наблюдать динамику изменений структуры хроматина. Умение и желание программировать приветствуется, но не является обязательным. Мы будем использовать языки программирования Python и R и научимся работать с форматом хранения данных BED и геномным браузером UCSC.

In eukaryotes, the genetic information is stored in linear DNA molecules. Their total length is several meters, but they are contained in the nucleus of micrometer size. In fact, DNA is tightly packed with multiple proteins. Together, DNA and proteins form complex structure called chromatin. The chromatin and its role were studied for decades, but only now we have techniques to answer fundamental questions. For example, one of the most important and interesting processes is CTCF protein binding to DNA and formation of large DNA loops. These loops, in turn, are packed into compact globules called TADs (topologically associated domains). CTCF may bind DNA in two directions, and there is the hypothesis that the directions of CTCF binding determines formation of TADs. We shall check this hypothesis for chicken chromatin. To do that, we shall computationally find candidate CTCF binding sites and then compare these predictions with large-scale experimental data (ChIP-Seq for CTCF). We then shall compare positions of the identified sites with TAD boundaries. As the result we shall confirm or refuse the hypothesis. We have data for three cell lines, so if everything goes well, we shall be able also to study the dynamics of chromatin structure. Programming skills are useful but not essential. We shall use programming languages R and Python and work with the BED data format and UCSC Genome Browser.

Лаборатория физики белка

Руководитель: Дмитрий Иванков

Laboratory of protein physics

Head of laboratory: Dmitry Ivankov



Всем известно, что ДНК кодирует белки, которые осуществляют функции организма. Для успешного функционирования белок должен свернуться в определенную структуру и быть стабильным. В ходе эволюции происходит накопление замен в последовательности белков. При этом белки после каждой замены должны оставаться стабильными. Некоторые замены всегда разрушают структуру белка, поэтому они запрещены для эволюции. Более тонкий эффект может заключаться в том, что некоторые замены запрещены в один момент времени, но становятся разрешенными в другой момент – когда остальная часть белка изменилась. Это приводит к тому, что порядок замен может оказаться важным. Работа нашей лаборатории будет посвящена изучению этого эффекта. Из сравнения белковых последовательностей позвоночных мы восстановили белки предков современных животных и порядок, в котором происходили замены. В ходе работы мы сгенерируем альтернативные искусственные эволюционные траектории, причем порядок замен на этих траекториях не будет совпадать с тем, что происходило в действительности. Одновременно, для всех белков реальных и искусственных траекторий мы смоделируем пространственные структуры и оценим их стабильность. Если порядок замен не важен, то стабильности реальных и никогда не существовавших белков должны, в среднем, совпадать. Если это не так, то искусственные белки будут менее стабильны. Таким образом, из сравнения двух распределений стабильности мы сделаем вывод, важен ли порядок замен в эволюции с точки зрения структуры белка. Перед тем как приступить к основной задаче, мы научимся использовать программы моделирования структуры белка и оценки ее стабильности.

It is well known that DNA codes proteins, which, in turn, are the functional units of an organism. Proteins should form proper structure and be stable to perform their functions. Evolution is a process of accumulation of substitutions in the protein sequence. After each substitution proteins must remain stable. Some substitutions always destroy the structure of protein, and thus, are forbidden in the course of the protein's evolution. More subtle effect could exist: some mutations could be blocked in one moment, but become available to occur in another moment, when the rest sequence of protein has changed. In this case the order of substitutions becomes important. In our laboratory we will investigate the latter effect. From comparison of vertebrate protein sequences we reconstructed ancestral proteins and the order in which substitutions have occurred. In the course of our project in Bioschool we will generate artificial evolutionary trajectories, with the order of substitutions on these trajectories being differing from the really happened one. For all proteins, both from real and artificial trajectories, we will model their 3D structure and estimate their stabilities. If the order of substitutions is not important, the stabilities of real proteins and never existed ones should coincide, on average. In the opposite case, artificial proteins are expected to be less stable than "real" ones. Thus, by comparing two distributions of stabilities, for artificial and "real" protein structures, we will find out if the order of substitutions is important. Before solving the main task of the project we will learn how to use programs for modeling protein structures and for estimating their stabilities.

Лаборатория апоптоза

Руководитель: Гелина Копейна

Laboratory of apoptosis

Head of laboratory: Gelina Kopeina

На сегодняшний день одним из важнейших направлений в медицинских исследованиях в области онкологии является поиск путей снижения негативного влияния на организм человека химиотерапевтических препаратов при сохранении эффективного уровня уничтожения раковых клеток. Как известно, такие препараты способны вызывать программируемую гибель клеток организма за счет повреждения ДНК и последующего запуска процесса апоптоза, что и лежит в основе механизма действия этих лекарств. Апоптоз – один из видов программируемой клеточной гибели – присущий всем многоклеточным организмам каскад реакций, который приводит к разрушению клеточных органелл и ядра, деградации генетического материала и в итоге к смерти. Апоптоз играет неоспоримо важную роль в организме, поскольку отвечает за процессы морфогенеза, корректного функционирования различных органов, а также обеспечивает удаление поврежденных клеток. Наша лаборатория исследует фундаментальные механизмы апоптоза, занимается поиском новых участников и регуляторов этого процесса. Кроме того, мы ищем подходы, позволяющие усилить действие химиотерапевтических препаратов на клетки различных типов рака и снизить негативное влияние этих токсичных лекарств на организм в целом. В рамках школы мы планируем провести эксперимент по изучению влияния голодания на запуск процесса апоптоза в клетках линии карциномы яичника с помощью ДНК-повреждающего агента цисплатина, который широко используется в терапии онкологических заболеваний. Такой двойной стресс (недостаток питательных веществ и повреждение ДНК) потенциально может привести к усилению программируемой гибели раковых клеток, что будет способствовать увеличению эффективности лечения.

At present oncology searches the way to increase the efficacy of cancer cells destruction and to minimize the negative effects of chemotherapeutic drugs. Some of these drugs are able to damage DNA and induce apoptotic death of cancer cells. Apoptosis is the process of the programmed cell death due to characteristic cell changes caused by the cascade of biochemical events. These changes include damage of organelles, nuclear fragmentation and chromosomal DNA degradation. Apoptosis is a conserved mechanism which plays a critical role in the developmental processes and the elimination of the damaged cells. Our laboratory investigates the fundamental mechanism of apoptosis and tries to determine new proteins participating in this process. We also develop approaches to promote therapeutic effect of cancer drugs and reduce their toxic properties. We are going to find whether starvation affects apoptosis of ovarian carcinoma cells in response to treatment with DNA damage chemotherapeutic agent cisplatin. The combination of starvation and DNA damage might enhance apoptotic death of cancer cells and efficacy of treatment.

Лаборатория анализа омиксных данных

Руководитель: Иван Кулаковский



Laboratory of omics data analysis

Head of laboratory: Ivan Kulakovskiy

Мы будем заниматься вычислительным анализом различных видов "омиксных" данных, получаемых с помощью современных технологий высокопроизводительного секвенирования. Миллионы коротких последовательностей ДНК, "чтений" с секвенатора, сегодня позволяют получать количественную информацию не только о геноме, но и о транскриптоме (множестве всех мРНК) и многих других *омах*. Методы биоинформатики являются мостиком от массовых данных к их биологической интерпретации.

Планируемые проекты:

- поиск нейропептидов в геномах бактерий и антимикробных пептидов в транскриптоме пшеницы (*Алексей Ковтун*);
- анализ эволюции пастушьей сумки, которая является аллотетраплоидом, т.е. видом, полученного в результате гибридизации двух диплоидных видов, и обладающего двумя различными субгеномами (*Артём Касьянов*);
- сравнительный анализ транскрипционной регуляции генов-мишеней системы mTOR у мыши и человека (*Ира Елисеева*);
- поиск перекрывающихся старт-стоп и стоп-старт кодонов у дрожжей и анализ сопутствующих особенностей инициации и терминации трансляции (*Ваня Кулаковский*).

Участников проектов ждет написание программ на скриптовых языках (Python/Ruby/Perl), статистический анализ данных в R, удаленная работа в ОС Linux, анализ паттернов в геномных текстах. Продвинутые навыки пользователя рекомендуются, начальные навыки программирования на каком-либо языке приветствуются.

In our lab we will focus on computational analysis of omics data, produced by next-generation sequencing (NGS). Millions of short sequences, "the reads", can provide information on a genome, a transcriptome (the pool of all mRNAs) and other *omes* as well. Computational bioinformatics analysis is a necessary bridge between the big data and its biological interpretation.

This year we plan the following projects:

- search for neuropeptides in bacterial genomes and for antimicrobial peptides in wheat transcriptome (*Aleksey Kovtun*);
- evolutionary analysis of allotetraploid subgenomes of *Capsella bursa-pastoris* (*Artem Kasianov*);
- comparative analysis of transcriptional regulation of mTOR-targets in human and mouse (*Irina Eliseeva*);
- search for overlapping start-stop and stop-start codons in yeast and their specific features on translation initiation and termination (*Ivan Kulakovskiy*).

Those participating in the projects will analyze patterns in genomic texts, write supporting scripts in Python/Ruby/Perl/R and work remotely in Linux environment. Power-user computer skills are recommended, programming skills are very welcome.

Лаборатория количественной биологии

Руководитель: Михаил Пантелеев

Laboratory of Quantitative Biology

Head of laboratory: Mikhail Panteleev



В нашей лаборатории мы объединили экспериментальные методы биохимии, биофизики и молекулярной биологии с теоретическими подходами, основанными на фундаментальных количественных законах физики и химии, которые правят миром биологических систем.

В рамках лаборатории все студенты будут выполнять две задачи.

Задача 1. Протеолитические ферменты грибов-паразитов

У растений есть множество механизмов защиты от вредителей. Один из них – выработка ингибиторов к ферментам, которые используются, чтобы их есть. Например, кукуруза знаменита не только своей питательностью, но и очень интересным ингибитором пищеварительного белка трипсина, который она использует для защиты от плесени, а человек для множества своих нужд. Как ни странно, ингибиторы трипсина из растений охарактеризованы, а что является их мишенями среди белков плесени - известно крайне плохо. Тут пока ясности нет. Может быть, зная мишени, мы сможем разработать новые вещества, действующие на них, чтобы самим защититься от бактерий и грибов? Для этого нам будет необходимо выделить из плесени и очистить белки, которые являются мишенями нашего ингибитора, описать их, исследовать функциональную активность и, используя экспериментальные данные, построить математические модели работы фермента и ингибитора, взаимодействия жертвы (кукурузы) и ее врагов (плесени).

Задача 2. Влияние магнитных полей на криоконсервирование

Что нужно, чтобы заморозить живой организм (или хотя бы орган) и сохранить его функциональность? Мультик "Футурама" знают все, а реально заморозить-разморозить даже почку нереально. Использование электромагнитных полей при криоконсервировании — один из самых интересных и спорных методов (уже существуют коммерческие приборы, но научных статей не найти). Чтобы попытаться разобраться в этом вопросе, мы используем помимо общей биологии немного физики, инженерного мышления, навыки работы с культурами клеток и микроскоп.

In our lab we combine experimental methods of biochemistry, biophysics and molecular biology with theoretical approach based on fundamental qualitative laws of physics and chemistry, that rule the world of biological systems. In the lab all student will be working on two projects

Project 1. Proteolytic proteins of parasite fungi. Plants use various mechanisms to protect themselves from vermin. One of them is production of inhibitors to enzymes, that are used by fungi and bacteria to eat them. For example, corn is famous not only for its nutritive value, but also for a very interesting inhibitor of a digestive enzyme called trypsin. Corn uses this inhibitor for protection from mould while people widely apply it for their own purposes. Curiously, trypsin inhibitors from plants are well characterized, but the target proteins in fungi are poorly known so far. Maybe if we know the targets we could develop new substances, that work against fungi and bacteria, and can protect us against them? To solve this problem we need to isolate and purify the target proteins of our inhibitor, describe them,

study its functional activity and use these experimental data to develop a mathematical model of interaction between enzyme and inhibitor and between a victim (corn) and its enemies (fungi).

Project 2. Effect of magnetic field on cryopreservation process. What do we need to freeze a living organism (or at least an isolated organ) and to retain its functionality? Everyone knows “Futurama” cartoon, but it is still impossible to freeze/unfreeze even a kidney. Using of electro-magnetic fields in cryonics is one of the most interesting and controversial methods. There are commercially available instruments, but there are almost no scientific papers. To work on this problem we will use, in addition to general biology, some physics, some engineering, skills of working with cell cultures and a microscope.

Лаборатория онкологии

Руководитель: Андрей Пархитко

Laboratory of oncology

Head of laboratory: Andrey Parhitko



Онкологические заболевания являются одной из основных причин смертности во всем мире. С помощью современных технологий секвенирования были обнаружены тысячи мутаций в образцах раковых опухолей. Тем не менее, только небольшая часть этих мутаций способствует росту опухоли (driver mutations), тогда как остальные мутации не оказывают значительного влияния на их рост (passenger mutations). Понимание того, какие мутации (driver mutations) оказывают значительное влияние на рост опухоли поможет понять, как происходит развитие и рост опухоли, а также правильно подобрать эффективную терапию для конкретной опухоли с данным набором мутаций. Для тестирования мутаций на значимые и незначимые мы выбрали 1000 наиболее часто мутированных в различных раках генов, используя различные online ресурсы. Классической моделью для изучения роста опухолей является инъекция раковых клеток мышам и наблюдение за их ростом; этот процесс очень медленный и трудоемкий и не позволяет исследовать большое количество генов. В качестве альтернативы мы использовали модель роста опухолей у Дрозофил (*Drosophila melanogaster*). Дрозофилы имеют гомологи ~70% генов, наиболее часто мутированных в различных раках, у них быстрый жизненный цикл, а также доступно большое количество ресурсов для манипулирования индивидуальными генами. Одной из классических моделей изучения опухолевого роста у Дрозофил является манипуляция генов в глазном диске, что приводит или к клеточной смерти и образованию “грубого глаза” или разрастанию глазного диска и образованию “глазной опухоли”, которые легко различить под обычным микроскопом. В начале нашего курса мы покажем нашим студентам как обращаться с Дрозофилами и как выглядят различные модификации глаз у Дрозофил при манипуляции различных генов. После работы с Дрозофилами, задачей студентов будет подтвердить раковый фенотип уже в клетках млекопитающих, в том числе в раковых клеточных линиях от образцов пациентов. Для этого мы расскажем каким образом функция гена может быть выключена в клетках млекопитающих при помощи РНК-интерференции. Студенты приготовят собственные генетические конструкции (для этого они познакомятся с базовыми понятиями

молекулярного клонирования) и протестируют их на клетках млекопитающих. В результате данного курса мы надеемся, что наши студенты смогут описать новые гены, способствующие или необходимые для роста опухолей.

Cancer is a major cause of morbidity worldwide. Thousands of mutations were identified in cancerous tumor samples using modern sequencing technologies. However, only a small number of these mutations drive tumor growth (driver mutations), whereas the rest of the mutations do not significantly contribute to the growth of the tumor (passenger mutations). Identifying driver mutations can help us understand how tumors grow and develop, and may be instrumental in choosing the most effective therapy for a given tumor with a specific set of mutations. In order to test how significant a given mutation is, we chose 1000 genes, which are most frequently mutated in different cancers (according to online databases). The classic model for studying tumor growth is based on a slow and time-consuming procedure (injecting cancer cells in mice and observing tumor growth), which does not scale well for large numbers of genes. We used *Drosophila melanogaster* tumor growth model as a faster alternative. *Drosophila* has a short life cycle; its genome contains homologs for about 70% of the genes most frequently mutated in different cancers, and there is a wide variety of tools for manipulating single *Drosophila* genes. One of the classic models for studying tumor growth in *Drosophila* involves changing genes in the eye disk, which leads either to the cell death and “rough eye” or to the overgrowth of the eye disk and “eye tumor”, which can be easily discerned using a light microscope. In the beginning of the course we will show our students how to work with *Drosophila* and how different changes in genes cause different modifications in the eyes of *Drosophila*. After that, our students will have to confirm cancer phenotype in mammalian cells, including cancer cell lines derived from patient samples. In order to do that, our students will learn how gene function in mammalian cells can be turned off by RNA-interference. Students will make their own genetic constructs (learning the basics of molecular cloning in the process) and will test these on mammalian cells. We hope that by the end of this course our students will describe new genes which are required for or instrumental in tumor growth.

Лаборатория плазмид

Руководитель: Пётр Свобода

Laboratory of plasmids

Head of laboratory: Petr Svoboda



Умение работать с рекомбинантной ДНК – необходимый навык современного молекулярного биолога. Во время выполнения нашего проекта студенты приобретут базовые знания и умения для создания и репродуцирования рекомбинантной ДНК в бактерии. Проект начнется с амплифицирования (модификации) выбранных генов мыши, которые обычно активируются на ранней эмбриональной стадии. В нашем проекте будут исследоваться и использоваться два вида генов мыши: (1) гены, кодирующие белки - факторы транскрипции, которые вероятно активируют другие гены в момент начала развития, и (2) длинные некодирующие РНК (lncRNA), недавно открытый и малоизученный класс генов. Выбранные нами примеры lncRNA являются совершенно новыми и не-опубликованными; единственное, что мы о них знаем - это то, что они экспрессируются в раннем эмбриональном развитии. Мы будем использовать полимеразную цепную реакцию (ПЦР) для амплификации выбранных последовательностей генов. Затем полученные последовательности будут вставлены внутрь специальной кольцевой молекулы ДНК (плазмиды), которая будет помещена внутрь бактерии для последующей амплификации. Впоследствии плазида будет отделена от растущей бактерии, и правильность вставки будет подтверждена с помощью эндонуклеазы рестрикции (рестриктаза). Полученная плазида будет использоваться для изучения функций гена на ранней стадии мышинового эмбриогенеза. Плазида также содержит кодирующую последовательность зеленого флюорисцентного белка (GFP). И если позволит время, мы попытаемся поместить плазмиды в живую клетку для того, чтобы увидеть, экспрессируют ли они белок-кодирующие гены, соединенные с GFP.

Work with recombinant DNA is an essential skill for molecular biology research. During this project, students will gain elementary knowledge and hands on experience with producing and propagating recombinant DNA in bacteria. The project will start with amplification of selected sequences from mouse genes, which are active in early embryos. Two types of mouse genes will be discussed and used for the project (1) protein-coding genes – the studied genes encode transcription factors, which presumably activate other genes when development starts. (2) long non-coding RNAs – these are a still mysterious class of genes. The studied examples of lncRNAs are completely novel and unpublished – we only know that they are expressed only in early embryos. We will use the polymerase chain reaction method (Nobel prize 1993) to amplify selected gene sequences. These sequences will be subsequently inserted into a special circular DNA molecule (plasmid), which will be placed into bacteria, where it will be amplified. Next, plasmids will be isolated from growing bacteria and correct insertions will be confirmed using restriction endonucleases (Nobel prize 1978). Produced plasmid will be used for studying gene function in early mouse embryos. The plasmid contains also coding sequence for green fluorescent protein (GFP, Nobel prize 2008). Thus, if time permits, we will also try to put plasmids into cells to see if they express the cloned protein-coding gene fused with GFP.

Лаборатория рационального дизайна лекарственных препаратов

Руководитель: Пётр Власов

Laboratory of Rational Drug Design

Head of laboratory: Peter Vlasov



Главная цель проекта – дать участникам представление о современных теоретических методах разработки лекарственных препаратов, на примере предсказания перспективных лигандов для терапевтически важных белков-мишеней. В этом году в качестве мишеней предполагается использовать белки, отвечающие за реакцию на анестетические (обезболивающие и обездвиживающие) препараты. Анестезия входит в числе наиболее востребованных практик современной медицины – но пока мало изучены глубинные молекулярные механизмы действия анестетических препаратов. Известно немало белков-мишеней, вовлечённых в каскады ответа на анестетики - и предсказание новых веществ, способных связываться с этими белками, очень актуально (т. к. большая часть анестетиков неспецифически связывается с разнообразными белками и вызывает сильные побочные эффекты). Отдельный интерес представляет эволюция белков-мишеней анестезии. Реакция на анестетики затрагивает очень древние каскады – и интересно проследить, когда и как по ходу эволюции менялись соответствующие белки и их свойства связывания анестезирующих веществ. Анализ и предсказанию этих эволюционных событий также будет посвящена часть проекта. Образовательная составляющая проекта включает обсуждение общих принципов устройства и функционирования белков; предсказание свойств и структур белков. Научная составляющая включает изучение и использование современных методов моделирования белковых структур и белок-лигандных взаимодействий. Предполагаемый результат: предсказание новых веществ-лигандов, потенциально регулирующих активность терапевтически важных белков-мишеней.

The main goal of the project is to give our students an overview of theoretical methods in modern rational drug design. Our students will use corresponding tools and methods in order to search for potential ligands for therapeutically promising protein targets. This year we will focus on anaesthesia (primarily analgesia and paralysis). These phenomena are extremely important in medicine, but foundational molecular mechanisms of anaesthesia are yet to be fully understood. There are some certain proteins known to be involved in the biochemical responses to anaesthesia. Screening of new low-molecular compounds that can specifically bind these proteins is considerably interesting (for many of the modern anaesthetics bind too many different proteins in non-specific manner). Searching for such compounds will be the primary aim of our lab's project. Another interesting question is the evolution of anaesthesia-related proteins, for these proteins participate in evolutionarily ancient biochemical cascades – and it is very interesting to track the changes in these mechanisms throughout evolution, which would be the other part of our lab's project. The educational process will include theoretical lectures: general principles of protein structural organization and diversity of protein structures and functions; prediction of protein properties and structures. The skills students will get in the project: experience in a modern professional software packages for modeling protein structures and protein-ligand interactions; using various online resources and databases of modern biology. Planned results: the project team will predict specific low-molecular compounds as new potential ligands/regulators of several therapeutically promising target proteins.

Лаборатория транспозонов

Руководитель: Хосе Луис Гарсиа Перес

Laboratory of transposons

Head of laboratory: Jose Luis Garcia Perez



В проекте мы изучим механизм, лежащий в основе «пластичности» геномов: мобильные элементы (МЭ), также называемые транспозонами. Это участки ДНК, которые умеют передвигаться внутри генома. Поэтому их называют «эгоистичными» ДНК. Их единственная известная на данный момент функция - мобилизоваться внутри нашего генома и создавать новые вставки (свои копии). МЭ LINE-1 занимает 17% от общей длины генома человека - и это единственный класс мобильных элементов, который до сих пор активен. Известно около 80-100 активных копий LINE-1 в нашем геноме, постоянно изменяющих генетический код. Наша группа и другие исследователи показали, что у человека большинство новых наследуемых вставок появляется во время раннего эмбрионального развития. МЭ продолжают менять наш геном - например, их активность может способствовать различиям в геномах практически идентичных близнецов. Для того чтобы лучше понять механизмы работы МЭ, мы изучаем активность LINE-1 внутри системы, основанной на клеточной линии Hela. В нашей лаборатории мы вместе подготовим такую систему. Также мы протестируем эффекты от обычных фармацевтических лекарств на частоту транспозиции. Более того, мы сможем «воспроизвести» некоторые вставки, сделанные в геноме клеток Hela. Для этой цели наши искусственные МЭ будут снабжены генами устойчивости к антибиотикам. Фрагменты ДНК из Hela, содержащие вставки МЭ, будут присутствовать внутри бактерии, вызывая тем самым устойчивость бактерии к антибиотикам. Впоследствии мы сможем выделить модифицированные МЭ фрагменты Hela из бактерий, изучить их последовательности и сравнить с исходными элементами LINE-1.

In our project for the summer school, we will be having a closer look to a mechanism conferring plasticity to genomes: The generation of new insertions of “Mobile” or “Transposable” Elements, also called “Transposition”. Mobile Elements are pieces of DNA that are capable of moving within the genome. They are therefore considered a type of ‘egoistic’ DNA. In fact, their only known function so far is to mobilize themselves within our genome and generate new insertions. In the human genome, LINE-1 mobile elements constitute 17% of our genome, and they are the only class of mobile elements still active nowadays. There are about 80-100 active LINE-1 copies in our genome, constantly changing our genetic code. In humans, our group and others have shown that the majority of new inheritable insertions occur during early human embryonic development. Mobile Elements continue to impact our genomes, for example their activity may contribute to cause differences in the genomes of otherwise identical twins. In order to have a closer look to the way of action of Mobile Elements, we are investigating LINE-1 activity in a Hela cell-culture based assay. We will do this assay together with you in our summer school lab. Together we will test the effect of common pharmaceutical drugs on the transposition frequency. Furthermore we will ‘recover’ some of the insertions produced in the Hela cell genomes. To this aim our artificial Mobile Element contains an antibiotics resistance. Fragments of Hela DNA containing Mobile Element insertions will therefore be able to grow in bacteria, conferring them antibiotics resistance. Finally we can extract the amplified Hela fragment from the bacteria, sequence it and map the original insertion site of the LINE-1 element.

Лаборатория фитогормонов

Руководитель: Дорошков Алексей



Laboratory of phytohormones

Head of laboratory: Doroshkov Aleksey

Одной из фундаментальных научных проблем биологии растений является исследование гормональной регуляции. Растительные гормоны регулируют как физиологические процессы, так и развитие новых органов (морфогенез). Фитогормон ауксин является одним из основных регуляторов роста и развития растений. При развитии корня он обеспечивает формирование меристемы главного и боковых корней, поддержание ниши стволовых клеток, полярный рост клеток в зоне растяжения, формирование корневых волосков, дифференцировку сосудистых тканей и гравитропизм. Функции ауксина в регуляции роста корня растяжением и при формировании корневых волосков во многом совпадают с другим фитогормоном – этиленом. Однако, в процессах регуляции развития боковых корней, поддержания ниши стволовых клеток и удлинения гипокотыля, ауксин и этилен действуют в противоположных направлениях. Взаимодействие ауксина с другими гормонами изучено в меньшей степени.

Пути передачи сигналов фитогормонов характеризуются сложностью организации и избыточностью функций их ключевых белков. На данный момент является актуальной задачей выявление взаимодействий систем передачи сигнала ауксина, этилена и других растительных гормонов. Целью данного проекта является экспериментальное изучение совместного действия ауксина с другими фитогормонами на процессы роста корня и образования боковых корней у *Arabidopsis thaliana* L., а также влияние фитогормонов на размеры и положение максимума концентрации ауксина в кончике корня при помощи трансгенной линии растений.

One of the fundamental scientific problems of plant biology is the study of hormonal regulation. Plant hormones regulate physiological processes and the development of new organs (morphogenesis). Phytohormone auxin is a key regulator of growth and development of plants. It provides the meristem formation in main and lateral roots, maintaining the stem cell niche, a polar cell growth in the elongation zone, formation of root hairs, differentiation of vascular tissues and gravitropism. The auxin functions in the regulation of root growth and formation of root hairs are very similar with another phytohormone - ethylene. However, in the regulation of lateral roots, maintain the stem cell niche and hypocotyl elongation, auxin and ethylene acts in opposite directions. Interaction of auxin with other hormones studied to a lesser extent. Phytohormone signaling pathways are characterized by the complexity of the organization and redundancy in function of key proteins. At the moment the identification of interactions in signaling systems of auxin, ethylene and other plant hormones is an actual problem. The aim of this project is the experimental study of the combined action of auxin with other phytohormones on the growth of the main and lateral root formation in *Arabidopsis thaliana* L., and evaluating the effect of phytohormones on the size and location of the maximum concentration of auxin in the root tip using the transgenic plant line.