

Обучение курсов в Университете Висконсина- Мадисона

М. Регнер



Различные системы обучения

- Как бывает в России, в США нам тоже приходится слушать обязательные курсы на факультете и различные факультативные курсы для общих курсовых требований (по литературе, по музыке, и т.д.)
- В отличие от российской системы, у нас нет такой «специальности», а факультет, на котором мы учимся для того, чтобы получить бакалавр.
- Кроме того, многие американские студенты совмещать разные интересы и учатся на двух факультетах; я, например, окончил университет на факультете химии и на факультете русского языка.



- Таким образом, в США вполне возможно познакомиться с студентом, одновременно учащимся на химика и на концертного пианиста.
- Выпускник тогда может поступить в аспирантуру. После первого или второго курса он получит магистерскую степень, и потом после ещё трёх или четырёх лет он получит “Ph.D” степень, которая является эквивалентом российской «кандидатской».
- К сожалению, у нас нет «докторской» степени, потому что сразу после окончания аспирантуры, Ph.D начинает работать либо «пост-доком» и потом профессором, либо учёным в



Уникальный опыт химика



- Так как я учился на химика, мне не приходилось записаться на курсы по биологии, но я сначала собрался поступить на медицинский факультет после окончания университета, и поэтому, мне всё-таки было необходимо изучать биологию.
- Существуют три различных подхода к изучению на биологическом факультете: самые лёгкие курсы, предназначенные для тех, кто не изучает науку; «средние» курсы, на которые большинство студентов на биологическом факультете записываются; и более тяжёлая “honors” программа, называемая «Биокор», которая была создана для тех студентов, которые интересуются исследованием и более глубоким изучением биологических систем.
- В соответствии со склонностью к исследованию, я решил записаться на «Биокор».

Биокор

- Оказалось, что это решение сильно влияло на будущее моего обучения и профессиональных целей, потому что Биокор мне помог лучше понимать свою страсть для науки и исследования.
- Биокор нам позволил работать над очень интересными и сложными системами посредством современных способов и одновременно нас учил писать в научном стиле.
- В дополнение к изучению развития и эволюции вьюрков на островах Галапагос и к извлечению мРНК из мышья, у нас была возможность создать и провести уникальные опыты по двум важным родам: *C. elegans* and *Daphnia major*.



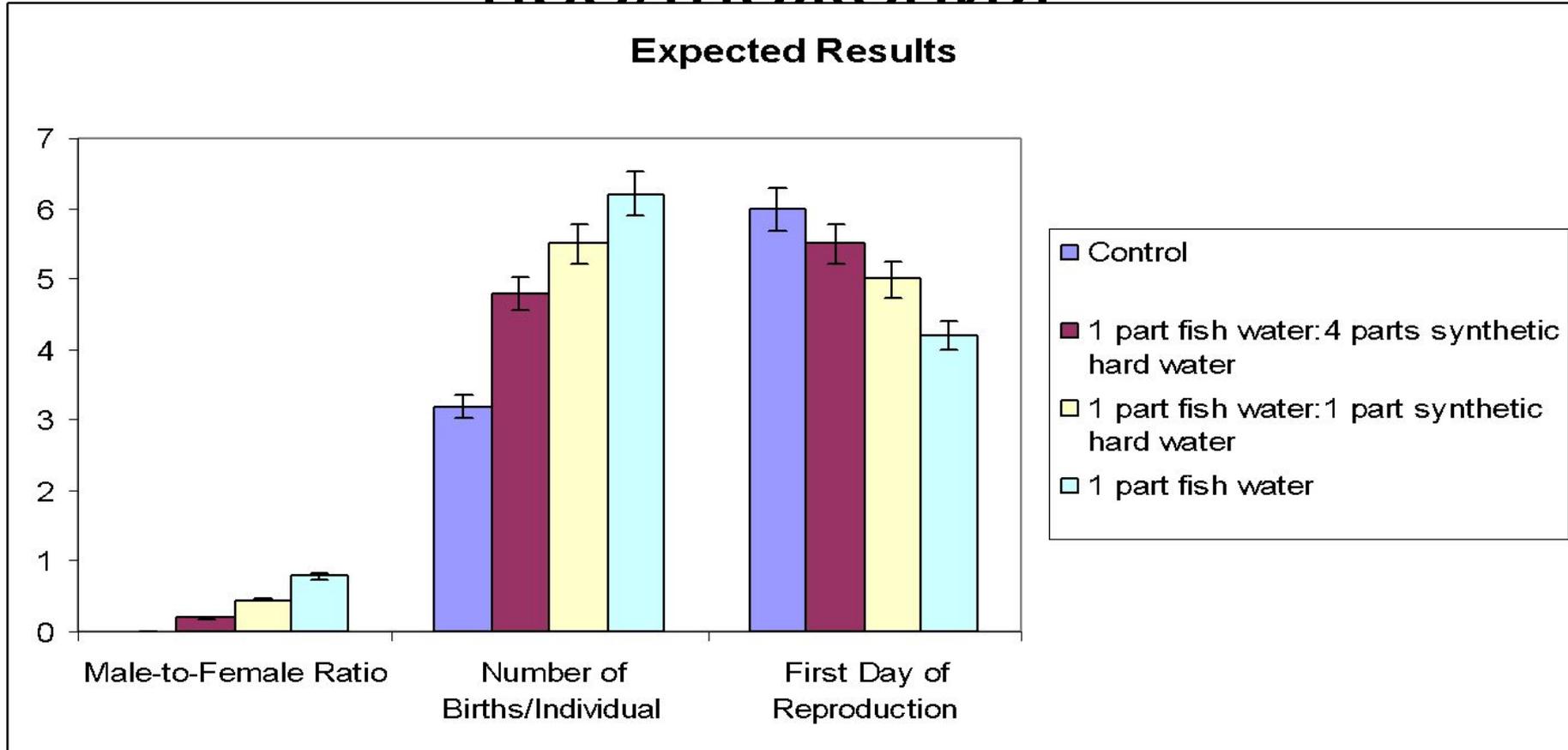
Поведение *Daphnia major* при разных условиях



- Сначала мы изучили жизненный цикл *D. major* для того, чтобы лучше понимать ограничения нашего исследования.
- Каждая группа, выбравшая особенный подход к своему исследованию, провела опыт в течение одной недели, в конце которой члены группы анализировали данные и создали плакат, показывающий введение, методы, и результаты.
- Например, моя группа добавила гормоны хищника в воду и наблюдала то, как

Часть моего научного предложения

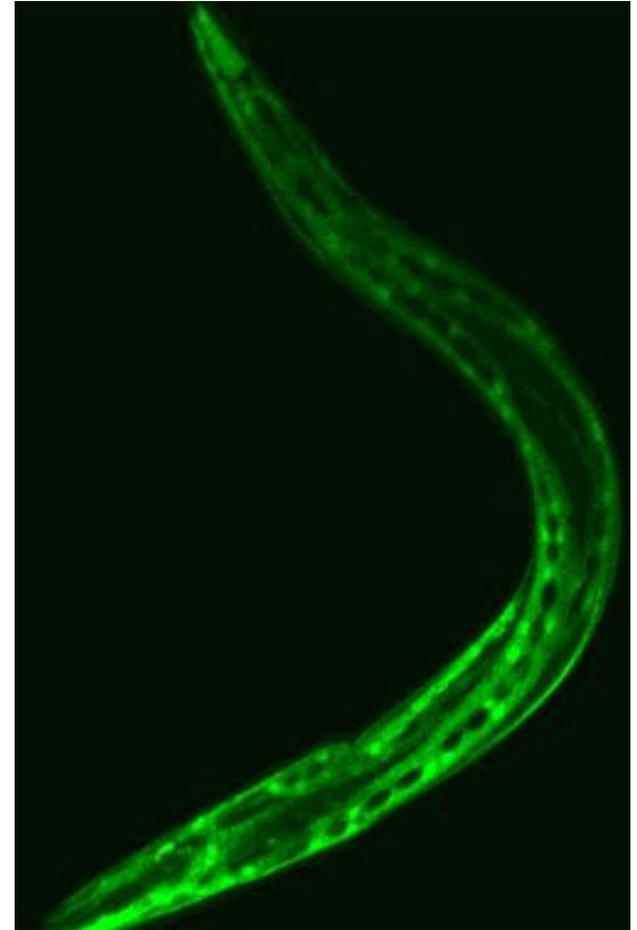
предложения



Мы предсказали, что добавление гормонов хищника увеличит количество потомков.

GFP, белки тѐплого шока, и *C. elegans*

- Во втором семестра практики у нас была замечательная возможность работать с *C. elegans* и флуорисценцией.
- Посредством РНК-интерференции и генетической инженерии белки тѐплого шока были связаны с экспрессией гена GFP, которая мы могли наблюдать, используя флуоресцентную микроскопию.
- Моя группа рассмотрела влияние экстракта растения *Ginkgo biloba* на экспрессию GFP, так как мы ожидали, что химические соединения внутри растения защитит против давления, уменьшив экспрессию GFP.



Ginkgold™ may decrease mortality rate of oxidatively-stressed *Caenorhabditis elegans in vitro*

Matt Regner

Research Collaborators: Jackie Keller, Clarence Li, Lauren Marinaro, Kylee Morrison, LJ Neumann

Abstract

In this study, the effects of Ginkgold™ (active ingredient *Ginkgo biloba* extract) on the mortality rate of *C. elegans* were studied *in vitro*. Eight experimental treatments included different combinations of RNAi, the oxidative stressor juglone, and Ginkgold™. The means of the mortality rates of each treatment over 6 hours suggest that Ginkgold™ decreases the mortality rate of worms exposed to oxidative stress. The lack of any RNAi response or expression of Green Fluorescent Protein (GFP), however, suggests that the *hsp-16.2* pathway was not activated by this form of cellular stress.

Introduction

Cellular stress has been shown to activate the heat-shock protein (hsp) pathway, which activates the production of certain molecules that help refold denatured proteins (Pirkkala *et al* 2001). Oxidative stressors, such as juglone, have been used in previous studies to elicit a similar response (Strayer *et al* 2003) in *Caenorhabditis elegans*, a model organism.

Previous studies have demonstrated that *G. biloba* extract (EGb761) lessens the effects of cellular stress by means of an unexplained mechanism (Kampkotter *et al* 2006; Strayer *et al* 2003; Smith and Luo 2004). It has been suggested that EGb761 acts through the hsp pathway (Strayer *et al* 2003), but its role as a free radical scavenger may decrease cellular stress in another way (Strayer *et al* 2003; Kampkotter *et al* 2006). RNA interference (RNAi) is able to “silence” the expression of a certain gene and thus allow researchers to identify its exact function (Mello and Conte 2004). Using RNAi, could we better examine whether EGb761 decrease stress via a pathway separate to *hsp-16.2*?

We predicted that oxidatively-stressed *C. elegans* that were fed Ginkgold™ would have increased survivorship and less fluorescence relative to worms that underwent the same stress without consuming Ginkgold™. Furthermore, we predicted that RNAi-affected worms would have decreased survivorship and exhibit little fluorescence. We expected that the consumption of Ginkgold™ would increase survivorship of *C. elegans* exposed to RNAi.

Results

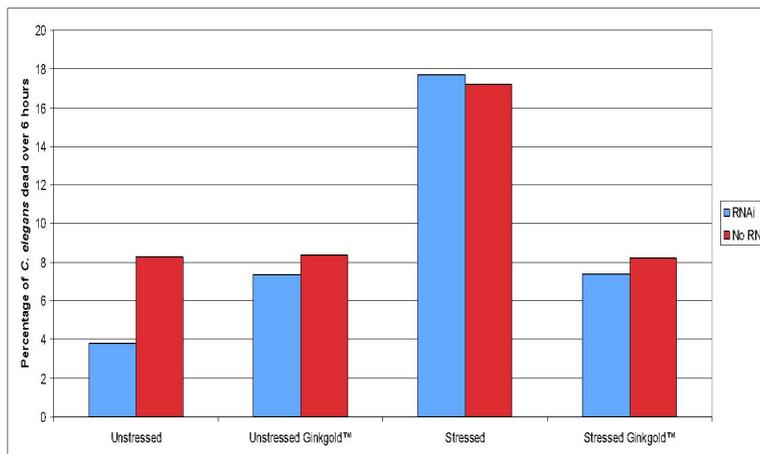


Figure 1: The mean percentage of *C. elegans* dead after 6 hours of observation. Each treatment contains 3 replicates (except for unstressed RNAi, where n=1).

The mean percentage of non-RNAi *C. elegans* dead was significantly different between the four non-RNAi treatments ($F(3,8) = 5.15, p=0.0283$). The percentage of dead stressed worms fed Ginkgold™ (mean=8.21%, $SD=1.7\%$) was lower than the percentage of dead stressed worms not fed Ginkgold™ (mean=17.19%, $SD=33.0\%$). The large difference between standard deviations in these two treatments does not allow for a t-test to be performed.

- RNAi - Stress - EGb761	- RNAi - Stress + EGb761	- RNAi + Stress - EGb761	- RNAi + Stress + EGb761	Table 1: Outline of experimental treatments.
+ RNAi - Stress - EGb761	+ RNAi - Stress + EGb761	+ RNAi + Stress - EGb761	+ RNAi + Stress + EGb761	

References

Kampkotter, A.; Pielarski, T.; Rohrig, R.; Timpel, C.; Chovolou, Y.; Watjen, W.; Kahl, R. 2006. “The *Ginkgo biloba* extract EGb761 reduces stress sensitivity, ROS accumulation and expression of catalase and glutathione S-transferase 4 in *Caenorhabditis elegans*.” *Pharmacological Research*. 55: 139-147.

Mello, C.C.; Conte, D. Jr. 2004. “Revealing the world of RNA interference. *Nature*. 43:338-42.

Pirkkala, L.; Nykanen, P.; Sistonen, L. 2001. “Roles of the heat shock transcription factors in regulation of the heat shock response and beyond. *FASEB Journal*. 15: 1118-31.

Smith, J.V.; Luo, Y. 2004. “Studies on molecular mechanisms of *Ginkgo biloba* extract.” *App Microbiol Biotechnol*. 64: 465-72.

Strayer, A.; Wu, Z.; Christen, Y.; Link, C.D.; Luo, Y. 2003. “Expression of the small heat-shock protein Hsp-16-2 in *Caenorhabditis elegans* is suppressed by *Ginkgo biloba* extract EGb761.” *FASEB Journal*. 17: 2305-7.

Discussion

We hypothesized that consumption of Ginkgold™ by *C. elegans* under oxidative stress would lead to increased survivorship for both RNAi and non-RNAi worms. We accept this hypothesis.

The differences between the survivorship of *C. elegans* that were and were not fed Ginkgold™ suggest that Ginkgold™ lessens the effects of oxidative stress. The values for standard deviation do not satisfy the requirements of the t-test, however, and the statistical significance of this difference cannot be calculated. In addition to EGb761, however, Ginkgold™ contains several other compounds that may have affected survivorship.

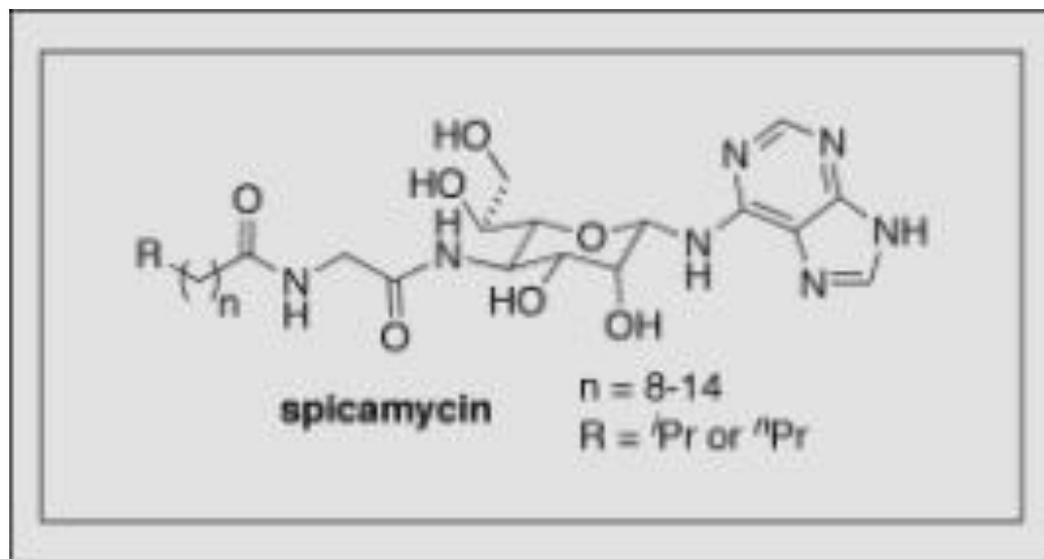
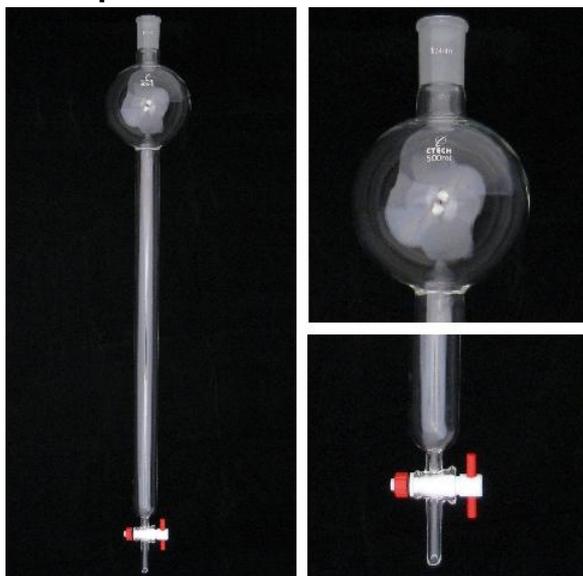
Juglone has been shown to attack sulfhydryl groups (Chao *et al* 2001), which play an important role in the fluorescence of GFP (Inouye and Tsuji 1994). Therefore, GFP may have been denatured due to the high concentration of juglone. On the other hand, our statistics suggest that the worms were stressed by juglone, and it is possible that the juglone simply failed to activate the hsp pathway, in spite of the findings of other studies. Stressed worms that were fed Ginkgold™ exhibited a decreased mortality rate, which supports research suggesting that EGb761 acts as a free radical scavenger (Strayer *et al* 2003; Kampkotter *et al* 2006).

Methods

There were eight experimental treatments with 3 replicates of each (Table 1). For full details on synchronization of the colony and plating of strain CL2070, see the Biocore Cellular Biology Lab Manual (Batzli and Harris 2009). On day 6, 200µL of 500µM juglone in 30% DMSO were added to the plates that were to undergo oxidative stress. 100µg/mL of crushed Ginkgold™ dissolved in *E. coli* were added to appropriate plates. Over the following 6 hours, the mortality rate on each plate was recorded. 6, 12, and 16 hours after addition of the juglone, the plates were observed under the fluorescent microscope to examine expression of GFP. The plates were scored 24 hours after the addition of juglone.

Лаборатория химического синтеза

- Так как я, на самом деле, учился на химика, я два года работал в лаборатории органического синтеза.
- В первом году я старался создать медицинское лекарство, задерживающее развитие опухолей, которое называется «spicamycin».
- К сожалению, нам не удалось создать соединение до того, как мы начали работать над другим проектом, но аспирант меня учил работать в такой лаборатории и использовать методы очистки.



Rh/Ru-катализируемая [2+2+2] реакция

- Во втором году мы с аспирантом старались развивать новую реакцию, которая создаёт кольцо 10 или 11 членов с помощью Rh или Ru катализатора.
- В этой реакции, называемой «2+2+2 реакция», два электрона карбонильной группы, два электрона алкины, и два электрона алкены соединяются для того, чтобы создать новое кольцо.
- К сожалению, трудно было находить какие-нибудь картинки этой реакции, но у меня есть фотографии своей лаборатории органического синтеза.





SAFEAIRE

H1

WARNING

PASS

Airgas



10 hr
17:10 AM
9:16 AM
6 hr
11:41 AM
5:41 PM
3 hr
12:00 PM
3:00 PM

100 - 12:30
RT - 2:00
60 - 3:00
80 - 3:40

3 hr
7:38
8:00 PM

2:10
3:85
3:85

9:00 AM
- 20%

2:50
4:50
0.55

12

12
35



Needle-Needle
305196
18G 1/2

Needle-Needle
305196
22G 1/2

PARAFILM
4 IN
For Use in Your Dispenser

KIMTECH

Water
OFF ↑
ON ↓

RU0
n-Hexane, 9
REAGENT

0235
REAGENT

OH
1010

WATER

WR
20ml

Si

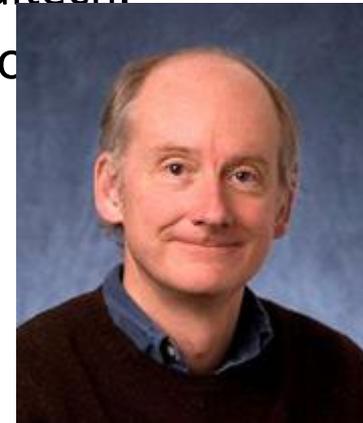
11/2

PROTECTIVE
SHEET

Si

Некоторые факты о УВ-Мадисона

- Наш университет является одним из крупнейших научно-исследовательских институтов в мире.
- Что касается самого исследования, профессора в Мадисона сделали некоторые из самых главных открытий в разных областях.
- Например, в 2007-ом году профессор в Мадисоне, Джэмс Томас, сделал большой шаг вперёд в области изучения стволовых клеток.
- Выпускники УВ-Мадисона часто поступают в аспирантуру в самые лучшие научно-исследовательские университеты в США, как, например, UC-Berkeley, Harvard, MIT, and Caltech.
- После того, как они получают Ph.D, крупные про... компании их принимают работать с ними.



Несколько заключений

- Судя по студентам, с которыми я пообщался здесь, мне кажется, что в МГУ предоставляется более интенсивный и глубокий теоретический курс обучения, чем в США, и в МГУ одновременно очень хорошо готовят студентов к работе в лаборатории и к аспирантуре посредством обязательной дипломной работы.
- С другой стороны, сейчас я гораздо лучше понимаю, что в США у нас есть больше возможностей в области исследования, именно потому что у нас существуют деньги, а здесь, к сожалению, есть большое отсутствие. Поэтому, я сильно уважаю тех, кто решает работать в науке в России.
- Конечно, обе системы имеют собственные положительные и отрицательные черты, но в конце концов, наши университеты просто отличаются друг от друга, и это не плохо.
- Я очень рад тому, что у меня была такая возможность немножко работать в российской лаборатории, и я надеюсь, что у меня будет такая возможность ещё раз в будущем.

Спасибо за
внимание!

