

Создание клеточной модели спиноцереbellарной атаксии 27В-типа с использованием индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека

Научный руководитель – Воловикова Егор Алексеевич

Балезина Екатерина Александровна

Студент (магистр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра генетики, Москва, Россия

E-mail: katebalezina@gmail.com

Спиноцереbellарная атаксия типа 27В (СЦА-27В) – наследственное аутосомно-доминантное заболевание, вызванное экспансией GAA-повторов в интроне гена *FGF14*. Клиническая картина развития заболевания включает медленно прогрессирующую мозжечковую атаксию, часто сочетающуюся с другими симптомами. Тяжесть заболевания зависит от количества тринуклеотидных повторов в интроне гена *FGF14* [1, 3]. Молекулярные механизмы патогенеза СЦА-27В малоизучены, а эффективных способов лечения не существует, поэтому остро стоит необходимость создания моделей для изучения СЦА-27В.

Нейроны пациентов труднодоступны для анализа, а животные модели не всегда воспроизводят процессы, характерные для нейронов человека. Благодаря неограниченному пролиферативному потенциалу и способности превращаться в любые клетки организма, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки человека (ИПСК) открывают широкие перспективы для моделирования нейродегенеративных заболеваний [2].

Из биоптата кожи пациента с диагностированной СЦА-27В, вызванной патогенной экспансией GAA-повторов в гене *FGF14*, были получены культуры фибробластов кожи. Фибробласты репрограммировали при помощи эписомных векторов, экспрессирующих *SOX2*, *OCT4*, *KLF4*, *L-MYC*, *LIN28*, *tp53DD* и *EBNA1*. Колонии клеток, морфологически схожих с ИПСК, отбирали и культивировали как отдельные клоны. Выбранный для дальнейшей работы клон имел нормальный кариотип (46,XY). Генетическую идентичность клеткам донора проверяли STR-анализом, наличие экспансии подтвердили ПЦР. Полученная линия ИПСК экспрессировала маркеры плюрипотентности *SOX2*, *SSEA4*, *OCT4*, что подтверждено иммуноцитохимическим анализом и проточной цитофлуориметрией. Способность полученной линии ИПСК образовывать клетки – производные трех зародышевых листков – подтверждена ненаправленной дифференцировкой через стадию эмбрионидных тел.

На основе полученной и охарактеризованной линии ИПСК, несущей мутацию в гене *FGF14*, были получены ГАМК-ергические и дофаминергические нейроны, а также мозговые органоиды для дальнейшего изучения механизмов патогенеза СЦА-27В. Таким образом, полученная нами линия ИПСК может быть использована для моделирования СЦА-27В.

Источники и литература

- 1) Clément G., Puisieux S., Pellerin D., Brais B., Bonnet C., Renaud M. Spinocerebellar ataxia 27B (SCA27B), a frequent late-onset cerebellar ataxia // *Revue Neurologique*. 2024. V. 180. № 5. P. 410–416.
- 2) Takahashi K., Yamanaka S. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors // *Cell*. 2006. V. 126. № 4. P. 663–676.

- 3) 2. Takahashi K., Yamanaka S. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors // Cell. 2006. V. 126. № 4. P. 663–676.
3. Wilke C., Pellerin D., Mengel D., Traschütz A., Danzi M.C., Dicaire M.-J., Neumann M., Lerche H., Bender B., Houlden H., RFC1 study group, Faber J., Roxburgh R., Pedroso J.L., Alvez P.C., Barsottini O., Pane C., Saccà F., Filla A., et al. GAA- FGF14 ataxia (SCA27B): phenotypic profile, natural history progression and 4-aminopyridine treatment response // Brain. 2023. V. 146. № 10. P. 4144–4157.