

## Добро пожаловать! **Welcome!**



**Директор:**  
Марта Педреро Мотис

**Director:**  
Marta Pedrero Motis



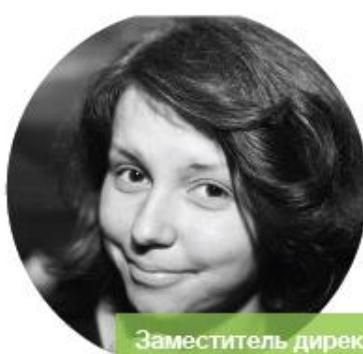
**Исполнительный директор:**  
Дмитрий Кокорин

**Director:**  
Dmitry Kokorin



**Научный директор:**  
Федор Кондрашов

**Academic director:**  
Fyodor Kondrashov



**Заместитель директора:**  
Мария Гаврюшина

**Deputy director:**  
Maria Gavryushina



**Менеджер проектов:**  
Анна Пузырева

**Project manager:**  
Anna Puzyreva

**Marta Pedrero Motis / Марта Педреро Мотис: +34 678-764-255**  
**Fyodor Kondrashov / Федор Кондрашов: +34 618-164-237**  
**Maria Gavryushina / Мария Гаврюшина: +34 635-504-947**

## ПРОЕКТЫ / PROJECTS

Лаборатория физики белка / *Дмитрий Иванков*  
Laboratory of protein physics / *Dmitry Ivankov*  
стр. 2 / page 2

Лаборатория анализа эволюции генных семейств насекомых / *Крушнамегах Кунте*  
Laboratory of analysis of the evolution on gene families in insects / *Krushnamegh Kunte*  
стр. 3 / page 3

Лаборатория бактериальной геномики / *Михаил Гельфанд*  
Laboratory of bacterial and functional genomics / *Mikhail Gelfand*  
стр. 5 / page 5

Лаборатория эволюции бактериальных геномов / *Дишна Агаши*  
Laboratory of bacterial genome evolution / *Deera Agashe*  
стр. 8 / page 8

Лаборатория белковых взаимодействий / *Джон ЛаКава*  
Laboratory of protein interactions / *John LaCava*  
стр. 11 / page 11

Лаборатория микротрубочек / *Никита Гудимчук*  
Laboratory of microtubules / *Nikita Gudimchuk*  
стр. 15 / page 15

Лаборатория врождённого иммунитета / *Лиза Лецинер*  
Laboratory of innate immunity / *Liza Leshchiner*  
стр. 16 / page 16

Лаборатория онкологии / *Андрей Пархитько*  
Laboratory of oncology / *Andrey Parhitko*  
стр. 18 / page 18

Лаборатория синтетической биологии / *Karen Sarkisyan and Katya Putintseva*  
Laboratory of synthetic biology / *Карен Саркисян и Катя Путинцева*  
стр. 21 / page 21

Лаборатория транспозонов / *Хосе Луис Гарсиа Перес*  
Laboratory of transposons / *Jose Luis Garcia Perez*  
стр. 23 / page 23

Лаборатория клеточных механизмов аутоиммунитета / *Кира Рубцова и Толя Рубцов*  
Laboratory of cellular autoimmunity / *Kira Rubtsova and Tolya Rubtsov*  
стр. 24 / page 24

Лаборатория нейродегенеративных заболеваний / *Наталья Родригес Муела*  
Laboratory of neurodegeneration / *Natalia Rodriguez Muela*  
стр. 25 / page 25

Лаборатория рационального дизайна лекарственных препаратов / *Пётр Власов*  
Laboratory of rational drug design / *Peter Vlasov*  
стр. 27 / page 27

## **Лаборатория физики белка**

Руководитель: Дмитрий Иванков

## **Laboratory of protein physics**

Head of laboratory: Dmitry Ivankov



Одной из самых важных проблем биологии является связь фенотипа с генотипом. В идеале хочется уметь предсказывать фенотип по генотипу, что на данный момент невозможно. Более реалистичная проблема – предсказание изменения фенотипа по генотипу. Для исследования этого вопроса ученые экспериментально измеряют фенотипы для многих генотипов.

Эти исследования показывают важную роль стабильности белка в его эволюции. Для предсказания дестабилизации белка вследствие мутации существуют программы, важно лишь знать трехмерную структуру белка. Однако часто трехмерная структура белка неизвестна. В нашем первом проекте мы будем исследовать, что же делать в этом случае – использовать предсказанную структуру или ближайшую похожую структуру.

Также наблюдаются отклонения фенотипов множественных мутантов от ожидаемых величин. Эта неаддитивность называется эпистазом. В зависимости от подхода исследования, существуют различные классификации эпистаза. В нашем втором проекте мы будем исследовать, как связаны различные типы эпистаза.

One of the most important problems in biology is how phenotype depends on genotype. The ultimate goal is to be able to predict phenotype from genotype, which is currently impossible. The far more realistic problem is to predict changes of phenotype from the changes of genotype. To understand the phenotype-to-genotype connection better, scientists experimentally measure phenotypes of many genotypes.

These studies show importance of protein stability in protein evolution. There are several programs to predict protein destabilization upon mutation from protein three-dimensional structure. However, the three-dimensional structure is often unknown. In our first project we explore, what is better to do in this case – to use predicted structure or to use the structure of a similar protein.

The phenotype-to-genotype experimental studies also show ubiquity of epistasis, where phenotype of multiple mutant deviates from that expected from the phenotypes of corresponding single mutants. Depending on the approach, there are different classifications of epistasis. In our second project, we will study the relationships between different types of epistasis.

## **Лаборатория анализа эволюции**

### **генных семейств насекомых**

Руководитель: Крушнамег Кунте



## **Laboratory of analysis of the evolution of gene families in insects**

Head of laboratory: Krushnamegh Kunte

В нашем проекте мы фокусируемся на эволюции и генетике паттернов крыльев бабочек – для чего проведём диссекцию образцов на различных стадиях развития и изучим процесс развития крыльев. Среди проводимых манипуляций будут ПЦР и секвенирование, за которым последуют интенсивный молекулярный анализ так называемых doublesex-генов, играющих ключевую роль в процессах развития и контролирующих формирование паттернов крыльев в полиморфных особях семейства Papilio.

Вообще, насекомые являются ярко выделяющейся группой организмов, в т.ч. включающей несколько модельных и не-модельных систем, позволяющих изучать различные биологические явления – такие как развитие организма, формирование систем органов, идентификацию генетической «программы» развития. С развитием методов быстрого и дешёвого секвенирования были получены (и выложены в публичные базы данных) несколько геномов и транскриптомов насекомых. В нашем лабораторном проекте мы будем изучать биологию не-модельных бабочек и генную эволюцию в семействе насекомых Lepidoptera, объединяющем бабочек и мотыльков. Мы будем использовать публично доступные транскриптомные данные для поиска последовательностей генов, называемых «doublesex» (dsx) и вовлечённых в регуляцию ранней половой дифференцировки и вторичного полового развития у многих групп насекомых. Мы попытаемся идентифицировать общие паттерны последовательностей между этими группами и разобраться, как различные силы отбора влияют на последовательность гена и, в итоге, на структуру соответствующего белка. Мы надеемся, что в нашем проекте участники как научатся работе с большими массивами данных, так и получат представление о том, как именно эволюционные силы (такие как отбор и генетический дрейф) влияют на генетический материал.

Проект содержит несколько составляющих:

- Устройство биологических баз и обработка полногеномных и транскриптомных данных
- Визуализация того, как гены и транскрипты организованы в геноме
- Создание собственных blast-баз для выравнивания и определения интересных генов (семейства doublesex)

- Идентификация открытых рамок считывания(ORF) и выделение кодирующих участков(CDS)
- Построение вырываний для идентификации консервативных/вариативных участков
- Проведение некоторых простых тестов для идентификации «горячих»/«холодных» точек мутаций – участков, предположительно находящихся под отбором
- Моделирование белковых структур для понимания доменной организации и разницы между изоформами

In the lab project, we will focus on the evolution and genetics of butterfly wing patterns. We will dissect butterfly caterpillars and pupae during different developmental stages to see how wings develop. There will be some work involving PCR and sequencing, followed by intensive molecular analyses of a key developmental gene, *doublesex*, that has been shown to control development of butterfly wing patterns in polymorphic *Papilio swallowtail* butterflies.

Insects are an immensely diverse group of organisms with several model and non-model systems that have been used to study numerous phenomena, such as development of body plans, formation of organ systems, identification of the genetic basis of traits, etc. With the advent of methods for faster and cheaper sequencing, several insect genomes and transcriptomes have been sequenced and made available in public databases. In this lab project, we will explore the biology of a non-model butterfly species and study gene evolution in the insect family *Lepidoptera*, which comprises of butterflies and moths. We will be using publicly available transcriptome data to find sequences for a gene called *doublesex* (*dsx*), which is involved in regulating early sexual differentiation and secondary sexual traits in many insect groups. We shall attempt to identify patterns in the sequence data across these insect groups and understand how different selective forces can shape gene sequence, and ultimately protein structures. We hope this project will make students comfortable with large datasets, and encourage them to think about how evolutionary forces such as selection and drift shape genes.

The project will involve:

- Understanding biological databases and downloading whole genome and transcriptome data
- Visualization to understand how genes and transcripts are organized in the genome
- Creating custom blast database to align and extract gene/s of interest (*doublesex*)
- Identify ORF and extract CDS
- Alignment to identify conservation/variation
- Performing some simple tests to identify mutational hotspots/coldspots, regions possibly under selection
- Protein modelling to understand domain structures and isoform differences

## Лаборатория бактериальной и функциональной геномики

Руководитель: Михаил Гельфанд

## Laboratory of bacterial and functional genomics

Head of laboratory: Mikhail Gelfand



Лаборатория бактериальной и функциональной геномики продолжает исследования в традиционных для себя областях — сравнительной геномике бактерий и анализе связи пространственной структуры и функции РНК и ДНК. Некоторые из задач лаборатории являются составной (но самостоятельной) частью текущих проектов наших преподавателей в ИППИ, ИБК, 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. Для работы в лаборатории не требуется умение программировать, однако в некоторых задачах даже небольшой навык в программировании позволит двигаться чуть быстрее.

- Мария Тутукина продолжит работу по экспериментальному и биоинформатическому анализу регуляции транскрипции кишечной палочки; в этом году будет исследован фактор транскрипции YjjM, который впервые был охарактеризован в наших (М.Т. и М.Г.) лабораториях.
- Дарья Николаева и Софья Гарушянц изучат эволюцию бета-лактамаз. Это важные ферменты, которые придают бактериям устойчивость к антибиотикам.
- В проекте Ольги Сигаловой будут изучены загадочные объекты: короткие слова, часто встречающиеся в бактериальных геномах; их функциональный смысл в большинстве случаев неясен.
- Софья Гарушянц и Анна Казнадзей посмотрят, как устроено функциональное разнообразие бактериальных геномов в зависимости от того, насколько разнообразны сообщества, в которые входят эти бактерии.
- Ольга Бочкарева изучает перестановки в бактериальных геномах. В этом году она будет смотреть на *Vibrio* (в том числе, на холерного вибриона), которые замечательны тем, что у них две хромосомы, а не одна, как у большинства бактерий. Среди ее задач — посмотреть, как точки разрыва при перестановках связаны с расположением генов рРНК; понять, как эволюционируют гены после перестановок; описать перестройки у бактерий, геномы которых состоят из двух или даже трех хромосом.
- Зоя Червонцева посмотрит, как структура мРНК связана с эффективностью трансляции. В этом проекте комбинируется анализ массовых данных с компьютерным анализом структуры мРНК в разных геномах.
- Проекты Маргариты Самборской и Александры Галицыной посвящены пространственной структуре ДНК эукариот, рассмотренной в различных

масштабах. Данные из недавних масштабных экспериментов показывают, что основу этой структуры составляют так называемые топологические домены (ТАДы), участки, образующие плотные клубки (представьте себе бусы, скрученные из одного куска из проволоки). Маргарита посмотрит, как связан размер ТАДов с тем, как ТАДы взаимодействуют друг с другом и с участками ДНК между ТАДами. С другой стороны, вся клеточная ДНК образует две большие, нечетко определенные области пространства, называемые компартментами. Александра сравнит строение компартментов и ТАДов в разных организмах, для которых у нас имеются экспериментальные данные, и, в частности, посмотрит, как пространственная структура связана с работой генов.

В заключение повторим, что в наших проектах можно участвовать и не имея опыта программирования.

The Lab of Bacterial and Functional Genomics continues working in its traditional areas, ranging from comparative genomics of bacteria to an interplay between function and 3D structure of DNA and RNA. Some of our projects are the parts of our current research being conducted in ИИТП, ИСВ, SkolTech and MSU (including projects that were initiated at the previous schools), while others are relatively independent, but may be continued after the school, depending on the results. Programming skills are not a pre-requisite, but for some problems even superficial knowledge of programming would allow a student to move faster.

- Maria Tutukina will continue with experimental and bioinformatic analysis of transcriptional regulation in bacteria. This year it will be a new transcription factor YjjM that has been recently characterized in our (M.T. and M.G.) labs.
- Daria Nikolaeva and Sofia Garushyants will study evolution of beta-lactamases, important bacterial enzymes that confer antibiotic resistance.
- Olga Sigalova will look at enigmatic short words overrepresented in some bacterial genomes. Their functional meaning is in most cases unknown.
- Sofia Garushyants and Anna Kaznadzey are planning to find links between functional diversity of bacterial genomes and species diversity of bacterial communities.
- Olga Bochkareva is studying genome rearrangements in bacteria. This year she will work with *Vibrio* genomes, notable for having two chromosomes instead of one as in most bacteria.
- Zoe Chervontseva is planning to see how efficiency of translation depends on mRNA structure. This project combines analysis of large scale data with computer predictions of mRNA structure in diverse genomes.
- Projects headed by Margarita Samborskaya and Aleksandra Galitsina deal with the 3D structure of eukaryotic DNA at different scales. Recent large-scale experiments have demonstrated that DNA in the nucleus forms tight globules, so called Topological Domains (TADs) — think of a necklace made from a piece of cord. Margarita wants to see whether TAD sizes influence the number of contacts between a TAD and other TADs and inter-TAD regions. On the other hand, DNA forms two large, fuzzy spatial regions, called compartments, Alexandra will compare the compartment and TAD structure in a variety of organisms for which experimental data are available, and, in

particular, to see whether there is a correlation between 3D structure and gene expression.

To repeat, one may participate in our projects without programming skills or experience.



## Лаборатория эволюции бактериальных геномов

Руководитель: Дипа Агаше

## Laboratory of bacterial genome evolution

Head of laboratory: Deepa Agashe



Бактерии обладают очень разнообразными геномами, различия в которых касаются множества свойств – таких как нуклеотидный состав (общая и штамм-специфичная пропорция А, Т, G и С) и наличие конкретных тРНК (без которых не может происходить трансляция). На ШМТБ мы собираемся изучить то, как эволюционирует это разнообразие, и экологические процессы, которыми это регулируется, в трёх проектах, описанных ниже:

### 1. Почему некоторые тРНК очень редки или вовсе отсутствуют в бактериях?

В бактериальных геномах закодированы много тРНК, необходимых для распознавания 61 смыслового кодона в генетическом коде. Для большинства типов тРНК (соответствующих конкретному антикодону), они обнаруживаются в нескольких бактериях (а то и во всех). Однако некоторые тРНК (зачастую это соответствующие антикодону ANN) очень редко встречаются в бактериях. Мы хотим понять, вызвано ли отсутствие таких тРНК каким-то уменьшением фитнеса – т.е. не «вымываются» ли они под действием естественного отбора. Для проверки этого мы внесём синтетические гены тРНК в клетки *E.coli* (не имеющей изначально такие тРНК) и протестируем, как включение экспрессии этих генов повлияет на общий бактериальный фитнес – т.е. приведёт ли к увеличению или к уменьшению скорости роста бактерий.

### 2. Какова эволюционная история АТ-«перекоса» в бактериях?

Представленность пар соответствующих друг другу нуклеотидов (А-Т или G-С) в любом бактериальном геноме редко одинакова. Это наблюдение получило название АТ-«перекоса» или GС-«перекоса» (в зависимости от большей представленности упомянутых пар нуклеотидов). У большинства бактерий, Т превалирует над А и G превалирует над С в ведущей нити ДНК. Но степень такой перепредставленности отличается у разных бактерий. В нашем проекте мы попытаемся обсудить, почему и как разные бактерии приобрели упомянутый «перекос». Используя методы биоинформатики, мы проанализируем АТ-«перекос» в бактериальных геномах и постараемся ответить на следующие вопросы: сколько давно возник этот «перекос» и был ли он внезапным или постепенным? На каких ветках бактериальной филогении это произошло? Наконец, коррелируют ли изменения в АТ-«перекосе» с другими

характеристиками бактерий (например, со средой обитания или с метаболизмом)? Для участников проекта будут желательны начальные знания программирования (язык Python).

3. Каковы последствия изменений мутационного спектра для фитнеса бактерий?

У большинства бактерий частота мутаций от GC пар к AT выше, чем в обратную сторону (причём даже до того, как на происходящие мутации подействует отбор). Неясно, важна ли такая «несимметрия» для бактериальной эволюции. Мы хотим изучить, как этот мутационный спектр влияет на фитнес бактерий. Для этого мы проведём эксперименты с различными штаммами *E. coli*, в геномах которых отсутствуют некоторые белки репарации ДНК, что приводит к изменению мутационного спектра. Мы проверим, будут ли штаммы «дикого типа» вытеснены мутантными штаммами при действии различных факторов отбора – таких, как азотное голодание и высокие температуры (именно эти факторы создают условия отбора на GC-состав). Для участия в проекте желательны (но необязательны) навыки клонирования и работы с культурами микробов.

Bacteria have very diverse genomes, with wide variability in key features such as the nucleotide content (overall and strand-specific proportions of A, T, G and C) and important genes such as tRNAs (without which translation cannot proceed). We are interested in understanding how this diversity evolves, and the evolutionary and ecological processes through which it is maintained. During SMTB, we plan to carry out three projects, described below.

1. Why are some tRNAs very rare or absent across known bacteria?

Bacterial genomes have multiple tRNAs, required to decode the 61 sense codons in the genetic code. In most cases, each type of tRNA (with a specific anticodon) is found in at least some bacteria. However, some tRNAs (typically those with ANN anticodons) are very rare in sequenced bacterial genomes. We want to test whether these tRNAs are absent because they reduce bacterial fitness, and are thus eliminated by natural selection. We will introduce synthesized tRNA genes in *E. coli* cells (which do not have these tRNAs) and test whether bacterial growth rate (a proxy for fitness) decreases as we increase tRNA expression. Prior experience with cloning or microbial work would be helpful, but is not necessary.

2. What is the evolutionary history of AT skew during bacterial evolution?

The proportion of A vs T, and G vs C on any single strand in bacterial genomes is unequal. This is called AT skew or GC skew. In most bacteria, T is favored over A, and G is favored over C in the leading strand. However, the magnitude of this skew is different across bacteria. In this project we will try to understand how and why different bacteria have different AT skew. Using bioinformatics methods, we will quantify the AT skew in bacterial genome sequences to answer these questions: how many times does AT skew change in the history of

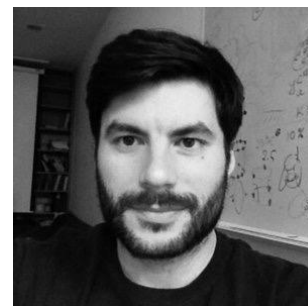
bacteria, and is the change sudden or gradual? On which branches of the bacterial phylogeny do these changes happen? Finally, are changes in AT skew correlated with changes in other characteristics of bacteria (e.g. their habitat or metabolism)? Prior knowledge of basic programming (preferably Python) would be useful.

3. What are the fitness consequences of altering mutation spectra?

In most bacteria, the baseline rate of GC $\rightarrow$ AT point mutations is higher than the reverse, even before selection acts on the mutations. It is not clear whether this bias is important for bacterial evolution. We aim to determine the fitness consequences of biased mutation spectra (i.e. biased distribution of different types of mutations). We will conduct experiments with *E. coli* strains in which some DNA repair enzymes are missing, resulting in very different mutation distributions. We will test whether the mutant *E. coli* outcompete a wild type *E. coli* strain under different selection pressures such as nitrogen limitation and high temperature; these conditions are proposed to select for GC biases. Prior experience with cloning or microbial work would be helpful, but is not necessary.

## Лаборатория белковых взаимодействий

Руководитель: Джон ЛаКава



## Laboratory of protein interactions

Head of laboratory: John LaCava

Концепция: Биохимия для Биомедицины

- I. Белки - это главные функциональные молекулы клеточной биологии
- II. Белки формируют сложные сети взаимодействий, которые поддерживают жизненные процессы и вызывают заболевания
- III. Антител - это мощные инструменты «поимки» белковых комплексов для последующего их изучения
- IV. Вычислительные подходы помогают нам разобраться в сложных биологических сетях

Клеточная функциональность главным образом регулируется сетями белок-белковых взаимодействий (protein-protein interaction (PPI) networks), изучение которых позволяет понять молекулярную биологию клетки, в т.ч. выявить патогенные изменения в этих сетях, ведущие к раку и другим заболеваниям. Только геномные исследования, сами по себе, не позволяют ни выявить полностью обстоятельства, отделяющие здоровье от болезни, ни перенести наши знания на непосредственно медицинскую практику. Белковые комплексы - это относительно стабильные образования белков, формирующиеся в PPI-сетях; они представляют собой «коллекции» белков, проявляющих тенденции взаимодействовать друг с другом и формировать функциональные биологические «модули». И т.к. именно белковые комплексы являются главными эффекторными молекулами клеточной биологии, многие современные усилия исследователей направлены на изучение PPI-сетей и выявление изменений, ассоциированных с болезнями и меняющих формирование белковых комплексов. Соотв. область знаний называют «интерактомикой». Идентификация в PPI-сетях изменений, ассоциированных с болезнями, позволило выявить как маркеры диагностики и прогноза развития заболеваний, так и терапевтические мишени, на которые можно воздействовать множеством различных методов, таких как малые молекулы, антитела и РНК-интерференция.

Имунопреципитация (immunoprecipitation, IP) - это технология, использующая антитела для «вылавливания» белковых комплексов из клеток. Антитела (они же – иммуноглобулины) являются отдельным классом белковых комплексов, по форме напоминающих букву “Y”, формирующих особую часть нашей адаптивной иммунной системы и отвечающих за распознавание других молекул. IP является мощным инструментом проведения PPI-исследований, нацеленных на идентификацию всех белковых комплексов, формирующихся в клетке (эту совокупность называют

«интерактомом» - interactome). Но имеющиеся PPI-коллекции сильно далеки от полных и нуждаются в дальнейшем исследовании. В IP-технологии обычно используется специфичные метки (affinity tags) в отношении конкретных белков, что позволяет узнавать эти «целевые» белки и их партнёров внутри больших комплексов для последующей очистки в твёрдой фазе; зачастую используются дополнительные антитела к самим IP-белкам.

Несмотря на то, что у использования специфических меток есть немало преимуществ, у такого подхода есть и недостатки; например, перепады в экспрессии генов сказываются на аффинности меток к соотв. белкам; также, метки зачастую эффективны только в модельных организмах, которые «подстроены» под работу экспериментальных методов, что как ограничивает возможность использования упомянутых подходов во случае модельных систем различных болезней, так и замедляет изучение интерактома человека. Антитела против эндогенных (приносимых «извне») белков позволяют обойти упомянутые ограничения, т.к. они не чувствительны к колебаниям экспрессии нативных генов или белков.

Исследования интерактома включают не только экспериментальную работу, но и компьютерный анализ. Итоговые огромные PPI-массивы возникают как сумма данных, получаемых экспериментально и уже имеющихся в публично доступных источниках, и агрегируются в разнообразные архивы мета-данных. Работа с ними и получение биологически важной информации требуют применения математических и компьютерных методов – для интеграции, фильтрации и сопоставления данных.

Для «фонового» образовательного процесса участники проекта получают материалы для чтения (в виде PDF-документов и распечаток) и ссылки на необходимые источники информации по всем аспектам лабораторной работы. И если вы пожелаете ознакомиться с ними заблаговременно и не имеете возможности свободного доступа к ним – можете запросить материалы, написав письмо на адрес [lacava@gmail.com](mailto:lacava@gmail.com).

В нашей лаборатории мы будем вести работу в трёх параллельных «кластерах». В каждом из них будут реализовываться свои аспекты исследования белковых взаимодействий. При этом у всех участников будет общий лекционный материал. Таким образом, хотя каждый конкретный участник будет участвовать в экспериментах одного конкретного кластера, все участники ознакомятся со сферой исследований белковых взаимодействий и получат представление о работе, идущей в каждом из кластеров. Также, будет налажен обмен информацией и данных между кластерами.

Кластер д-ра Ла Кавы: сравнение качества различных мышинных моноклональных антител в плане их способности очищать белковые комплексы, ассоциированные с человеческими ретротраспозонами LINE-1 (это мобильные генетические элементы, «обитающие» в человеческом геноме в т.ч. вызывающие некоторые заболевания и рак).

Кластер в-ра Кетарен: использование специальных белковых препаратов, называемых «нанотела» (это небольшие одноцепочечные антитела, выделяемые из верблюдов) для очистки GFP-меченых модельных белковых комплексов и определения наиболее эффективных методик работы с ними. Нанотела являются передовой технологией и находятся в фокусе интенсивных исследований в качестве инструмента клинических, диагностических и терапевтических подходов.

Кластер д-ра Алексеева: изучение и использование компьютерных методов в PPI-анализе: получение и визуализация данных. Среди прочего, будут проанализированы белковые комплексы, образующиеся с LINE-1 ретротранспозонами, с включением как ещё не-опубликованных, так и публично доступных данных.

Concept: Biochemistry to Biomedicine

- I. Proteins are effector molecules of cell biology
- II. Proteins form complex networks of interactions that facilitate health and cause disease
- III. Antibodies are powerful tools for capturing protein complexes for further study
- IV. Computational approaches aid human understanding of complex biological networks

Cellular functionality is chiefly mediated through protein-protein interaction (PPI) networks, the study of which reveals the molecular biology of the cell, including pathogenic network alterations that lead to cancer and disease. Genome studies alone have not comprehensively revealed the features that distinguish health from disease nor delivered on the promise of transforming medical practice. Protein complexes are relatively stable assemblies of proteins that form within PPI networks; they are collections of proteins that tend to interact together, forming functional biological units. Because protein complexes are the effector molecules of cell biology, new research efforts are frequently being directed towards defining disease-related changes in PPI networks that alter protein complex formation (interactomics). Identifying disease-related alterations in PPIs has revealed diagnostic and prognostic markers as well as therapeutic ‘druggable targets’ that can be exploited through a number of independent strategies including e.g. small molecules, antibodies, and RNA interference.

Immunoprecipitation (IP; also called affinity capture) is a technique that uses antibodies to capture protein complexes from cells. Antibodies (also called immunoglobulins) are a special class of Y-shaped protein complex which form part of our adaptive immune system and function to bind tightly to other molecules. IP has been a powerful tool for PPI studies aiming to identify all of the protein complexes formed within the cell (the interactome). However, the existing PPI datasets are far from complete and more explorations are needed. IP typically uses affinity (or epitope) “tagging” of proteins of interest, permitting the tagged proteins and their associated partners within complexes to be purified from their crude biological source using a solid medium, frequently coupled to an antibody against the tag (affinity medium). Although there are many benefits to using affinity tags, there are also numerous caveats arising from, e.g. altering the context of gene expression, through to the possibility that the affinity tagging alters the behavior of the gene or protein; and tagging can only be carried out effectively in model organisms with efficient genomic tools, or which otherwise support ectopic gene expression, blocking the use of this strategy in many disease-relevant models and hindering human interactome research. Antibodies against endogenous protein targets circumvent these issues because no alteration of the native gene or protein is required.

Interactome research depends not only upon “wet lab” experiments but also upon “dry lab” computational analyses. Increasing large PPI datasets are being generated by

experimentalists and public repositories are aggregating and curating diverse data- (and metadata)-types into massive archives. Working with and finding biological meaning within these “big data” requires mathematical and computational tools for data integration, filtering, and inferences.

Selected reading material and references are provided for students as background education for all aspects of the lab practicals - PDFs and print outs will be provided to students during the course. However, if you will like to review materials ahead of time and cannot obtain them freely, please send your request to: lacava@gmail.com.

We will run three parallel “clusters” during the laboratory sessions; each designed to explore a different aspect of protein interactions research. All students will receive generalized lectures that cover topics relevant for all three clusters. Although individual students will directly participate in experiments in only one of the clusters, all students will gain a global familiarity with the practice of protein interactions research and be made aware of the work occurring in all clusters. Students will be expected to exchange information with each other across clusters and to know what each other are doing.

Dr. LaCava cluster: Compare the performance of different mouse monoclonal antibodies for their ability to purify protein complexes associated with human LINE-1 retrotransposons. LINE-1s are selfish genes that inhabit human genomes and may cause diseases and exacerbate cancer.

Dr. Ketaren cluster: Use protein affinity reagents known as nanobodies (small, single-chain antibody fragments derived from camelids) to purify GFP-tagged model protein complexes and determine the most efficient approach. Nanobodies are a cutting edge affinity reagent and are the topic of intense research as tools for basic and clinical research, diagnostics, and therapeutics.

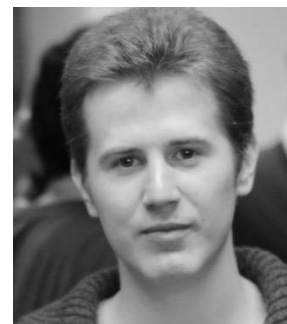
Dr. Alexeev cluster: Explore and use computational tools for PPI analyses: obtain and visualize data from public repositories. Infer protein complexes that may form with LINE-1 retrotransposons based on integrating unpublished and publicly available data.

## 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. Классический анти-микротрубочковый препарат под названием таксол на сегодняшний день остается одним из самых широко употребляемых и успешных антираковых препаратов. Однако некоторые агрессивные опухоли оказываются резистентны к таксолу. Было показано, что эта резистентность коррелирует с высокой экспрессией специальной изоформы тубулина, бета-3. В нашем проекте мы экспериментально исследуем роль бета-3 изоформы тубулина в механизме устойчивости к таксолу, используя систему очищенных белков. Для этого мы подготовим два типа микротрубочек: (1) содержащих бета-3 тубулин и (2) лишенных бета-3 тубулина. Чтобы привести наш эксперимент ближе к клеточным условиям, мы добавим в нашу систему белок EB1, который связывается с концами микротрубочек, изменяет их динамику и ответ на таксол. Флуоресцентно-меченный белок EB1 будет выращен в бактериях и выделен с помощью биохимических методов. Мы сравним эффект таксола на оба типа микротрубочек в присутствии EB1, используя современную технику под названием TIRF-микроскопия.

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. A classical anti-microtubule drug, called taxol, remains one of most and successful and widely used drugs for cancer treatment. However, some aggressive cancer types are resistant to taxol. It has been shown that taxol-resistance is correlated with high expression of a special tubulin isoform, beta-3. In this project we will experimentally investigate the role of beta-3 tubulin isoform in the mechanism of taxol resistance using a system of purified proteins. For this we will prepare two types of microtubules: (1) containing beta-3 tubulin and (2) depleted of beta-3 tubulin. To bring our experiment closer to the real cell conditions, we will add to our system EB-1 protein, which binds to the tips of microtubules, altering their dynamics and response to taxol. Fluorescently tagged EB1 protein will be grown in bacteria and isolated using biochemical methods. We will then compare the effect of taxol on both types of microtubules in presence of EB1 using a modern technique, called TIRF-microscopy.



## **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 – первая и самая быстрая линия 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. 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, чтобы понять специфичность иммунного ответа на чужеродные тела, и в особенности рассмотрим рецептор Дектин-1. Мы будем измерять как иммунные клетки активируются в ответ на стимулы, измеряя секрецию цитокинов и активность люциферазного репортера. Мы также сосредоточимся на изучении детального механизма иммунной активации.

У нас есть предположение-гипотеза на основании наших предыдущих исследований, какие гены и белки могут отвечать за защитный иммунный эффект. Во время нашего проекта этим летом мы сможем подтвердить или опровергнуть, действительно ли именно эти гены важны для передачи сигналов активации иммунной системы, и можно ли использовать эту информацию для разработки лекарств против иммунных заболеваний.

Во время этого проекта студенты будут работать с культурами клеточных линий в стерильных условиях, измерят выживаемость и активность клеток в ответ на стимулы и экспериментальные вещества/химические соединения. Студенты используют люминесцентный репортер и узнают метод иммунной биологии 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); it also works to eradicate cancer cells and to 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 and many other pro-inflammatory diseases.

For all these conditions, scientists are still searching to create better, effective and specific treatments.

We will work with human immune cell lines to investigate the specificity of immune response to foreign agents, and we will measure how differentiated immune cells are activated in response to specific stimuli (by luciferase reporter and cytokine secretion), with special attention to Dectin-1 pathway. We will then focus on specific pathways of their activation. By using small molecule compounds we will test the precise mechanisms that either promote or inhibit innate immune response and innate immune memory.

In our previous work we hypothesized which genes and proteins may be responsible for the immune protection mediated by Dectin-1 pathway. This summer we will work to confirm or refute whether these genes indeed participate in signaling, and whether it will be possible in future to use this information to develop therapeutics against immune diseases.

In our laboratory, students will work with cell culture in sterile conditions, treat immune cells with compounds and measure their viability, work with a luminescence-based reporter and learn immune biology techniques such as cytokine measurements (by ELISA). 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 миллионaм смертей по всему миру. Опухоли характеризуются нарушением клеточной пролиферации (клеточного деления) и одним из важнейших событий, приводящих к развитию опухоли, является инактивация супрессоров опухолевого роста. Опухолевые супрессоры – гены, продукты которых негативно регулируют клеточную пролиферацию и ограничивают клеточный рост, в то время как мутации или инактивация опухолевых супрессоров приводят к неконтролируемой пролиферации опухолевых клеток (Hanahan and Weinberg, 2011). Наиболее часто мутации встречаются в опухолевых супрессорах p53, BRCA1, APC, PTEN, and RB1. Существуют разные способы элиминации опухолевых клеток: неспецифические, когда ингибируется деление или индуцируется клеточная смерть любых делящихся клеток, включая нормальные клетки, и специфические, когда происходит активация клеточной смерти только в опухолевых клетках. Специфическая активация клеточной смерти в опухолевых клетках достигается в результате их зависимости от определенных факторов, таких как аминокислоты (глутамин, аспаргин, цистеин), глюкозы, сверхчувствительности к повреждениям ДНК и т.д. Одна из проблем в поисках специфической зависимости заключается в том, что различные типы опухолевых клеток обладают разным набором мутаций в онкогенах и опухолевых супрессорах и, соответственно, обладают разными зависимостями. Одним из способов поиска таких зависимостей *in vitro* является использование пары изогенных клеточных линий, которые отличаются одним геном (например, нормальные клетки и эти же клетки с мутацией в одном из генов супрессоров опухолевого роста). Выключая по очереди по одному различные гены (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), можно найти те гены, выключение которых приводит к смерти опухолевых клеток, но не оказывают влияния на нормальные клетки (принцип синтетической летальности). Аналогично можно пробовать различные лекарственные препараты и найти те, которые убивают только опухолевые клетки (принцип “синтетической летальности”). Дрозофила является классической *in vivo* моделью для проведения подобных генетических скринингов для поиска генов, которые специфически убивают клетки с инактивацией определенного опухолевого супрессора (в нашем

случае гена  $-TSC2$ ), но не оказывающих влияния на нормальные клетки. Инактивация гена  $TSC2$  у человека приводит к развитию опухолей мозга, легкого и почки. Преимуществом использования Дрозофил является то, что 1)  $TSC2$  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 супрессора  $TSC$  и обнаружили интересные кандидаты для дальнейших исследований. Во время нашего курса студенты будут работать с человеческими клетками, чтобы подтвердить результаты наших скринингов с кандидатами, которые были выявлены в скрининге на Дрозофилах. Во время курса студенты выучат основы молекулярного клонирования и принцип РНК интерференции, заклонируют их собственные конструкторы для выключения определенных генов, изучат основы работы с клетками млекопитающих и протестируют эффект выключения генов кандидатов в нормальных и опухолевых клетках, а также протестируют доступное лекарство, ингибирующее продукт гена, обнаруженного в нашем скрининге. Целью данного проекта является перенести наше знание, полученное на Дрозофилах на лечение опухолей с инактивацией опухолевого супрессора  $TSC2$  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 promotes 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 RB1. There are different approaches for elimination of tumor cells: untargeted, when proliferation is inhibited or cell death is activated in any dividing cells including normal cells; and targeted, when cell death is activated only in tumor cells. Targeted activation of cell death could be achieved due to the dependencies of tumor cells on specific factor like amino acids (glutamine, asparagine, cysteine), glucose, oversensitivity to DNA damage and others. One of the challenges for the search of tumor cell dependencies is that different types of tumor cells contain different sets of mutations in oncogenes and tumor suppressors and depend on different factors. One approach to search for tumor cell dependencies *in vitro* is using of isogenic cell lines which differ only by one gene (pair of normal cells and cells with mutation in one tumor suppressor gene). Silencing different genes one by one allows finding genes those inactivation causes cell death specifically in tumor cells but don't have effect on normal cells (synthetic lethality approach). Similarly, different drugs can be tested to find ones that can kill tumor cells but don't have effect on normal cells. *Drosophila* is an excellent model to perform *in vivo* genetic interaction screens to identify genes which selectively kill tumor cells with the inactivation of specific tumor suppressor gene (in our case  $TSC2$ ), but don't have effect on normal cells. Inactivation of  $TSC2$  causes brain, lung and kidney tumor development. The advantages of *Drosophila* model system are 1) the  $TSC2$  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 identified several genes whose inactivation cause cell death selectively in cells with inactivation of TSC2 tumor suppressor gene. During our course the students will be working with human cells to confirm the results of our screen for the candidates, which were identified in *Drosophila* genetic screen. 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 (TSC2-deficient) cells, try pharmacological approach using available FDA-approved drugs for the potential candidates from the screen. Our goal is to transform studies in  $\neg$ *Drosophila* and mammalian cells into therapeutics which can be used for the treatment of TSC2-deficient tumors in human beings.

## **Лаборатория синтетической биологии**

Руководители:

Карен Саркисян и Катя Путинцева



## **Synthetic biology lab**

Heads of laboratory:

Karen Sarkisyan and Katya Putintseva

Довольно много живых организмов, особенно морских, умеют излучать свет – это явление называется биолюминесценцией. Свет почти всегда излучается при окислении небольшой молекулы, люциферина, ферментом, который называется люциферазой. Люциферазы часто используются в исследованиях как “репортерные белки” – если ген люциферазы начинает работать при прохождении в клетке того или иного события, то достаточно посмотреть в микроскоп, чтобы понять, что это событие произошло. Проблема в том, что люциферазы из природы не очень хорошо подходят для применения в исследованиях, поэтому их приходится улучшать, внося в ген мутации и отбирая варианты ферментов, которые светятся лучше.

На сегодняшний день легко создать смесь из миллионов разных мутантов гена, но не существует других способов определить, насколько ярко светится каждый мутант, кроме как вручную пересмотреть разные варианты, синтезированные в бактериях. Поэтому проанализировать миллионы мутантных генов невозможно – хотя, если бы такая технология существовала, это бы значительно увеличило шансы найти удачные варианты и сократило бы количество работы.

На школе мы попробуем создать технологию, которая позволит переложить принятие решения о яркости мутанта с исследователя на саму клетку, производящую мутированный белок. Другими словами, мы попробуем заставить бактерий самих определять яркость синтезируемого ими варианта люциферазы. Для того, чтобы это сделать, мы создадим генетические конструкции на основе генов фоторецепторов, которые позволят сделать клетку чувствительной к производимому ей свету, а под контроль фоторецепторов поставим активность гена устойчивости к антибиотику. Таким образом, бактерии, которые содержат ярко светящийся вариант гена, будут более устойчивы к антибиотику, чем бактерии, содержащие тусклые варианты. Это позволит отбирать яркие варианты генов, не анализируя каждый вариант вручную, а просто добавив в среду антибиотик.

За время работы в лаборатории мы освоим основные генно-инженерные методики: ПЦР, электрофорез, современные способы молекулярного клонирования, работу с *E. coli*, выделение плазмид. Кроме того, поработаем с биолюминесценцией, клеточным сортированием и флуоресцентной микроскопией.

A variety of organisms are capable of light emission, a phenomenon called bioluminescence. The light is emitted when a small molecule, luciferin, is oxidized by an enzyme, luciferase. Luciferases from various organisms are used as “reporter genes” – if a luciferase gene starts to work following some cellular event, the emitted light reports to the researcher that the event took place. The problem is that natural luciferases generally perform poorly in such applications, and researchers try to improve their performance by making and selecting mutant enzymes that glow brighter.

Today, it is easy to prepare a mixture of millions of mutants of a gene, but other than checking different variants manually in bacteria, there are no ways to determine the brightness of each mutant. Hence, it is currently impossible to analyze millions of luciferase mutants, although such a technology would substantially improve the screening efficiency and, therefore, the chances of finding better variants.

During this summer school, we will try to create a technology that will allow shifting the selection process responsibility from a researcher to a cell producing a protein mutant. In other words, we will try to force every bacterial cell to determine the brightness of the luciferase variant it expresses. To achieve that, we will create genetic constructs based on photoreceptor genes that will make each cell sensitive to the light it produces, and will place an antibiotic resistance gene activity under control of photoreceptors. Thus, cells expressing bright mutants will be more resistant to antibiotic than the cells producing non-luminescent or dimly luminescent mutants. This difference will provide intrinsic selection of bright variants in the presence of antibiotic eliminating the need of manual screening.

During our work in the lab we will learn how to use basic genetic engineering techniques: PCR, DNA electrophoresis, modern methods of molecular cloning, techniques of work with E.coli, and plasmid purification. Besides that, we will work with bioluminescence, cell sorting and fluorescence microscopy.

## Лаборатория биологии транспозонов

Руководитель: Хосе Луис Гарсиа Перес



## Transposon biology lab

Head of laboratory: Jose Luis Garcia Perez

Одним из примечательных свойств генома человека является наличие в нём участков ДНК – называемых «мобильными элементами», или «транспозонами» - способных перемещаться из одного места генома в другое. Из-за своей мобильности, эти элементы могут генерировать мутации в наших геномах. В проекте нашей лаборатории мы проведём эксперименты, позволяющие визуализировать и понять, как именно фрагменты ДНК и РНК могут перемещаться по геному. В качестве модельных систем будут использованы культуры человеческих клеток и рыбок *Danio rerio*. С помощью генетических манипуляций на культурах клеток мы сможем визуализировать и оценить, сколь часто транспозоны перемещаются в геноме. А работа с *Danio rerio* позволит нам не только оценить мобильность транспозонов, но и выявить ткани, в которых эти элементы наиболее активны. Также мы изучим влияние среды обитания на частоту перемещений транспозонов – для чего протестируем потенциальные ингибиторы ретротранспозиции в обеих упомянутых модельных системах.

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 our genomes. In the “Transposable Elements” laboratory at the School, we will conduct experiments to understand and visualize how stretches of DNA or RNA can move in our genome, using cultured human cells and zebrafish as model systems. Briefly, we will use genetic assays in cultured cells to visualize and quantify how often a Transposable Element can move in our genome. We will furthermore use the emerging model organism zebrafish, allowing us not only to quantify the mobility rate of zebrafish mobile elements, but also to assess the tissues in which they move most. Additionally, we will test how the environment affects the frequency of Transposable Element mobilization. To this aim we will test potential inhibitors of retrotransposition in both of our model systems.



**Лаборатория клеточных  
механизмов аутоиммунитета**

Руководители:

Кира Рубцова и Толя Рубцов



**Laboratory  
of cellular autoimmunity**

Heads of laboratory:

Kira Rubtsova and Tolya Rubtsov

В нашем проекте вы будете изучать локализацию недавно охарактеризованных клеток в тканях селезенки мышей. Хорошо известно, что локализация клеток иммунной системы внутри лимфоидных органов определяется набором специфических молекул. Этот процесс строго регулируется потому что локализация клеток сильно влияет на их функцию. В связи с этим, информация о локализации клеток позволяет лучше понять их функцию. В нашей лаборатории мы изучаем определенную популяцию Б лимфоцитов, которые мы назвали ЭйБиСи (ABC). Эта популяция клеток была открыта совсем недавно сотрудниками нашей лаборатории. Мы показали, что эти клетки накапливаются в стареющих мышках самках, а так же в мышках, которые подвержены аутоиммунным заболеваниям типа волчанки. Мы так же показали, что наличие этих клеток необходимо для развития подобных аутоиммунных заболеваний, что предполагает, что это клетки являются триггером аутоиммунных болезней. В связи с этим, очень важно изучить функцию этих клеток в стареющих мышках и в мышках подверженных аутоиммунным болезням. В нашем проекте мы будем изучать локализацию ABC клеток в селезенках стареющих мышей, а так же в селезенках мышей с аутоиммунным заболеванием. Для этих целей мы будем использовать метод флуоресцентной микроскопии.

In this project you will work on visualizing the location of recently characterized cells in mouse spleen tissues. It is well known that the localization of the immune cells within the lymphoid organs is dictated by certain molecules. This is a very tightly regulated process since the localization of the cells greatly affects their function. Therefore, the knowledge about the cell localization allows us to better understand the function of the cell. In this project we will establish the localization of one particular subset of B cells (ABCs). This is a recently described B cell subset, which accumulates in mice with age and during onset of lupus-like autoimmunity. We have previously reported that these cells are critical for the development of autoimmune diseases suggesting that they are the triggers of the disease. Therefore, it is important to better understand their function in both aging and autoimmunity. During this project you will analyze the localization of ABCs in mouse spleens during aging and development of autoimmune disease. This will be performed using the fluorescent microscopy.

**Лаборатория  
нейродегенеративных заболеваний**  
Руководитель: Наталия Родригес Муела

**Laboratory  
of neurodegeneration**

Head of laboratory: Natalia Rodriguez Muela



В настоящее время около 1 миллиарда людей - примерно одна шестая населения Земли – страдает от неврологических заболеваний, ежегодно уносящих примерно 7 млн жизней. Нейродегенеративные заболевания развиваются как потеря функциональности клеток нервной системы (нейронов) в головном и спинном мозге. Процессы этой дегенерации начинаются незаметно, протекают медленно, зачастую имеют наследственную предрасположенность и имеют общие черты, в плане потери определённых групп нейронов. Среди нейродегенеративных заболеваний выделяется болезнь моторных нейронов (motor neuron disorders, MND) включающая спинальную мышечную атрофию (spinal muscular atrophy, SMA) и боковой амиотрофический склероз (amyotrophic lateral sclerosis, ALS), обнаруживаемые, ежегодно, у одного из 50 000 человек – при которых селективно дегенерируют так называемые моторные нейроны (motor neuron, MN). MN – это нервные клетки, находящиеся в спинном мозге и в коре головного мозга, и их дегенерация ведёт к ослаблению и атрофии мышц. Вопрос о том, почему именно эти нейроны столь селективно затрагиваются заболеванием, остаётся интригующим и не имеющим точного ответа – и изучению этого вопроса посвящены интенсивные исследования по всему миру. В то время как SMA практически всегда вызывается мутациями и делециями в конкретном гене SMN1, для ALS только 10% случаев предопределены генетикой (а остальные случаи выглядят внезапными). Однако, показано, что увеличение количества белка моторных нейронов (motor neuron protein, SMN), кодируемого геном SMN1, предотвращает MN-дегенерацию, наблюдаемую в обоих упомянутых заболеваниях, и улучшает клиническую картину. Главной целью нашего проекта станет понимание того, почему дефицит белка SMN приводит к клеточной гибели. Мы будем изучать течение патологических процессов в клетках, наблюдение за ходом которых может позволить нам разобраться в каскадах, ведущих к гибели нейронов, происходящей в упомянутых болезнях. Также, мы изучим каскады клеточной гибели, задействованные при дефиците SMN, и выясним, различается ли ответ клеток разного типа при таком дефиците. В итоге, мы проверим эффективность специфических ингибиторов различных каскадов клеточной гибели для блокирования дегенерации - в надежде разгадать-таки потенциальные молекулярные процессы, лежащие в основе обсуждаемых заболеваний.

Today up to 1 billion people -nearly one in six of the world's population- suffer from neurological disorders, with about 7 million dying each year. Neurodegenerative diseases occur when nervous system cells (neurons) in the brain and spinal cord begin to deteriorate. They are

clinically characterized by a subtle onset and slowly progressive course, and are frequently hereditary. They share the common feature of the selective loss of a particular subset of neuron. Among neurodegenerative diseases, motor neuron disorders (MND), including spinal muscular atrophy (SMA) and amyotrophic lateral sclerosis (ALS), affect approximately one in 50,000 people each year, and the neuron that selectively degenerates is the motor neuron (MN). MNs are the nerve cells located in the spinal cord and in the cerebral cortex that control muscles, and their degeneration leads to weakness and wasting of muscles. Why these neurons are selectively targeted by the disease is an intriguing question that remains unanswered and a matter of intense investigation worldwide. While SMA is almost exclusively caused by mutations or deletions of the SMN1 gene, only 10% of ALS cases are genetic (with the rest happening spontaneously). However, it is established that increasing the amount of protein produced by the SMN1 gene, survival of motor neuron protein (SMN), prevents the MN degeneration observed in both diseases and improves the clinical picture. The main goal of this course is to understand why SMN protein deficiency leads to cell death. We will explore the appearance of pathological cellular processes that may represent steps in cell death pathways leading to the neuron loss seen in these diseases. We will also investigate what are the cell death pathways that get activated when SMN is lacking and whether different cell types respond differently upon SMN deficiency. Finally, we will examine the efficiency of specific inhibitors of each of these cell death pathways at blocking the degeneration to unravel potential molecular processes that may underlie these disorders.

**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 и о персонализированной медицине.

Образовательная составляющая проекта включает обсуждение разнообразных тем и технологий биологии, применяемых в медицине, практику системного подхода в поиске мишеней и самостоятельный поиск и анализ информации. Научная составляющая проекта включает изучение и использование современных методов моделирования белковых структур и белок-лигандных взаимодействий с применением актуальных биологических и медицинских ресурсов и баз данных (по генам и геномам, белкам, низкомолекулярным соединениям, лекарственным препаратам и пр.).

В этом году мы хотим совместить в нашем проекте методы рационального дизайна лекарств, геномики и системной биологии – чтобы воплотить идеи персонализированной биомедицины. Для этого мы хотим выбрать в организме человека несколько интересных белковых мишеней, удовлетворяющих следующим условиям: (1) их активность связана со взаимодействием с низкомолекулярными лигандами – метаболитами и лекарствами... и (2) в генах, кодирующих эти белки, у разных людей нередко встречаются мутации, которые потенциально могут привести к изменению взаимодействий белков с лигандами. Мы осуществим поиск и моделирование эффекта таких мутаций - и, таким образом, оценим индивидуальные особенности соотв. людей в биохимии и/или в реакции на лекарства. Также, как традиционно случается в нашей лаборатории, новые интересные задачи и конкретные белковые мишени могут появиться «динамически», по ходу проекта..

The main goal of the project is to give our students an outlook of modern rational drug design and computational techniques aiding in drug discovery and personalized medicine.

The educational process will include theoretical lectures and discussions on “hot” topics on the interface of molecular biology and medicine, practice of systematic approach towards target identification and self-research and data analysis. On the scientific hand, we will learn and apply the most up-to-date modelling techniques to establish protein structures, as well as to visualize protein-ligand interactions with the aid of relevant biological and medical databases (e.g. genes and genomes, proteins and drugs databases, etc.)

This year we would like to superimpose methods of genomics and systems biology on the rational drug design approach, to embody the concepts of personalized medicine. We want to choose several promising protein targets, consistent with the following requisites: (1) their activity is related to the interaction with low-molecular ligands (metabolites and drugs) and (2)

people quite often have mutations in the genes encoding these protein targets that could potentially alter their interactions with the ligands. We will implement the research and modelling of the effects of such mutations and evaluate individual deviations in biochemistry and drug responses in people with corresponding mutations. In addition, as it traditionally happens, new interesting problems and protein targets may accidentally arise throughout the project.