



School of molecular
and theoretical biology

SMTB-2022t



SMTB-2022t Labs

Лаборатории ШМТБ-2022т

Lab01 Bioinformatics Lab // Лаборатория биоинформатики	3
Lab02 Prairie Vole CRISPRi group // Группа CRISPRi степных полёвок	7
Lab03 Bacterial Genetics for Beginners // Бактериальная генетика для начинающих	8
Lab04 Laboratory of Transcriptional Memory // Лаборатория транскрипционной памяти	9
Lab05 B cell immunology and antibody lab // Лаборатория иммунологии и антител В-клеток	11
Lab06 Computational Genomics lab (Mangul lab) // Лаборатория вычислительной геномики (Лаборатория Мангула)	12
Lab07 Coronavirus interactome lab ("Minni" lab) // Лаборатория интерактома коронавирусов ("Минни"-лаборатория)	13
Lab08 Automated experimental evolution // Автоматизированная экспериментальная эволюция	16
Lab09 Unknown Protist lab // Лаборатория неизвестных протистов	17

Lab01 Bioinformatics Lab // Лаборатория биоинформатики

Group leader: Olga Vochkareva // **Руководитель:** Ольга Бочкарёва

Team: Lada Isakova, Sofia Buyanova // **Сотрудники:** Лада Исакова, Софья Буянова

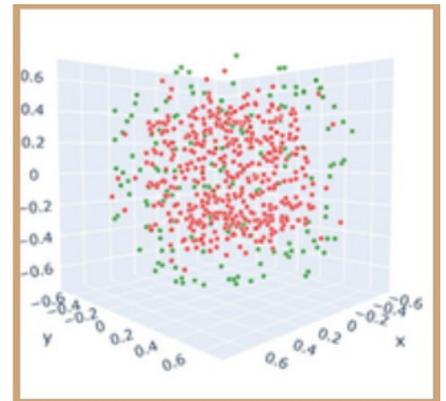
Project 1. What does the protein sequence universe look like?

Project leader Lada Isakova

What is this project about?

Different organisms have a lot of similar genes. For example - nearly all vertebrates have hemoglobin genes performing a similar function and resembling each other by sequence. In most cases, such genes evolve from a common ancestral gene and are called orthologs. Some genes are more conserved than others and retain nearly the same sequence even after hundreds of millions of years of independent evolution, while others can have almost entirely different sequences in the closely related species.

The evolutionary distance between biological sequences can be displayed on the N-dimensional map called sequence space where sequences are represented by individual dots. In this project, we are interested in the geometrical properties of this protein sequence space. Same as we can say that a line is 1-dimensional, a sheet of paper is 2-dimensional and a sphere is 3-dimensional, we will find out whether the set of sequences of a particular protein rather resembles a patch of tissue, a donut, a sphere or something multidimensional and complex, that may even be impossible to imagine with our 3D-adapted mind. The shape and the dimension of the protein sequence space may contain information about the fundamental constraints on the evolution of individual proteins.



What are we going to do during this project?

We have previously developed a way to measure the dimension of a space occupied by homologs of a given protein. Our preliminary data indicates there is a correlation between the dimension of a protein family and its conservation level as well as the selection strength on the protein sequence. We will test how robust is this estimation if we take random subsamples of sequences or proteins from groups of organisms on a phylogenetic tree. We will also compare the dimension of the corresponding protein orthogroups at the different evolutionary levels (for example - genus, class, and domain) and subfamilies of proteins formed by accumulation of mutations in gene copies (paralogs).

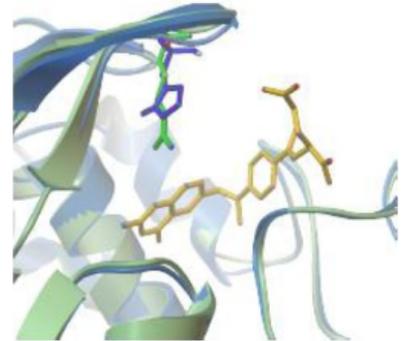
What will you learn?

To analyze different types of data (alignments, matrices, tables) using basic bioinformatic programs (command line and graphical interface), write and run Python scripts, apply statistical tests, and interpret the results.

Project 2. Analysis of human disease with exome sequence association data

Project leader Sonya Buyanova

Genetic diseases may be caused by a single well-studied mutation, or may be associated with changes in multiple genes that together increase the likelihood of developing the disease. They are called complex or polygenic diseases. There are methods that allow to trace the relationship between the disease and underlying genetic factors, and 54189 articles have been published on the most popular of them, called genome-wide association studies (GWAS). Despite the amount of research, it is still difficult to understand exactly what function of the protein was altered by a particular mutation, which molecular processes will be affected and how this contributes to the phenotype. We will explore the existing data to suggest a solution to this problem.



What are we going to do during this project?

In a study of 450 thousand human exomes researchers calculated associations of coding single nucleotide polymorphisms (SNPs) with nearly four thousand phenotypic traits, such as diabetes, BMI and height. We will use their results limiting them to those SNPs affecting amino acids in ligand binding sites to answer the following questions: Which biochemical pathways these changes alter? Which cells are the most affected? Is there any other data or literature that can help us understand how exactly these SNPs are connected and how they influence the human body?

What will you learn?

How to work with a large amount of different genomic information, such as expression data (GTEx, Human Protein Atlas, GEO), GWAS and seqWAS summary statistics. You will apply exploratory data analysis, statistics and biologically interpret the results.

//

Проект 1. Как выглядит вселенная белковых последовательностей?

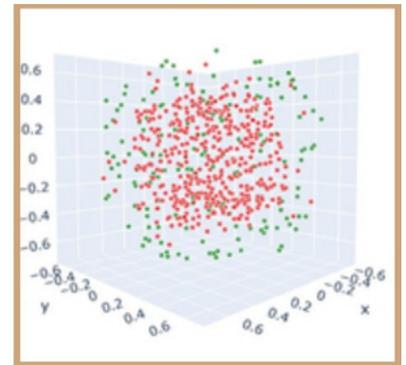
Руководитель проекта: Лада Исакова

О чем этот проект?

Разные организмы имеют много похожих генов. Например - почти у всех позвоночных есть гены гемоглобина, выполняющие аналогичную функцию и похожие друг на друга по последовательности. В большинстве случаев такие гены произошли из одного предкового гена и называются ортологами. Некоторые гены более консервативны, чем другие, и сохраняют почти точно такую же последовательность даже после сотен миллионов лет независимой эволюции, в то время как другие могут иметь очень разные последовательности даже среди достаточно близких видов.

Эволюционное расстояние между последовательностями можно отобразить на N-мерной карте, называемой пространством последовательностей, где последовательности представлены отдельными точками. В этом проекте нас будут интересовать геометрические свойства

пространства белковых последовательностей. Так же, как мы можем сказать, что линия одномерна, лист бумаги двумерен, а сфера трехмерна, мы выясним, является ли совокупность последовательностей того или иного белка скорее похожим на клочёк ткани в пространстве, пончик, сферу или что-то многомерное и сложное, что невозможно представить с нашим воображением адаптированным к 3D миру. Мы предполагаем что форма и размерность пространства белковых последовательностей могут содержать информацию о фундаментальных ограничениях на эволюцию отдельных белков.



Что мы будем делать?

Ранее мы разработали способ измерения размерности пространства, занимаемого гомологами данного белка. Наши предварительные расчеты показывают, что существует корреляция между размерностью семейства белков и уровнем его консервативности, а также силой отбора на последовательность белков этого семейства. В ходе проекта мы проверим, насколько устойчива эта оценка на разных эволюционных расстояниях. Для этого мы возьмем разные подвыборки наших данных, как случайные, так и соответствующие группам организмов на филогенетическом дереве. Мы также сравним размерности соответствующих белковых семейств на разных эволюционных расстояниях, а также размерности подсемейств при эволюционном расхождении копий белков (паралогов).

Чему вы научитесь?

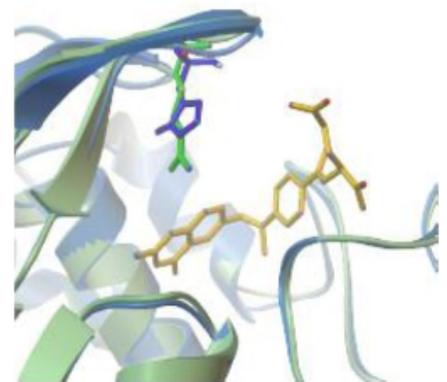
Обращаться с разными типами биологических данных (выравнивания, матрицы, таблицы), анализировать их с помощью биоинформатических программ, писать и запускать скрипты на Python, применять статистические тесты и интерпретировать результаты.

Проект 2. Анализ ассоциаций кодирующих областей в заболеваниях человека

Руководитель проекта: Софья Буянова

О чем этот проект?

Генетические заболевания бывают вызваны одной хорошо изученной мутацией, а бывают связаны с изменениями во множестве генов, которые в сумме повышают вероятность развития болезни. Они называются комплексные или полигенные заболевания. Существуют методы, которые позволяют проследить связь между заболеванием и генетическими факторами, и, например, по самому популярному из них (GWAS) было опубликовано 54189 статей. Несмотря на количество исследований, все еще трудно точно понять, какая функция белка нарушена конкретной мутацией, какие молекулярные процессы затронуты и как это влияет на фенотип. Мы изучим существующие данные, чтобы попытаться предложить решению этой проблемы.



Что мы будем делать во время этого проекта?

Недавно исследователи посчитали ассоциации кодирующих однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в экзомах 450 тысяч человек с почти 4 тысячами фенотипических признаков, таких как диабет,

ИМТ и рост. Мы отсортируем из SNP только те, которые изменяют аминокислоты в сайтах связывания лигандов, чтобы ответить на следующие вопросы: Какие биохимические пути нарушают эти изменения? Какие типы клеток больше всего страдают? Есть ли какие-либо другие данные или литература, которые могут помочь нам понять, как именно связаны эти SNP и как они влияют на организм человека?

Чему вы научитесь?

Находить и работать с большим количеством разной геномной информации, например с данными экспрессии (GTEx, Human Protein Atlas, GEO), GWAS и seqWAS summary statistics. Применять exploratory data analysis и статистику, интерпретировать результаты.

Lab02 Prairie Vole CRISPRi group // Группа CRISPRi степных полёвок

Group leader: Zoe Donaldson // **Руководитель проекта:** Зои Дональдсон

Team: Liza Brusman, Julie Sadino // **Сотрудники:** Лиза Брусман, Джули Садино

Very few mammalian species pick a mating partner for life. One such animal is a small rodent that lives in North America called the prairie vole. Unlike lab mice and rats, prairie voles form lifelong partnerships called pair bonds. Scientists have brought prairie voles into the lab to study what makes their brains capable of forming and maintaining pair bonds. In this project, we will develop new tools that we can use to change the expression of genes in the brain. By manipulating expression of different genes, we aim to prevent pair bonds from forming or break them after they've formed.

In this class, students will learn about CRISPR, a technology that allows us to change gene expression in prairie vole brains. We will use molecular cloning to build pieces of DNA to target specific genes that we think could prevent or break pair bonds. The techniques we will use in this course are widely used in molecular biology, even beyond this specific project.

//

Существуют редкие виды млекопитающих, выбирающих партнера на всю жизнь. Одним из таких животных является небольшой грызун, обитающий в Северной Америке - называемый "степной полёвкой". В отличие от лабораторных мышей и крыс, степные полёвки образуют партнерские отношения на всю жизнь (такие отношения ещё называют "парными связями"). Учёные разводят степных полёвок в лабораториях, чтобы изучить, что именно делает их мозг способным формировать и поддерживать крепкие парные связи. В нашем проекте мы разрабатываем новые инструменты, которые сможем использовать для изменения экспрессии генов в мозге. Управляя экспрессией различных генов, мы стремимся предотвратить образование парных связей или разорвать их после того, как они образовались.

В этом проекте участники узнают о CRISPR - технологии, которая позволяет нам изменять экспрессию генов в мозге луговых полевок. Мы будем использовать молекулярное клонирование для создания фрагментов ДНК, нацеленных на конкретные гены, которые, по нашему мнению, могут предотвратить или разрушить парные связи. Методы, которые мы будем использовать в этом проекте, широко используются в молекулярной биологии, в т.ч. за пределами этого конкретного исследования.

Lab03 Bacterial Genetics for Beginners // Бактериальная генетика для начинающих

Group leader: Mike Hennessey-Wesen // **Руководитель:** Майк Хеннеси-Везен

Team: Louisa Gonzalez Somermeyer // **Сотрудники:** Луиза Гонзалес Сомермейер

In this hands-on lab course, students will be guided through some of the fundamental techniques of working in a bacterial genetics or synthetic biology laboratory. We will primarily use *Escherichia coli* as our model organism as we explore phage transduction, fluctuation tests, lambda-red recombineering, and other common techniques. In addition, students will use the skills they learn to address real, open questions in the instructors' area of research: spontaneous mutation rates.

This lab course is intended for students who want to work in a wet-lab environment but have not yet had the opportunity. While we will be starting from basics, students who already have some laboratory experience may also find the course worthwhile as well.

//

В нашем экспериментальном проекте школьники познакомятся с некоторыми из основных методов для работы в лабораториях бактериальной генетики и синтетической биологии. Мы будем использовать, главным образом, *Escherichia coli* в качестве нашего модельного организма - поскольку мы исследуем фаговую трансдукцию, флуктуационные тесты, рекомбинацию лямбда-красного и другие распространенные методы работы с этим организмом. Кроме того, школьники будут использовать полученные навыки для решения реальных, открытых вопросов в области наших научных исследований - изучение скорости спонтанных мутаций.

Наш проект "нацелен" на школьников, которые хотят работать в именно в "мокрой" (экспериментальной) лаборатории, но пока не имели такой возможности. И, хотя мы начнем с основ, проект также может оказаться полезным и для школьников, у которых уже есть некоторый лабораторный опыт.

Lab04 Laboratory of Transcriptional Memory // Лаборатория транскрипционной памяти

Group leader: Anna Kogan // **Руководитель:** Анна Коган

Transcriptional memory is the ability of cells to “memorise” a signal and react to it faster and more actively upon the second exposure. Interestingly, such memory can be maintained in a single cell, inherited for several generations, and is also reversible. Upon the second pulse of a signal, cells start rapid transcription of specific genes, which leads to an increase in specific mRNA and protein accumulation. This phenomenon presents a rare case when some genes stay in an active (or “primed” state) without being actively transcribed. It can also turn out to be the cellular basis of “trained immunity” – a physiological phenomenon where organisms (even the ones that lack adaptive immunity, e.g., plants) still exhibit increased resistance to secondary infections. Here, we will be studying a line of human cancer cells (HeLa) and inducing signalling with IFN-gamma – a molecule produced when an organism encounters an infection. We will aim to understand the dynamics of transcription over time and use it to infer potential mechanisms of transcriptional memory.

We will look at microscopy images of the cells where the intensity of specific fluorophores corresponds to the transcriptional levels. Our goal is to use image analysis software and R scripts to get quantitative data from these images and make plots representing the dynamics of transcription. Ultimately, we will aim to come up with a hypothesis of how transcriptional memory can occur.

//

Транскрипционная память – это способность клеток запоминать определенные сигналы и реагировать на них быстрее и активнее при повторной встрече. Клетки могут довольно долго сохранять такую память и даже передавать ее своим потомкам, но со временем они возвращаются в исходное состояние. При повторной встрече с сигналом, запускается транскрипция определенных генов, в результате чего мРНК и белки, кодируемые этими генами, накапливаются быстрее. Получается следующий любопытный феномен: гены поддерживаются в активном или «подготовленном» состоянии, при том, что никакой активной транскрипции обнаружить не удастся. Транскрипционная память интересна еще и потому, что может оказаться, что ей опосредован феномен “натренированного иммунитета” (trained immunity) – это когда организмы (даже те, у которых нет адаптивного иммунитета, например растения), показывают повышенную устойчивость к повторным инфекциям. В лаборатории мы будем изучать транскрипционную память на раковых клетках человека (HeLa), запуская сигнальные каскады интерфероном гамма – это молекула, которая производится в организме, когда он встречается с инфекцией. Мы постараемся понять динамику транскрипции и использовать ее, чтобы разобраться в механизмах транскрипционной памяти.

В рамках данного проекта мы возьмем снятые на микроскоп изображения клеток, в которых яркость определенных флуорофоров коррелирует с уровнем транскрипции интересующих нас генов. Нашей целью будет получить количественные данные по этим изображениям, используя программы для

анализа изображений и коды в R, и построить графики, показывающие динамику транскрипции. В итоге мы постараемся предложить гипотезу, объясняющую механизм транскрипционной памяти. Базовые навыки программирования приветствуются, но не обязательны – мы объясним вам основы и поможем разобраться в необходимых программах.

Lab05 B cell immunology and antibody lab // Лаборатория иммунологии и антител В-клеток

Group leader: Sergei Koralov // **Руководитель:** Сергей Коралов

Team: Tim Borbet, Briana Mullins // **Сотрудники:** Тим Борбет, Бриана Маллинс

Students will take advantage of cell culture and molecular techniques to explore the impact of mutations on terminal B cell differentiation and antibody production. The laboratory course will cover discussion of basic immunology, gene targeting and antibody technology. The immersive lab will cover standard immunology/molecular techniques including flow cytometry, basic immuno-staining, and PCR/electrophoresis.

//

В нашем проекте школьники будут работать с клеточными культурами и молекулярными методами для изучения влияния мутаций на терминальную дифференцировку В-клеток и выработку антител. Сопряжённый с проектом курс будет посвящён введению в основы иммунологии, методам "нацеливания" генов и технологиям антител. А непосредственно лабораторная (экспериментальная) работа будет охватывать стандартные иммунологические/молекулярные методы - включая проточную цитометрию, базовое иммуноокрашивание и ПЦР/электрофорез.

Lab06 Computational Genomics lab (Mangul lab) // Лаборатория вычислительной геномики (Лаборатория Мангула)

Group leader: Serghei Mangul // **Руководитель:** Сергей Мангул

Team: Cynthia Ronkowski, Viorel Munteanu // **Сотрудники:** Синтия Ронковски, Виорель Мунтеану

Computational data-driven research focuses on developing and applying computational methods across various types of omics datasets. Such research is performed in a new type of laboratory, often called a dry lab. Our team designs, develops and applies novel and robust data-driven, computational approaches that will accelerate the diffusion of genomics and biomedical data into translational research and education. We believe in data analysis transparency, effective sharing, reproducibility, software usability, and archival stability to foster a sustainable data science ecosystem in biomedical research.

//

Наш проект посвящён вычислительной биологии и сфокусирован на разработке и применении компьютерных методов для различных типов "омиксных" (omics) данных. Такие исследования очень востребованы в лабораториях нового типа - это ещё называют "сухой" (теоретической) биологией. Наша команда проектирует, разрабатывает и применяет новые и надежные вычислительные подходы, основанные на данных, которые ускорят распространение геномных и биомедицинских данных в трансляционных исследованиях и в образовании. Мы верим в прозрачность анализа данных, эффективное совместное использование, воспроизводимость, удобство использования программного обеспечения и стабильные хранилища информации для создания устойчивой экосистемы науки о данных (data-science) в современной биомедицине.

Lab07 Coronavirus interactome lab (“Minni” lab) // Лаборатория интерактома коронавируса (“Минни”-лаборатория)

Group leader: Aigul Minnegalieva // **Руководитель:** Айгуль Миннегалиева

Team: Luba Shestakova, Anastasia Petrenko // **Сотрудники:** Люба Шестакова, Анастасия Петренко

In two years of the COVID-19 pandemic, scientists and other people learned a lot about SARS-CoV2. We have seen how the virus changes peoples' physiology - from minor effects, like losing a sense of smell, to thrombosis, widespread inflammation, and multiple organ failure. Moreover, we have seen how the virus evolves, and so the symptoms and complications of COVID-19. What do coronaviruses do to human cells, and to what extent do changes in their genome affect symptoms and disease progression? Answering this question can help to develop treatment strategies that will be effective against this and future coronavirus infections.

Coronaviruses have some of the largest genomes of all RNA viruses. Genomes of different coronaviruses are arranged similarly. The proteins they encode can be divided into three groups:

- Structural proteins. They are necessary for virion formation and its ability to infect and spread between hosts. The well-known spike protein, used as a target in many COVID-19 vaccines, belongs to this group.
- Non-structural proteins. These proteins are important for virus replication and that is why they are conserved between different coronaviruses. For example, RNA modification enzymes, virus polymerase and helicase are in this group.
- Accessory proteins. These proteins are not essential for virus replication and they can be different between coronaviruses. There is evidence that accessory proteins play important roles in pathogenesis, for example, impairing host immune response.

The global aim of our project is to study the function of accessory proteins in different coronaviruses and compare them to each other. For that, we first transfect human lung cell culture with individual viral proteins. Then we utilize a method that allows us to label proteins that come close for some time to our protein of interest. In our case, we want to know which human proteins come close to viral proteins. This can give us a hint about the functions of accessory proteins. Afterwards, we can pull down labeled “passers-by” and submit them to mass-spectrometry to identify which proteins they are. This method is called proximity labeling.

Proximity labeling requires good negative controls, so we need to perform the same experiment with proteins that are localized to the same part of a cell as our viral protein to remove nonspecific “passers-by”. One of the tasks during SMTB will be choosing suitable negative controls. For that, we will be investigating the sub-cellular localization of several coronavirus proteins using confocal microscopy with immuno-fluorescent staining.

As you might realize, the list of “passers-by” gets quite long, so we need to additionally verify interactions between viral and human proteins. One way of doing that is co-immunoprecipitation (co-IP). This method uses antibodies that bind to a “tag” on a protein to pull that protein out of cell lysate. If the protein we target

is involved in a protein complex, then we can precipitate the entire thing. In our case, we will be targeting viral proteins to see what human proteins they form complexes with. Thus, our second task during SMTB is to perform co-IP and then a western blot to visualize and verify our results from previous mass spectrometry.

In our laboratory, you will get to learn cell culture techniques, co-IP, protein gel electrophoresis and western blot, capture confocal images of cells, analyze experimental results, work with biological databases and study scientific papers. Previous experience with experimental lab work is not essential for participation; we will be happy to teach you everything we can.

//

За два года пандемии COVID-19 ученые многое выяснили о SARS-CoV2. Мы наблюдаем, как вирус меняет физиологию человека — от легких симптомов, таких, как потеря обоняния, до тромбоза, обширного воспаления и отказа органов. Кроме того, мы видим, как эволюционирует сам вирус, а вместе с ним, симптомы и осложнения COVID-19. Что коронавирусы делают с клетками человека? Насколько изменения в их геноме влияют на симптомы и течение заболевания? Ответ на этот вопрос может помочь в разработке стратегий лечения, которые будут эффективны против коронавирусов не только сейчас, но и в будущем.

Геномы коронавирусов — одни из самых больших среди всех РНК-вирусов. Геномы разных коронавирусов структурно похожи. Белки, которые они кодируют, можно разделить на три группы:

- Структурные белки. Они отвечают за образование вирионов, а также за способность распространяться между хозяевами и инфицировать их. К этой группе принадлежит известный «белок-шип» COVID-19, который многие прививки используют в качестве антигена.
- Неструктурные белки. Эти белки важны для репликации вируса, и поэтому они консервативны у различных коронавирусов. В эту группу входят модифицирующие РНК ферменты, вирусная полимераза и геликаза.
- Вспомогательные белки. Эти белки не обязательны для репликации, поэтому они могут отличаться у разных коронавирусов. Есть данные, что вспомогательные белки играют важные роли в патогенезе — например, подавляя иммунный ответ хозяина.

Глобальная цель нашего проекта — изучить функции вспомогательных белков у разных коронавирусов и сравнить их между собой. Для этого мы трансфицируем культуру клеток человеческого легкого отдельными вирусными белками. Затем мы используем метод, который позволяет нам маркировать белки самой клетки, которые приближаются к интересующему нас белку. В этом опыте нас интересует, какие белки человека приблизятся к вирусным белкам. После этого мы можем выделить маркированных «прохожих» и определить, какие это белки, на масс-спектрометрии. Этот метод называется proximity labeling.

Для proximity labeling важен надежный отрицательный контроль. Следовательно, нам необходимо повторить эксперимент с белками, которые локализируются в ту же часть клетки, что и вирусные белки, чтобы исключить неспецифичных «прохожих». Одна из наших задач на ШМТБ — выбрать подходящие отрицательные контроли. Для этого мы будем исследовать внутриклеточную

локализацию ряда коронавирусных белков, используя конфокальную микроскопию и иммунофлуоресцентное окрашивание.

Следует отметить, что список «прохожих» будет весьма обширным, поэтому также необходимо изучить, взаимодействуют ли вирусные белки с белками человека. Один из способов это выяснить — ко-иммунопреципитация (Co-IP). Этот метод использует антитела, которые связываются с «тэгом» на белке, чтобы выделить этот белок из клеточного лизата. Если этот белок входит в состав белкового комплекса, то комплекс можно выделить полностью. Мы будем выделять вирусные белки, чтобы увидеть, с какими белками человека они формируют комплексы в клетках хозяина. Следовательно, наша вторая задача на ШМТБ — провести Co-IP, а затем вестерн-блот, чтобы визуализировать и подтвердить результаты предыдущей масс-спектрометрии.

В нашей лаборатории вы научитесь работать с клеточными культурами, проводить со-IP, электрофорез белков в геле и вестерн-блот, фотографировать клетки с помощью конфокального микроскопа, анализировать экспериментальные результаты, пользоваться биологическими базами данных и изучать научные статьи. Для участия не обязателен опыт экспериментальной лабораторной работы — мы вам все обязательно расскажем и покажем.

Lab08 Automated experimental evolution // Автоматизированная экспериментальная эволюция

Group leader: Catalin Rusnac // **Руководитель:** Каталин Руснак

Experimental evolution is the study of evolutionary processes that can be observed over short timeframes - usually in fast-replicating organisms such as E.coli or bacteriophages. To study evolutionary changes in the lab, these organisms have to be kept under suitable growth conditions, allowing the population to evolve over many generations.

Replifactory is a device we developed for running evolution experiments. It can make automated dilution operations to maintain constant growth conditions for exponentially growing organisms. Replifactory is built from custom electronics, 3d printed components, pumps, labware, and runs using python software on a Raspberry pi.

There will be a few subprojects focused on the engineering and applications of this device: assembling the device, a demo experiment to illustrate how easily antibiotic resistance can arise, writing code for data visualization and hardware control, developing a setup for bacteriophage evolution experiments, etc. More details about possible subprojects are available on replifactory.com/smtb-2022.

//

Экспериментальная эволюция изучает эволюционные процессы, которые можно наблюдать на коротком промежутке времени, обычно не быстро воспроизводящихся организмах, таких как E.coli или бактериофаги. Чтобы изучать эволюционные изменения в лаборатории, эти организмы нужно содержать в подходящих условиях для их роста, позволяя популяции эволюционировать на протяжении многих поколений.

Replifactory - это устройство, которое мы разработали для проведения экспериментов в области эволюции. Оно может совершать автоматические действия по изменению концентрации, чтобы поддерживать условия для постоянного экспоненциального роста организмов. Replifactory изготавливается из специально изготовленного электронного оборудования, компонентов, распечатанных на 3D-принтере, насосов, лабораторного оборудования. Она работает на Raspberry pi и использует ПО, написанное на Python.

В нашей лаборатории будет несколько субпроектов, направленных на проектирование и приложения для этого устройства: сборка устройства, демо-эксперимент, чтобы проиллюстрировать, как легко может возникнуть антибиотикорезистентность, написание кода для визуализации данных и управления оборудованием, разработка схемы для экспериментов, связанных с эволюцией бактериофагов и т.д.

Узнать больше о субпроектах можно по этой ссылке: replifactory.com/smtb-2022.

Lab09 Unknown Protist lab // Лаборатория неизвестных протистов

Group leader: Daryna Zavadska // **Руководитель проекта:** Дарина Завадска

Team: Iryna Poplevicheva, Olia Sur // **Сотрудники:** Ирина Поплевичева, Оля Сур

Where no man has gone before

Swimming far away from the seashore, you are never alone in the surface layer of the sea. You are surrounded by a huge variety of microbial eukaryotes, also known as protists. Environmental DNA sequencing has revealed that the majority of protist species in the world's oceans have never been grown in laboratory cultures or even viewed under a microscope - we know about their existence solely from their DNA sequences. Therefore, there are thousands of marine protist species awaiting to be discovered and described.

In our project, we will attempt to obtain DNA sequences from some of the new protist species that were isolated from the seawater samples. We will investigate how they look and behave, how they relate to other eukaryotes and finally, what ecological niche they might occupy in the ocean. To achieve our goal, we will utilize a broad range of methods - from molecular cloning (which includes basic molecular biology techniques, like PCR, gel-electrophoresis and transformation of *E.coli*) to microscopy (both light and fluorescent), and, of course, bioinformatics (molecular phylogenetics and several important basic methods).

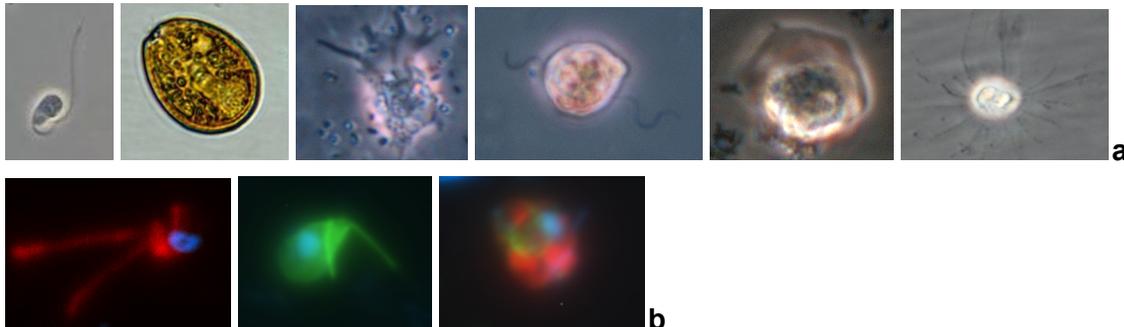


Fig. 1. Some protists you would meet in our lab. a) Light microscopy images; b) fluorescent/confocal microscopy images highlighting various cellular structures stained by fluorescent dyes.

//

Куда ранее не заглядывал никто

Плавая в море, и сколь угодно удаляясь от берегов, вы никогда не остаётесь одни. В поверхностном слое воды вас окружает огромное разнообразие микробных эукариот, также известных как протисты. Секвенирование ДНК окружающей среды Мирового океана показало, что большинство видов простейших из моря никогда не выращивались в лабораторных культурах и даже не рассматривались под микроскопом - мы знаем об их существовании исключительно из

последовательностей их ДНК. Таким образом, тысячи видов морских простейших ждут своего открытия и описания.

В нашем проекте мы попытаемся получить последовательности ДНК некоторых новых видов простейших, выделенных из образцов морской воды. Мы исследуем, как они выглядят и ведут себя, как они соотносятся с другими эукариотам и, наконец, какую экологическую нишу они могут занимать в экосистеме океана. Для достижения этих целей мы будем использовать широкий спектр методов — от молекулярного клонирования (которое включает основные подходы молекулярной биологии, такие как ПЦР, гель-электрофорез и трансформация *E.coli*) до микроскопии (как световой, так и флуоресцентной) до биоинформатики (молекулярная филогенетика и несколько других, важных, базовых методов).

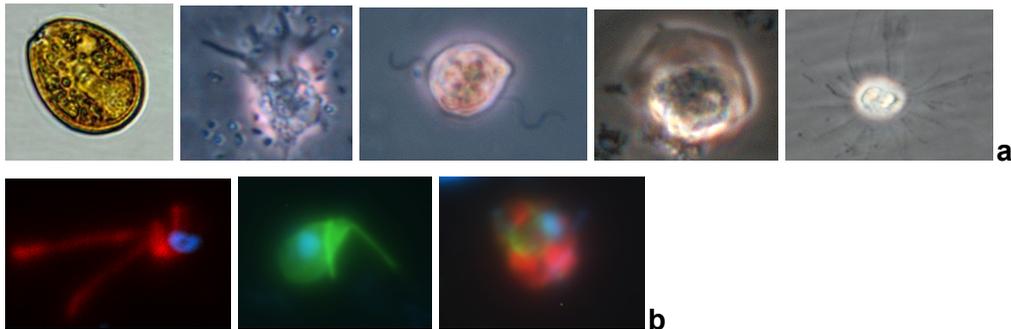


Рис. 1. Некоторые протисты, которых вы встретите в нашей лаборатории. а) изображения световой микроскопии; б) изображения флуоресцентной/конфокальной микроскопии, выделяющие различные клеточные структуры, окрашенные флуоресцентными красителями