

Оптимизация протокола прямого репрограммирования фибробластов в средние шипиковые нейроны для изучения болезни Хантингтона

Научный руководитель – Безпрозванный Илья Борисович

Красковская Нина Александровна

Сотрудник

Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург,
Россия

E-mail: ninakraskovskaya@gmail.com

В настоящем проекте разрабатывается новый подход к моделированию болезни Хантингтона (БХ) *in vitro*. При БХ в первую очередь поражается стриатум, а именно средние шипиковые нейроны (СШН). Дегенерация клеток стриатума приводит к нарушениям двигательной активности, семантически объединенных термином «хорея», которая является главным клиническим симптомом данного заболевания. Наиболее распространённым способом получения нейрональных клеток из соматических клеток пациентов является использование индуцированных плюрипотентные стволовые клеток (Induced pluripotent stem cells - iPS or iPSCs). Однако применение iPS для моделирования БХ имеет ряд недостатков, поскольку данное заболевание является возраст-ассоциированной нейропатологией. Поэтому вопрос насколько «молодые» популяции нейронов, такие как iPS, моделируют патофизиологические процессы, происходящие в «зрелых» клетках при развитии нейропатологий, остается открытым. Принципиально новый подход к моделированию болезни Хантингтона (БХ), основанный на прямом репрограммировании фибробластов пациентов в нейроны при помощи микро-РНК был предложен в качестве альтернативы iPS [1]. Ключевым элементом данного подхода, в отличие от iPS, является сохранение всей эпигенетической информации, заложенной в клетках. Таким образом, за счет сохранения возраст-ассоциированного фенотипа, становится возможным изучать патофизиологические особенности развития заболевания на каждой стадии нейропатологии.

В настоящей работе был оптимизирован оригинальный протокол репрограммирования, что позволило получить гомогенную популяцию СШН. В частности, >95% клеток окрашены на маркеры зрелых нейронов MAP2 и β -тубулин III. Кроме того, в оптимизированном протоколе >90% клеток окрашены на маркер нейронов стриатума - гаммааминомасляную кислоту (GABA) и маркер СШН белок DARPP-32, в отличие от оригинального протокола, где только 70% клеток окрашивались на GABA, и 60% окрашивались на DARPP-32. Кроме того, в условиях ко-культивирования с нейронами коры мышей, репрограммированные СШН способны к формированию синапсов, что морфологически выражалось в появлении на дендритном древе СШН дендритных шипиков.

Таким образом, модифицированный протокол позволяет получить гомогенную популяцию СШН, что существенно снижает вариабельность в функциональных исследованиях и облегчает интерпретацию полученных результатов, что может быть полезно при изучении молекулярных основ патогенеза БХ.

Выражаю благодарность научному руководителю Безпрозваному И.Б, за возможность выполнения представленной работы, ценные указания и рекомендации.

Источники и литература

- 1) Victor, M.B., et al., Generation of human striatal neurons by microRNA-dependent direct conversion of fibroblasts // *Neuron*. 2014. № 84(2). С. 311-323.