

Школа Молекулярной и Теоретической Биологии
School of Molecular and Theoretical Biology

smtb[♥]

2016



SMTB



hhmi



Добро пожаловать! **Welcome!**



Директор:
Марта Педреро Мотис

Director:
Marta Pedrero Motis



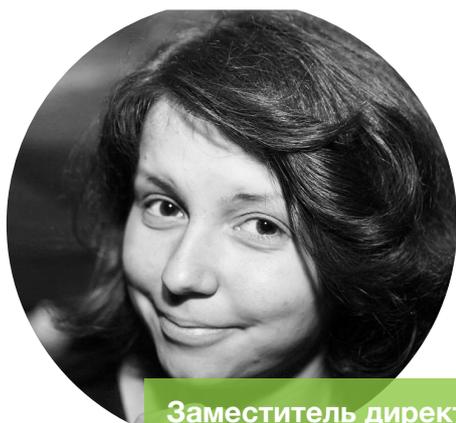
Исполнительный директор:
Дмитрий Кокорин

Director:
Dmitry Kokorin



Научный директор:
Федор Кондрашов

Academic director:
Fyodor Kondrashov



Заместитель директора:
Мария Гаврюшина

Deputy director:
Maria Gavryushina



Менеджер проектов:
Анник Лабее

Project manager:
Annick Labeeuw

ПРОЕКТЫ / PROJECTS

Лаборатория манипуляций с ДНК / *Гийом Фильон*
Laboratory of DNA manipulations / *Guillaume Filion*
стр. 2 / page 2

Лаборатория бактериальной геномики / *Михаил Гельфанд*
Laboratory of bacterial and functional genomics / *Mikhail Gelfand*
стр. 3 / page 3

Лаборатория физики белка / *Дмитрий Иванков и Динара Усманова*
Laboratory of protein physics / *Dmitry Ivankov and Dinara Usmanova*
стр. 7 / page 7

Лаборатория белковых взаимодействий / *Джон ЛаКава*
Laboratory of protein interactions / *John LaCava*
стр. 9 / page 9

Лаборатория микротрубочек / *Никита Гудимчук*
Laboratory of microtubules / *Nikita Gudimchuk*
стр. 12 / page 12

Лаборатория врождённого иммунитета / *Ли́за Ле́щинер*
Laboratory of innate immunity / *Liza Leshchiner*
стр. 13 / page 13

Лаборатория онкологии / *Андрей Пархитко*
Laboratory of oncology / *Andrey Parhitko*
стр. 15 / page 15

Лаборатория генетики дрозофил и нейронального транспорта / *Владимир Гельфанд*
Laboratory of Drosophila genetics, neuronal transport, and specification / *Vladimir Gelfand*
стр. 17 / page 17

Лаборатория транспозонов / *Хосе Луис Гарсиа Перес*
Laboratory of transposons / *Jose Luis Garcia Perez*
стр. 19 / page 19

Лаборатория биофизики / *Дмитрий Нечипуренко*
Laboratory of biophysics / *Dmitry Nechipurenko*
стр. 21 / page 21

Лаборатория биологии развития / *Кристина Пухадес и Берта Алсина*
Laboratory of developmental biology / *Cristina Pujades and Berta Alsina*
стр. 22 / page 22

Лаборатория рационального дизайна лекарственных препаратов / *Пётр Власов*
Laboratory of rational drug design / *Peter Vlasov*
стр. 25 / page 25

Лаборатория манипуляций с ДНК

Руководитель: Гийом Фильон

Laboratory of DNA manipulations

Head of laboratory: Guillaume Filion



В нашем проект мы будем исследовать механизм транскрипции, используя самую современную технику манипулирования ДНК – так называемую «сборку Гибсона» (Gibson assembly, https://en.wikipedia.org/wiki/Gibson_assembly). Участники проекта освоят базовые техники микробиологии (выращивание *Escherichia coli*, электропорация плазмид, рост на агаре под отбором антибиотиками), базовые молекулярно-биологические техники (ПЦР, очистка плазмид, использование ферментов рестрикции, гель-электрофорез) и, собственно, более современную технику Gibson assembly. А научная задача, решаемая в рамках проекта, состоит в проверке гипотезы о том, что участки ДНК с терминаторами транскрипции содержат ещё и последовательности, активирующие транскрипцию других генов. Большая часть работы будет осуществляться на культуре *Escherichia coli*, но манипуляции будут осуществляться с ДНК дрозофил – и финальные тест будут проводиться на клеточной культуре дрозофил.

In this project we will test a theory on transcription, using modern DNA manipulation techniques. The practicals will show how to manipulate DNA for Gibson assembly. The students will perform basic microbiological techniques (growth of *Escherichia coli*, electroporation with plasmids, growth selection on agar plates with antibiotics), basic molecular biology techniques (PCR, plasmid purification, digestion with restriction enzymes, agarose gel electrophoresis) and more advanced techniques (Gibson assembly). The hypothesis we want to test is whether the terminators of transcription contain sequence that activate the transcription of other genes. Even though most of the work will be performed in *E. coli*, we will manipulate *Drosophila* DNA and test the final hypothesis in *Drosophila* cells in culture.

Лаборатория бактериальной и функциональной геномики

Руководитель: Михаил Гельфанд & Ко

Laboratory of bacterial and functional genomics

Head of laboratory: Mikhail Gelfand & Co



Лаборатория бактериальной и функциональной геномики продолжает исследования в традиционных для себя областях. Некоторые из задач лаборатории являются составной (но самостоятельной) частью текущих проектов наших преподавателей в ИППИ, СколТехе и МГУ (в том числе, начатых на предыдущих школах), другие же являются небольшими самостоятельными проектами, которые, в зависимости от результатов, будут продолжены и после школы. Отдельно отметим, что в большинстве наших проектов можно участвовать и не имея опыта программирования.

The Lab of Bacterial and Functional Genomics continues working in its traditional areas. Some of our projects are parts of current research by our teachers in IITP, SkolTech and MSU (including projects initiated at previous schools), while others are relatively independent, but may be continued after the school, dependent on the results. It is important to notice that one may participate in most of our projects without programming skills or experience.

Проект 1:

Компьютерный анализ часто является поводом для последующих экспериментов. С Машей Тутукиной и Инной Суворовой надо будет взять доступные массовые данные по взаимодействиям факторов транскрипции EhuR и UhuR с ДНК кишечной палочки, определить, какие участки ДНК узнают эти факторы, а затем экспериментально проверить, как меняется работа генов-мишеней добавлении в среду разных сахаров. Это интересно и с функциональной точки зрения, потому что, похоже, эти факторы регулируют не только уже известные гены метаболизма гексуроновых кислот, но играют какую-то глобальную роль, и с точки зрения эволюции регуляторных систем: эти факторы разошлись недавно (у большинства бактерий имеется только один фактор, им родственный), и их анализ позволит понять, как перестраиваются сети регуляции транскрипции после дубликации регуляторов. В этой задаче комбинируется компьютерный анализ (с использованием готовых программ) и экспериментальная работа (ПЦР в реальном времени). Другие наши проекты чисто биоинформатические, в них полезно, но вовсе не обязательно немного уметь программировать.

Project 1:

Computer analysis often leads to subsequent experiments. With Masha Tutukina and Inna Suvorova you will start with available data on interactions between transcription factors

ExuR and UxuR with *Escherichia coli* DNA, identify binding sites, and then experimentally determine how expression of target genes changes upon addition of various sugars to the growth medium. This is interesting both from the functional side – it looks like these factors regulate not only known genes of hexuronic acids metabolism, but have a global role – and from the evolutionary viewpoint – these factors have diverged rather recently (most *E. coli* relatives have only one factors related to these two) and their analysis would show how regulatory networks are reconnected following duplication of regulators. This project combines computer analysis (using available tools) and experiment (real-time PCR). Other projects of our lab are purely bioinformatic. Programming skills are a plus, but definitely not essential.

Проект 2:

Еще один проект Инны Суворовой – реконструкция сети регуляции транскрипции генов метаболизма ароматических соединений. Это интересно, в частности, потому, что бактерии показывают удивительную способность разлагать вещества, которых никогда не существовало до возникновения современной химической промышленности, и естественный вопрос – зачем и как они это делают.

Project 2:

One more project from Inna Suvorova is reconstruction of regulatory network for the metabolism of aromatic compounds. This is interesting, in particular, because bacteria can feed on substrates that have not existed before the dawn of industrial chemistry – and one should be curious how they do it.

Проект 3:

Производство белка зависит не только от транскрипции генов, но и от трансляции мРНК. Рибосомы двигаются по мРНК неравномерно, а иногда сваливаются с нее. С Зоей Червонцевой можно будет попробовать понять, от чего это зависит. Возможные варианты – стабильная вторичная структура мРНК и редкие кодоны. Для анализа будут использованы массивы доступных данных, полученных недавно разработанными методами, такими как рибосомное профилирование.

Project 3:

Gene expression depends not only on transcription of genes, but also on translation of mRNAs. Ribosomes scan mRNA at a non-uniform rate, and sometimes drop off. Zoya Chervontseva wants to understand what determines the translation and drop-off rates using available data from large-scale ribosome profiling experiments. Possible explanations are stable secondary structures and rare codons.

Проект 4:

Другая задача связана с эволюцией генов сахарного метаболизма, которые мы изучаем уже третью школу подряд. Мы заметили, что гены, кодирующие белки с одинаковыми функциями, в бактериальных геномах часто расположены рядом друг с другом. Аня Казнадзей и Зоя Червонцева будут исследовать такие пары генов с тем, чтобы определить их функциональные связи (работа в последовательных стадиях одного метаболического пути) и эволюционное происхождение (дупликации с

последующим изменением функциональной специфичности, горизонтальный перенос и т.п.).

Project 4:

A joint project by Anya Kaznadzey and Zoya Chervonsteva is dedicated to the evolution of sugar metabolism loci, continuing our work in 2014 and 2015. We've noticed that genes encoding enzymes with similar functions are often co-localized in bacterial chromosomes. The aim is to understand functional relationships between such genes (do they encode successive stages of one pathway) and their evolutionary origins (duplications with subsequent change in functional specificity, horizontal transfer etc.).

Проект 5:

Задачи Оли Бочкаревой также связаны с геномными перестройками. Известно, что геномы различных штаммов одного вида бактерий отличаются друг от друга составом и порядком генов. Одна из основных причин различий в геномном составе – горизонтальный перенос генов от других бактерий. Такие события позволяют бактериям быстро адаптироваться к новым условиям, в частности, они являются одной из основных причин устойчивости бактерий к антибиотикам. Мы придумали несколько способов отличать горизонтально перенесенные гены от генов, существовавших в предковом наборе штаммов; задача состоит в том, чтобы применить эти методы к анализу геномов кишечных палочек и сальмонелл и оценить частоту горизонтальных переносов. Вторая задача – изучить перестановки уже существующих генов в геномах. Есть гипотеза, что такие перестройки характерны для молодых патогенов. На прошлых школах мы уже изучали перестройки генома возбудителя чумы *Yersinia pestis* и даже написали про это статью. На этой школе мы хотим реконструировать историю перестроек в геномах *Shigella* spp. – возбудителей дизентерии, которых раньше относили к отдельному роду, а потом поняли, что это просто вариант кишечной палочки.

Project 5:

Olya Bochkareva's projects also are concerned with genome rearrangements. It is well known that strain genomes differ in gene content and order. One of the main reasons in gene content differences is horizontal gene transfer from other bacteria. This helps bacteria to adapt to changing conditions, e.g. the use of antibiotics. We've invented several approaches to distinguish between horizontally transferred genes and genes inherited from a common ancestor, and the task is to apply these methods to available genomes of *E. coli* and *Salmonella* spp., and to estimate the horizontal transfer rate. The other problem is to study genome inversions yielding changes in gene order. There is a hypothesis that the rate of inversions is sharply increased in young pathogens. In previous schools we've studied the cause of plague, *Yersinia pestis*, and even have written a paper about this bug. Now we want to look at dysentery bugs *Shigella* spp. That have been thought to constitute a separate genus, but recently have been shown to be strains of *E. coli*.

Проект 6:

Перестройки геномов случаются и у эукариот. Но там ситуация даже интереснее, потому что ДНК в ядре плотно упакована; элементарным единицами такой упаковки

являются Топологически Ассоциированные Домены, плотно упакованные участки длиной порядка миллиона пар оснований. Катя Храмеева предлагает посмотреть, как соотносятся перестройки в геномах млекопитающих и дрозофил со структурой ТАДов, например, верно ли, что границы перестроек не попадают в ТАДы. Для этого будет сопоставить доступные данные о пространственной структуре геномов человека, мыши и *Drosophila melanogaster* и существующие реконструкции истории геномных перестроек. Но пространственная структура влияет не только на эволюцию, но и на функции генома. У нас есть полученные от коллег новые данные о пространственной структуре общественной амебы *Dictyostelium discoideum* (это существо ведет себя как одноклеточное, когда все хорошо, и как многоклеточное, когда не хватает еды). Надо будет посмотреть, где расположены гены относительно ТАДов, зависит ли это от того, насколько интенсивно работают эти гены, верно ли, что в ТАД попадают гены, которые работают в одних и тех же ситуациях т.д.

Project 6:

Genome rearrangements in eukaryotes are more complicated, because the DNA in the nucleus is tightly packaged. Elementary units of the 3D structure are Topologically Associating Domains whose average size is about one million base pairs. Katya Khrameeva wants to analyze the interplay between TADs and genomes rearrangements in mammalian and drosophila genomes, in particular, to check whether rearrangement breakpoints tend to occur between, and not within TADs. This will be done using available data on genome 3D structure and reconstructions of rearrangement history. But spatial structure influences not only evolution, but function. Our colleagues in Moscow shared new data on the 3D structure of DNA in slime mold *Dictyostelium discoideum* (this creature is a single-celled amoeba when the food is plenty and a multicellular aggregate upon starvation). You will analyze how its genes are located respective to TADs, how their expression depends on the TAD structure, and whether co-expressed genes tend to be co-localized in TADs.

Лаборатория физики белка

Руководители:

Дмитрий Иванков и Динара Усманова

Laboratory of protein physics

Heads of laboratory:

Dmitry Ivankov and Dinara Usmanova



Одной из самых важных проблем современной биологии является понимание связи между генотипом и фенотипом. В идеале, хочется научиться предсказывать фенотип по генотипу. С эволюционной точки зрения, главная фенотипическая характеристика генотипа – это приспособленность организма. Поэтому ученые изучают так называемый *ландшафт приспособленности* – многомерную поверхность, где каждой точке пространства генотипов соответствует определенная величина приспособленности. Области высокой приспособленности изображаются в виде возвышенностей, а низкой – в виде впадин.

Вопрос состоит в том, как ландшафт приспособленности устроен. Чтобы приблизиться к ответу на этот вопрос, ученые экспериментально измеряют ландшафты приспособленности для отдельных генов. Они создают тысячи мутантов гена, помещают их в клетки бактерий или дрожжей и затем определяют выживаемость различных мутантов. Осуществление подобных экспериментов – сложная задача, поэтому на сегодняшний день измерено всего около десятка ландшафтов. И даже они покрывают лишь малую часть всех возможных генотипов.

Не менее сложной является задача последующего анализа ландшафтов приспособленности, измеренных экспериментально. Ведь из сырых данных хочется получить какие-нибудь понятные характеристики ландшафта. Например, какая доля мутаций является для гена вредными? Сколько мутаций достаточно, чтобы ген перестал функционировать? Какова поверхность ландшафта: гладкая или изъеденная неровностями? Как свойства мутаций зависят от присутствия мутаций в других позициях? Чем отличаются ландшафты разных генов, например, генов белков и РНК? При этом методы численного анализа все еще не унифицированы, и все экспериментально измеренные ландшафты были проанализированы разными способами. Таким образом, их почти невозможно между собой сравнивать.

В нашем проекте мы собираемся проанализировать все экспериментальные ландшафты белковых и РНК генов с помощью одинакового набора вычислительных методов. Эти методы были протестированы в нашем недавнем исследовании ландшафта приспособленности зеленого флуоресцентного белка. В результате предстоящего проекта мы хотим понять, какие свойства ландшафтов являются общими

и могут быть экстраполированы на другие гены, а какие характерны лишь для анализируемого объекта.

One of the most important problems of modern biology is the genotype to phenotype connection. Ideally, one would like to predict phenotype from the genotype. From the evolutionary point of view, the main phenotypic characteristic of a genotype is its reproductive success, or fitness. Therefore, scientists study the so called *fitness landscapes* – a high dimensional surface, where height shows the fitness and all other dimensions represent genotype space.

The important question here is how fitness landscapes are organized. For answering it scientists try to measure fitness landscapes of individual genes experimentally. They create thousands of gene mutants, put them into bacteria or yeast cells and then measure how different mutants survive. Such experiments are very hard tasks; that is why only about a dozen of such landscapes are measured. And, even they cover only a small part of possible genotype space.

Another challenging task is to analyze the measured landscapes and to extract meaningful information from them. For example: which fraction of mutants is deleterious? How many mutations kill gene function? Is the landscape rugged or smooth? How the properties of mutations depend on presence of mutations in other positions? What is the difference between landscapes of different genes, for example, those of protein and RNA? However, the methods of analysis are not unified yet, and all the measured landscapes were analyzed in very different manner. This prevents us from the comparison of those landscapes.

In our project we are going to computationally analyze all experimentally measured fitness landscapes of protein and RNA genes by unified set of methods, which proved to be useful in our recent detailed investigation of the landscape of green fluorescence protein. We want to discover, which features of fitness landscapes are common and therefore can be extrapolated to other genes, and which are unique to specific genes.

Лаборатория белковых взаимодействий

Руководитель: Джон Ла Кава

Laboratory of protein interactions

Head of laboratory: John LaCava



Гены – это химические «чертежи» из ДНК, которые сообщают клетке, как производить белки. Белки - это молекулы, поддерживающие биохимические процессы жизни. Таким образом, гены определяют, какие именно белки должны производиться в каждой из примерно 37 триллионов клеток человеческого тела для их нормального существования. Внутри клеток белки формируют сложные сети взаимодействий, воплощая свои функции и в стабильных и в очень подвижных макромолекулярных комплексах. Сумма всех этих взаимодействий между белками, и вся динамика их поведения, образует так называемый «интерактом» клетки. Мутации в белок-кодирующих генах могут изменить результирующий белок – его размер, последовательность, уровень экспрессии, внутриклеточную локализацию. Подобные изменения могут менять и сеть белковых взаимодействий – что, в свою очередь, может привести к дисфункции клетки и к болезням организма. Как сформулировал Жак Люсьен Моно, «мы абсолютно уверены, что любое явление, любое событие, как и любое знание, любая передача информации, подразумевают взаимодействие – и никакое взаимодействие невозможно без изменений, без эволюции системы, в которой взаимодействие происходит». Вот уже полсотни лет мы уверены, что понимание молекулярных и клеточных функций и дисфункций - т.е., по сути, понимание, что такое здоровье и болезнь - требует изучения и понимания интерактома. Однако в то время как высокопроизводительное ДНК-секвенирование превратило получение геномных данных в рутину, а масс-спектрометрия существенно упростила получение протеома клеток - то задача анализа интерактома всё ещё ожидает прорыва, вслед за геномной/протеомной революцией. По современным оценкам, нам осталось с десятков лет до «чернового» варианта карты интерактома человека. Таким образом мы ещё ожидаем возможности высокоэффективно переносить наше понимание физического базиса клеточных процессов в биомедицинскую практику. Наша лаборатория нацелена на (1) разработку эффективных методов характеризации структур и функций белковых комплексов, и (2) применение этих методов к изучению открытых тем клеточной биологии. Главным подходом к изучению белковых взаимодействий является прямое измерение силы взаимодействия белков. Для этой цели клетки лизируют – т.е. «выжимают» всё их содержимое в раствор, который, в идеале, содержит все макромолекулярные белковые комплексы. Это очень непростая методика, нюансы которой мы будем обсуждать по ходу всего проекта. Далее комплексы выделяют из клеточного экстракта, используя специальные реагенты - как правило, антитела – которые целевым образом распознают нужные белки. В нашей лаборатории мы будем

параллельно развивать два проекта, в которых по-разному произведём оценку силы взаимодействия белков.

В первом проекте, специальные реагенты, называемые «нанотелами» (небольшие одноцепочечные фрагменты антител, выделенных из клеток верблюда) будут тестироваться на специфическое связывание и целевое очищение белковых комплексов. Нанотела – это переводой метод биотехнологий, они являются объектом интенсивного изучения на предмет перспектив их использования в научных и клинических исследованиях, диагностике и терапии. И в то время как нанотела могут быть очень эффективны в специфическом связывании конкретных мишеней – то комбинации нанотел для различных сайтов связывания белков (эти сайты называются «эпитопами») могут быть ещё более эффективны. В наших экспериментах мы исследуем разнообразные нанотела и постараемся эмпирически подобрать комбинации которые обеспечивают быструю очистку белковых комплексов с максимальным соотношением сигнал-шум.

Во втором проекте мы используем мышиные моноклональные антитела для очистки белковых комплексов, связанных с человеческими транскрипционными факторами. Эти факторы являются главными регуляторами экспрессии генов - но взаимодействия этих белков остаются малоизученными, что делает их предметом интенсивных исследований. И хотя общее число транскрипционных факторов исчисляется тысячами, исследования по трём конкретным из них, наиболее изученным, цитируются больше, чем по всем остальным вместе взятым; хотя уже окончательно понятно то они имеют важнейшее значение для человеческого здоровья и болезней, и рассматриваются как важные терапевтические мишени.

Genes are chemical blueprints made of DNA (deoxyribose nucleic acids) that instruct a cell how to make proteins. Proteins are molecules that facilitate the essential chemistry of life, termed biochemistry. Thus, genes critically define which proteins need to be present in each of the approximately thirty-seven trillion cells of the human body for it to be healthy and alive. Within the living cell, proteins form networks of interactions, exerting their functions through both stable and transient macromolecular complexes. The sum of these interactions between proteins, including their spatiotemporal dynamics, creates the 'interactome' of the cell. Mutations in protein coding genes can alter the resulting protein, including changes to protein length, amino acid sequence, expression level, and subcellular localization. Such changes can lead to altered protein interaction networks that cause cellular dysfunction and disease. As Jacques Monod eloquently stated, "We are all aware of the fact that any phenomenon, any event, or for that matter, any 'knowledge', any transfer of information implies an interaction, and that no interaction may take place without an alteration, an evolution of the interacting system." For fifty years or more we have been aware that to understand molecular and cellular function and dysfunction, consequently to understand health and disease, we must understand the interactome. However, while high-throughput DNA sequencing can routinely map whole genomes and mass spectrometry can thoroughly survey the protein complement (proteome) of a cell, interactome analyses have not kept pace with the genomic and proteomic revolutions. A recent analysis estimates that we are at least a decade away even from a 'first draft' map of the human interactome. We are

therefore unable to effectively apply an understanding of the physical basis of cellular function to improve biomedicine. Our laboratory is concerned with 1) developing effective methods to characterize physiological protein complexes (structure & function) and 2) applying these tools to reveal unknown aspects of cell biology. A main approach for exploring protein interactions is affinity capture. For this, cells are lysed and their contents extracted into a solution that ideally preserves macromolecular protein complexes – this is a major outstanding challenge in the field that will be discussed during our laboratory. Complexes are then specifically enriched from the cell extract using affinity reagents — usually antibodies — that recognize target proteins. We will run two parallel projects during the lab sessions that utilize affinity capture.

In the first project, protein affinity reagents known as nanobodies (small, single-chain antibody fragments derived from camelids) will be tested for their ability to purify model protein complexes. Nanobodies are a cutting edge affinity reagent and are the topic of intense research as tool for basic and clinical research, diagnostics, and therapeutics. While nanobodies can be very effective in binding and immobilizing their target, combinations of nanobodies directed against different binding sites on a protein (epitopes) may be even more effective. We'll explore a catalog of nanobody reagents and attempt to empirically determine the combination that permits the fastest purification of protein complexes with the highest signal-to-noise ratio.

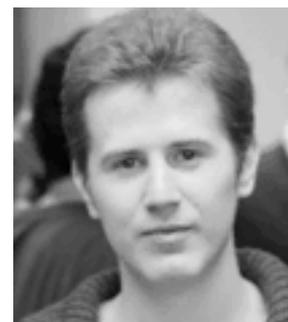
The second project investigates the use of mouse monoclonal antibodies to purify protein complexes associated with human transcription factors. Transcription factors are master-regulators of gene expression, but their protein interaction networks are poorly understood. As such they are the topic of intensive ongoing research. Although transcription factors number in the thousands, the three most well-studied transcription factors account for more citations in the literature than all the remaining transcription factors combined; yet it is already well understood that they have significant influence on human health and disease, and are considered effective therapeutic targets.

Лаборатория микротрубочек

Руководитель: Никита Гудимчук

Laboratory of microtubules

Head of laboratory: Nikita Gudimchuk



Микротрубочки – это динамические полимеры белка тубулина. Они могут спонтанно переключаться между фазами удлинения и укорочения. Это позволяет им искать и захватывать хромосомы во время клеточного деления и распределять их по дочерним клеткам. Если динамику микротрубочек остановить с помощью низкомолекулярных ингибиторов, клетки теряют способность делиться и обычно умирают путем апоптоза. Поэтому ингибиторы динамики микротрубочек можно использовать как лекарства для остановки роста опухолевых клеток. Динамика микротрубочек в клетках также регулируется белками, ассоциированными с микротрубочками. Эти белки могут существенно изменять динамику и, вероятно, влияют на чувствительность микротрубочек к действию противоопухолевых лекарств. Мы будем исследовать влияние ассоциированных с микротрубочками белков (Stu2p и/или EB1) на эффективность действия лекарств (таксола и/или эрибулина). Для этого мы сначала измерим динамику микротрубочек без и в присутствии ингибиторов с помощью флуоресцентной микроскопии полного внутреннего отражения. После этого мы добавим очищенные белки и изучим, как изменилась чувствительность динамики микротрубочек к лекарствам.

Microtubules are dynamic polymers of tubulin, which undergo stochastic switching between growth and shrinkage phases. Thanks to this property microtubules capture and segregate chromosomes between daughter cells during cell division. If the dynamics of microtubules is inhibited by small molecule drugs, cells can no longer divide and they normally die through apoptosis. That is why inhibitors of microtubule dynamics are widely used to stop proliferation of tumor cells. Microtubule dynamics in the cells are also regulated by a number of microtubule-associated proteins. These proteins can significantly alter microtubule dynamics and potentially affect their sensitivity to inhibitors. The aim of this project is to explore the impact of microtubule-associated protein(s) (Stu2p or/and EB1) on the effectiveness of microtubule inhibitors (taxol and/or eribulin). For this we will first characterize microtubule dynamics alone and in presence of inhibitors *in vitro*, using purified bovine tubulin and total internal reflection fluorescence microscopy. We will then add purified microtubule associated protein(s) and see if the sensitivity of microtubules to drugs has changed.

Лаборатория врождённого иммунитета

Руководитель: Лиза Лещинер



Laboratory of innate immunity

Head of laboratory: Liza Leshchiner

Наша лаборатория будет посвящена изучению механизмов врожденного иммунитета. Врожденный иммунитет является первой и самой быстрой линией защиты организма от чужеродных патогенов (бактерии, вирусы), и он также работает, чтобы уничтожить раковые клетки и активировать адаптивный иммунитет. Слишком слабый или слишком сильный иммунный ответ приводит к серьезным заболеваниям: например, иммунодефицит или рак; или, наоборот, аутоиммунные заболевания или другие тяжелые воспалительные процессы, как например, болезнь Крона (в пищеварительной системе). Лечить такие болезни очень сложно, и ученые стремятся создать новые, эффективные лекарства.

В нашей лаборатории этим летом мы будем работать с линиями иммунных клеток человека, а также первичными клетками из костного мозга, чтобы изучить специфичность иммунного ответа на чужеродные тела. Мы будем измерять как иммунные клетки активируются в ответ на специфические стимулы, то есть чужеродные тела, используя люциферазный репортер и измеряя секрецию цитокинов.

Во второй половине школы мы сосредоточимся на пути иммунной активации через белок CARD9. Этот белок очень важен для иммунного ответа, но еще более он интересен тем, что существуют различные варианты CARD9. Некоторые варианты приводят к более высокой вероятности иммунных заболеваний (болезнь Крона), но кроме того, мы обнаружили один вариант, который полностью защищает от этой болезни. Это значит, что люди с этим вариантом гена CARD9 полностью защищены от болезни Крона и некоторых других иммунных болезней.

У нас есть предположение-гипотеза на основании наших предыдущих исследований, какие гены и белки, которые взаимодействуют с CARD9, могут быть ответственны за этот защитный эффект. Во время нашего проекта этим летом мы изучим все гены из предполагаемого списка и их влияние на иммунные пути. Мы сможем подтвердить или опровергнуть, действительно ли именно эти гены важны для передачи сигналов CARD9 и активации иммунной системы, и можно ли они использовать эту информацию для разработки лекарств против болезни Крона и других иммунных заболеваний.

Чтобы все это проверить, мы будем по одному 'выключать' эти гены в иммунных клетках и проверять иммунную активацию и ее механизм в клетках с выключенными генами. Во время этого проекта, студенты приготовят свои собственные конструкции для РНК-интерференции ('выключения') специфических генов, будут работать с культурами клеток, сделают трансфекции, измерят выживаемость и активность клеток

используя люминесцентный репортер и узнают такие методы иммунной биологии, как например ELISA (иммуноферментный анализ). Наша цель – с помощью этих экспериментов лучше понять и изучить новые механизмы в биологии человека, что в будущем поможет создать новые методы и лекарства для борьбы с иммунными и раковыми заболеваниями.

In our lab, we will focus on studying mechanisms of innate immunity. Innate immunity is the first and fastest line of defense of an organism against foreign pathogens (bacteria, viruses, toxins), and it also works to eradicate cancer cells and activate adaptive immunity. Too much or too little immune response results in human disease, for example, immune deficiency or cancer; or, on the opposite, auto-immune disease or other pro-inflammatory diseases such as Crohn's Disease, a condition of the gastrointestinal system. For all these conditions, scientists are still searching to create better, effective and specific treatments.

We will work with human cell lines as well as primary bone marrow-derived cells to investigate the specificity of immune response to foreign agents, and we will measure how immune cells are activated in response to specific stimuli (by luciferase reporter and cytokine secretion). We will then focus on a specific pathway of their activation – via CARD9 protein pathway.

Why CARD9 pathway? In our previous work we found that different variants of CARD9 gene may lead to higher susceptibility or a complete protection against pro-inflammatory disease (Crohn's Disease) – meaning that people with a certain variant of CARD9 gene are protected from ever getting Crohn's Disease. We hypothesized which genes and proteins that interact with CARD9 may be responsible for this protection. This summer we will work to confirm or refute whether these genes participate in CARD9 signaling and immune activation, and whether it will be possible to use this information to develop therapeutics against Crohn's Disease and other immune diseases.

To do this, we will 'knock down' these genes one by one in immune cells and test immune activation in these engineered cells. Students will prepare their own RNA interference constructs for specific genes, will work with cell culture, transfect cells and measure viability, work with a luminescence-based reporter and learn immune biology techniques such as cytokine ELISA (enzyme-linked immune adsorbent assay). With these experiments, we aim to discover new human biology that will inform future immune and cancer drug development.

Лаборатория онкологии

Руководитель: Андрей Пархитко

Laboratory of oncology

Head of laboratory: Andrey Parhitko



Рак – одна из наиболее частых причин смерти по данным ВОЗ, приводящая ежегодно к 8.2 миллионам смертей по всему миру. Опухоли характеризуются нарушением клеточной пролиферации (клеточного деления) и одним из важнейших моментов в развитии опухоли является инактивация суппрессоров опухолевого роста. Опухолевые суппрессоры – гены, продукты которых негативно регулируют клеточную пролиферацию и ограничивают клеточный рост, в то время как мутации или инактивация опухолевых суппрессоров приводят к неконтролируемой пролиферации опухолевых клеток. Наиболее часто мутации встречаются в опухолевых суппрессорах *p53*, *BRCA1*, *APC*, *PTEN*, and *RB1*. *Дрозофила* является классической моделью для проведения генетических скринингов (генетический скрининг – по сути метод перебора выключения большого количества генов по-одному для исследования их эффекта на признак, который легко обнаружить, например, структура глаза в мухе или количество мертвых клеток в чашке) для поиска генов, которые специфически убивают клетки с инактивацией определенного опухолевого суппрессора (в нашем случае гена *Rb*), но не оказывающих влияния на нормальные клетки (принцип “синтетической летальности”) т.к., 1) *Rb* сигнальный путь консервативен у *Дрозофил*; 2) у *Дрозофил* можно проводить *in vivo* генетические и фармакологические скрининги; 3) *Дрозофилы* обладают меньшей генетической избыточностью (меньше вероятность того, что инактивация одного гена компенсируется активностью близкого ему по структуре). В нашей предварительной работе мы провели генетический скрининг для поиска генов, которые селективно убивают клетки с инактивацией опухолевого суппрессора *Rb* и обнаружили ~120 кандидатов для дальнейших исследований. Интересно отметить, что наши коллеги независимо провели скрининг на человеческих клетках с инактивацией опухолевого суппрессора *RB* с использованием альтернативной (CRISPR) технологии и обнаружили 19 потенциальных кандидатов, из которых 7 тестировались в нашем скрининге и все 7 также оказались потенциальными кандидатами. Во время нашего курса студенты будут работать с человеческими клетками, чтобы подтвердить результаты наших скринингов с кандидатами 1). которые выявились в обоих скринингах; 2) которые были выявлены в скрининге на *Дрозофилах*, но не на человеческих клетках из-за генетической избыточности (когда для единичного гена у *Дрозофил* существует множество гомологов в человеческих клетках и инактивация одного из них может быть компенсирована другими. Во время курса студенты выучат основы молекулярного клонирования и принцип РНК интерференции, законируют их собственные конструкторы для выключения

определенных генов, изучат основы работы с клетками млекопитающих и протестируют эффект выключения генов кандидатов в нормальных и опухолевых (клеток с выключенным опухолевым суппрессором *RB*), также протестируют доступное лекарство, ингибирующее продукт гена, обнаруженного в нашем скрининге. Целью данного проекта является перенести наше знание, полученное на *Дрозофилах* и клетках млекопитающих на лечение опухолей с инактивацией опухолевого суппрессора *RB* у людей.

Cancer is one of the major causes of death accounting for at least 8.2 million deaths a year worldwide (World Health Organization). The tumors are characterized by abnormal proliferation and one of the critical steps in tumor progression is the evading of tumor suppressor genes. Tumor suppressors are genes that negatively regulate cell proliferation and limit cell growth, while the mutation or inactivation of the tumor suppressor genes will promote the abnormal proliferation of tumor cells (Hanahan and Weinberg, 2011). Some examples of the most commonly mutated tumor suppressor genes are *p53*, *BRCA1*, *APC*, *PTEN*, and *RBI*. *Drosophila* is an excellent model to perform genetic interaction screens to identify genes synthetically lethal for Tumor Suppressors (in our case *Rb*-null) -deficient cells because 1) the *Rb* pathway is highly conserved; 2) it is possible to perform large-scale *in vivo* RNAi and pharmacological screens; and 3) less genetic redundancy. In our preliminary studies we performed a genetic screen for the search of genes selectively killing (synthetically lethal) *Rb*-deficient cells and identified ~120 candidates for the further studies. Interestingly, our collaborators independently performed CRISPR-based screen in patient-derived *RB*-deficient cells and identified 19 high confident candidates and 7 of these candidates which were tested in our screen scored as potential candidates. During our course the students will be working with human cells to confirm the results of our screen for the candidates: 1. which scored in both screens 2. candidates, which scored in *Drosophila* screen but didn't score in mammalian screen because of genetic redundancy (the situation when *Drosophila* gene has multiple orthologues in human genome and suppression of one of them can be easily compensated by others). The students will have to study the basics of molecular cloning and principles of RNA interference, prepare their own genetic constructs to target specific genes, study the basics of working with human cells and test the effect of downregulation of candidate genes in normal and tumor-like (*RB*-deficient) cells, try pharmacological approach using available FDA-approved drugs for the potential candidates from the screen. Our goal is to transform studies in *Drosophila* and mammalian cells into therapeutics which can be used for the treatment of *RB*-deficient tumors in human beings.

**Лаборатория генетики дрозофил
и нейронального транспорта**
Руководитель: Владимир Гельфанд

**Laboratory of Drosophila genetics,
neuronal transport, and specification**
Head of laboratory: Vladimir Gelfand



Целью проекта является понимание механизма нейронального транспорта – и в клеточных культурах, и в животных. Нейроны – ключевой объект нервной системы животных, притом это самые поляризованные клетки тела. Специализированный транспорт в конкретные зоны нервной системы (между аксонами и дендритами) организован очень «прицельно» - некоторые белки организуют доставку только в аксоны, а другие «нацелены» на дендриты. Разрегулировка этого транспорта связана со множеством нейродегенеративных заболеваний. В качестве «трасс» этого транспорта выступают микротрубочки, а за непосредственный перенос отвечают моторные белки и АТФазы. Существуют две модели, пытающиеся объяснить, почему «грузы» для аксонах исключены из дендритов: (1) аксоновые грузы направляются точно в аксоны; (2) аксоновые грузы распределяются случайно и лишь впоследствии удаляются из дендритов.

Для начала, мы в нашей лаборатории освоим методы генетики и конфокальной микроскопии - необходимые для отслеживания транспорта в микротрубочках - и используем конфокальный микроскоп с вращающимся диском для наблюдения движения микротрубочек и их организации в нервных и иных клетках. Далее мы будем исследовать транспортировку одного из типичных аксон-специфичных белков, синаптоагмина, меченного GFP. Эксперименты будут осуществляться на отдельных нейрональных клетках, выделенных из мозга дрозофил, и также в моторных и сенсорных нейронах личинок дрозофил. Этим проектом мы постараемся как разобраться в верности одной из двух упомянутых моделей транспорта, так и в целом изучить транспорт и сортировку нейрональных белков.

The aim of this laboratory is to understand the mechanism of specific targeting of cargoes in neurons in culture, and in animals. Neurons are the core components of animal nervous system. They are the most polarized cells in animal bodies. Transport of specific cargoes into specific neuronal zones (axons versus dendrites) is highly regulated – some proteins are transported only to axons, while others are targeted to dendrites. Misregulation of cargo trafficking is linked to multiple neurodegenerative diseases. Microtubules serve as the tracks for cargo transport, and microtubule motor proteins are ATPases that transport various cargoes along microtubule tracks in highly polarized neurons. Two models can explain why axonal cargoes are excluded from dendrites: (1) axonal cargoes are directly targeted and

transported into axons; (2) axonal cargoes are transported randomly and later sorted out from dendrites.

In this laboratory, we will first employ genetic tools and fluorescent confocal microscopy to apply marks to microtubules and cargoes, and use spinning disk/confocal microscope to examine how microtubules are moved and organized in the neuronal and non-neuronal cells. In the second part of the lab we will track the movement along microtubules of an axonal cargo, Synaptotagmin, tagged with GFP. The experiments will be performed in cultured single neurons isolated from *Drosophila* brains, and in motor and sensory neurons in live *Drosophila* larvae. These experiments will allow us to distinguish between two current models, and help us to better understand mechanisms of transport and sorting of neuronal proteins.

Лаборатория транспозонов

Руководитель: Хосе Луис Гарсиа Перес



Laboratory of transposons

Head of laboratory: Jose Luis Garcia Perez

Примечательным явлением живого мира является наличие в геномах - в т.ч. в человеческом - ДНК-элементов, способных перемещаться в из одного места генома в другое. Такие элементы называются транспозонами. Своей мобильностью они могут вызывать в геноме новые мутации. В нашей лаборатории мы проведём эксперименты по изучению и визуализации того, как именно участки ДНК перемещаются в геноме. Эксперименты будут проводиться на культуре человеческих клеток с использованием специализированных и самых современных генетических технологий. Среди прочего, мы изучим, как на частоту активации транспозонов в клетках влияет их окружение.

It is remarkable that the human genome contains fragments of DNA (termed Transposable Elements) that can move from one place to other within our genome. Because of their mobility, Transposable Elements can generate mutations in genomes. In our laboratory at the School, we will conduct experiments to understand and visualize how stretches of DNA can move in our genome, using cultured human cells. Briefly, we will use genetic assays in cultured cells to visualize and quantify how often a Transposable Element can move in our genome. Additionally, we will test how the environment affect the frequency of Transposable Element mobilization.

Лаборатория биофизики

Руководитель: Дмитрий Нечипуренко

Laboratory of biophysics

Head of laboratory: Dmitry Nechipurenko



«Фактор фон Виллебранда и две стороны Силы». Осложнения, вызванные формированием тромбов, – инфаркты и инсульты – печально известны как лидирующая причина смертности и инвалидности людей в развитых странах. За последние годы учеными получено множество доказательств того, что важнейшую роль в формировании наиболее опасных артериальных тромбов, образующихся в условиях быстрого потока крови, играют мультимеры фактора фон Виллебранда – самого крупного белка кровотока. Данный белок учёные в шутку называют рыцарем Джедаем кровотока за его уникальную способность использовать силу течения для изменения своей пространственной конфигурации и последующей остановки кровотока. По всей видимости, переход этого микроскопического Джедая на тёмную сторону Силы в условиях экстремальных течений зачастую приводит к формированию тромбов, представляющих серьёзную угрозу для жизни. Целью нашего научного проекта является изучение влияния различных параметров потока крови на структуру мультимеров фактора Виллебранда. Для достижения поставленной цели мы будем использовать методы компьютерного моделирования, разнообразные экспериментальные данные, а также ресурсы удалённых суперкомпьютеров для ускорения вычислений.

«Von Willebrand factor and two sides of the Force». Formation of thrombus within the blood vessel is a major cause of life threatening conditions like ischemic stroke and myocardial infarction. Despite enormous scientific effort, thrombosis-associated complications remain the leading cause of mortality and morbidity in developed countries. Recent studies revealed an important role of von Willebrand factor in formation of the most dangerous arterial thrombus. This huge multimeric protein represent the biggest molecule of human blood and was recently nicknamed “the Jedi knight of the bloodstream” for its unique ability to use the force of the blood flow to stop bleeding. It looks like this microscopic Jedi knight might also join the dark side of the Force under extreme flow conditions and support the formation of deadly thrombus. The basic goal of our research project is analysis of conformational dynamics of von Willebrand factor in different flow conditions for better understanding of the processes driving the formation of pathological thrombus. In order to achieve this goal we plan to exploit computational modeling approaches along with various experimental data and supercomputer-aided calculations.

**Лаборатория
биологии развития**

Руководители:
Кристина Пухадес
и Берта Алсинья

**Laboratory
of developmental biology**

Heads of laboratory:
Cristina Pujades
and Berta Alsina



Как возникают органы? Одна из загадок жизни – как из единственной клетки, зиготы, по ходу эмбриогенеза возникают столько разные типы клеток и целые органы. Мы уже понимаем, что клетки дифференцируют благодаря активации определённых генов, а органы возникают при сборке клеток в сложные 3D-структуры. Но как эти процессы запускаются и контролируются во времени и в пространстве? Наши исследования посвящены фундаментальным вопросам формирования органов и изучения регуляции соотв. генов, клеточной пластичности, плюропотенции, клеточного поведения. Есть основания считать, что разгадки этих вопросов запрятаны в двух нейро-структурах: так называемый задний мозг (часть ЦНС), и внутреннее ухо (сенсорный орган). Мы используем в качестве модельного организма эмбрионы хорошо изученной zebrafish – т.к. это позволят сочетать наблюдения микроскопии высокого разрешения с мощными инструментами генетических манипуляций.

Наш первый проект: роль Lmx1b в развитии волосковых клеток внутреннего уха и регуляция этого процесса сигнальным каскадом FGF. Внутреннее ухо - один из самых «изопрённых» сенсорных органов в голове человека, отвечающий за слух и пространственный баланс. Дисфункция внутреннего уха вызывает головокружения и даже глухоту. Сенсорная информация в этом органе собирается специальными - так называемыми «волосковыми» - клетками. Ген Lmx1b, являющийся транскрипционным фактором, вовлечён в развитие волосковых клеток - что подтверждается фактом проблем со слухом у мышей с мутациями в этом гене. В нашем проекте мы используем молекулярно-биологические методы для создания нескольких линий трансгенных zebrafish с различными регуляторными элементами локуса гена Lmx1b – что собственно и позволит изучить его регуляцию. Также, мы проанализируем экспрессию Lmx1b в линиях с мутациями в сигнальном каскаде FGF3 и в трансгенных линиях с оверактивированным FGF3 – для изучения того, как этот каскад влияет на экспрессию Lmx1b. Наконец, мы визуально проанализируем пространственную экспрессию Lmx1b, используя конфокальную микроскопию.

Второй проект: регуляция нейрогенеза в заднем мозге эмбрионов. Ромбовидный мозг, он же задний мозг - третья и самая глубоко расположенная полость мозга. В процессе эмбриогенеза этот орган сегментируется на метамеры (также называемые «ромбомерами», rhombomeres), которые взаимодействуют через интерфейсы из специальных клеток, популяция которых получила название rhombomeric boundary cell population (rBCP). Что известно о ней на данный момент: (i) эта популяция клеток не задействована в раннем нейрогенезе, (ii) она выступает в качестве сигнального центра, (iii) она формируется за счёт популяционно-специфической пролиферации клеток. Отталкиваясь от этих наблюдений и вооружась самыми современными экспериментальными методиками, мы ставим целью нашего проекта изучить (на zebrafish) пролиферацию и поведение клеток, составляющих rBCP. Конкретные вопросы, которым мы уделим внимание в проекте: (i) как именно различные сигнальные пути, связанные с гомеостазом клеток-предшественников (например, Notch и Hippo), взаимодействуют в rBCP и (ii) какова связь между процессом пролиферации клеток и скоростью дифференцировки, при развитии заднего мозга.

Наконец, третий наш проект: клональные взаимодействия и поведение нейрональных клеток-предшественников в заднем мозге. Задний мозг содержит множество различных клеток и клеток-предшественников. Мы хотим разобраться в том, как клеточное поведение связано с типизацией клеток-предшественников. Для это необходимо (i) разобраться, что такое «тип» для изучаемых клеток и (ii) разобраться, какова «линия» для данных клеток. По определению, «линией» для клеток является последовательность делений, ведущая к клеткам данного типа - и существуют разные способы получения информации о линиях клеток. В нашем исследовании мы будем изучать специальную трансгенную разновидность рыб, называемую ZebraBow. Иницируя рекомбинационные события в клетках этих рыб, мы будем отслеживать образующиеся комбинации генов – т.к. каждый из них дополнен флуоресцентной меткой какого-то светящегося белка (GFP, FRP или YFP). Рекомбинация происходит случайно, «раскрашивая» рыбу в разные цвета - отсюда и название этой разновидности рыб (ZebraBow - по аналогии с хорошо известными Zebrafish и от слова rainbow, радуга). В дальнейшем, рекомбинации необратимы – и возникший в предковых клетках цвет сохраняется в клетках-потомках, и на эмбриональной, и на личиночной стадии. Иницируя рекомбинацию в рыбах, мы будем наблюдать за ними на различных стадиях развития, воочию в конфокальном микроскопе отслеживая, по цветам, распределение различных клеточных линий заднего мозга и изучая клеточное поведение.

How organs are built? One of the mysteries of life is how from a single cell, the zygote, all the different organs and cell types are originated during embryogenesis. We are aware that a cell is different to another because activates different genes and that to generate an organ different cells have to ensemble in complex 3D structures. But how is this achieved and coordinated during time and space? Our team will deal with fundamental questions regarding how organs are generated by studying gene regulation, cell identity, pluripotency and cell

behavior. These general questions will be tackled in two neural structures, the hindbrain from the CNS and the inner ear, a sensory organ. We use zebrafish embryos as model system because it allows to combine high-resolution in vivo imaging with the power of genetics.

Our first project: Role of Lmx1b in the Hair Cell development of the inner ear and its regulation by FGF signaling pathway. The inner ear is one of the most sophisticated sensory organs of our head, responsible for the senses of hearing and balance. Dysfunction of the inner ear results in deafness or vertigo. Sensory information is captured by specialized cells, the Hair Cells (mechanosensory cells) and Supporting Cells present in precise locations in the inner ear. Lmx1b, a transcription factor, is a gene involved in Hair Cell development and the mouse mutant for this gene results in hearing problems. We will use molecular biology tools to generate several transgenic zebrafish lines with regulatory elements of Lmx1b locus to study how this gene is regulated. We will also analyse the expression of Lmx1b in mutant fishes of FGF3 and in transgenic fishes that overactivate FGF3 to investigate how this pathway might regulate Lmx1b expression. Finally, we will image by confocal microscopy the expression of Lmx1b in 3D using a reporter line.

The second project: Neurogenesis regulation in the embryonic posterior brain-Instructors Adrià Voltes and Cristina Pujades. The rhombencephalon or hindbrain is the third and posterior-most vesicle of the brain. During embryogenesis, the hindbrain is transiently segmented into metameres known as rhombomeres. At rhombomeric interfaces a particular cell population is specified, the so-called rhombomeric boundary cell population (rBCP). So far, few things are known about the rBCP: i) it does not engage into early neurogenesis as the rest of hindbrain progenitors do, ii) it acts as a signalling centre that contributes to hindbrain patterning, and iii) it has population-specific proliferative properties. Bearing this in mind, and taking full advantage of the experimental toolkit available for zebrafish, the aim of this project is to study the interplay between cell fate decisions and cell behaviour in the rBCP. We will address the following questions: i) how do different signalling pathways relevant for progenitor homeostasis (Notch and Hippo pathway) interact in the rBCP? And ii) what is the relationship between proliferative behavior and differentiation rate in the developing hindbrain?

The third project: clonal relationships and cell behavior of neuronal progenitors in the hindbrain. The hindbrain is composed of many different cell/ progenitor types. We want to understand how cell behavior relates to cell/ progenitor identity. For this it is essential a) to know what is the identity of a given cell and b) what is the lineage of that cell. By definition the lineage of a cell is the sequence of division that have led to this cell and there are different ways to generate knowledge about cell lineage. We will be taking advantage of a transgenic fish line called “Zebrabow”. Treatment of *Zebrabow* embryos leads to recombination events in a subset of cells and as a consequence yields a combinatorial expression of spectrally distinct fluorescent proteins (RFP, YFP and CFP). As the recombination events are random, many different colors can be found in the fish, hence the name “*Zebrabow*” from rainbow. Further recombination is irreversible and colors are inherited equally among daughter cells and remain stable throughout embryonic and larval stages. We will treat *Zebrabow* embryos,

image them at different time points in development in the confocal microscope and reconstruct the lineages of hindbrain cells to understand better cell behavior of different progenitor populations.

Сопроводительный материал / Supplementary materials

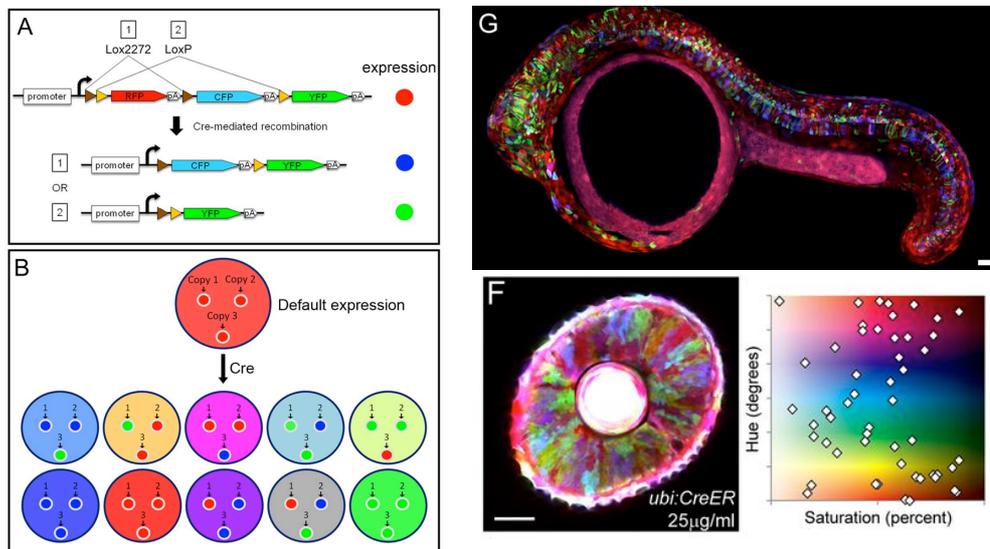


Иллюстрация (с изменениями) из: Pan et al. *Development*, 2013. *Zebrafish: multispectral cell labeling for cell tracing and lineage analysis in zebrafish*.

A) Cre-рекомбинация сайтов Lox в кассете zebrafish. B.) В геноме присутствует несколько копий кассет. Комбинация рекомбинационных событий предопределяет уникальный цвет клеток. G) Эмбрион zebrafish через 20 часов после фертилизации. F) Цветовой профиль клеток сетчатки.

Modified from: Pan et al. *Development*, 2013. *Zebrafish: multispectral cell labeling for cell tracing and lineage analysis in zebrafish*.

A) Cre mediated recombination at Lox sites within the zebrafish cassette. B.) Several copies of the zebrafish cassette are present in the genome. The combination of recombinations determines the “unique” color of the cell. G) Zebrafish embryo 20 hours past fertilization. F) Color profile of cells of the retina (left) shown in HSB (Hue Saturation (Brightness)) color space.

**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 актуальных, терапевтически важных белков-мишеней. Образовательная составляющая проекта включает обсуждение разнообразных тем биологии и биомедицины: устройство и функционирование белков, предсказание их структур и функций / физика взаимодействий белков с лигандами, моделирование таковых процессов / некоторые «горячие темы» на стыке молекулярной биологии и биомедицины (RNA-интерференция, механизмы работы иммунной системы, целевая доставка лекарств и пр.). Научная составляющая проекта включает изучение и использование современных методов моделирования белковых структур и белок-лигандных взаимодействий, с применением актуальных биологических ресурсов по генам, белкам, низкомолекулярным соединениям, лекарственным препаратам и пр. В этом году мы хотим изучить молекулярный механизм действия нашумевшего препарата мельдонииум, ставшего причиной множества громких допинг-скандалов. Также нами будут рассмотрены новые перспективные белки-мишени антираковой терапии, и произведены предсказания потенциальных ингибиторов для этих белков. И как традиционно случается в нашей лаборатории, новые интересные задачи и конкретные белковые мишени могут появиться «динамически», по ходу проекта.

The main goal of our project is to give our students an overview of modern rational drug design and computational approaches to drug discovery. Our students will use corresponding tools and methods in order to search for potential ligands for therapeutically promising protein targets. The educational process will include theoretical lectures: general principles of protein structural organization and diversity of protein structures and functions / prediction of protein structures and functional properties / physics of protein-ligand interactions and modelling it / some “hot” topics on the boundary of molecular biology and biomedicine (RNA interference, molecular mechanisms in immune system, drug targeting, etc.). The skills students will get in the project: experience in a modern professional software for modeling protein structures and protein-ligand interactions using various actual science resources and databases (on genes, proteins, small molecules, drugs and others). This year we want to investigate the molecular mechanisms of action for the infamous pharmaceutical meldonium that was the reason for many juicy scandals in sports. Additionally, we are going to analyze new perspective cancer-related protein targets and to perform prediction of potential inhibitors for them. Finally, as is usually the case in our lab, some new tasks and targets can arise as the work advances of the project process.

