

Мозговые органоиды, полученные из ИПСК пациентов, как перспективная модель для изучения морфологии первичной реснички при спиноцеребеллярной атаксии 17 типа

Научный руководитель – Алиева Ирина Борисовна

Жукова Алина Дмитриевна

Студент (бакалавр)

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

E-mail: alisazhukova2020@gmail.com

Первичная ресничка является ключевой сенсорной органеллой клетки, активно участвующей в сигналинге, в том числе в клетках головного мозга. Экспансия в ассоциированном с ресничкой гене *TTBK2*, кодирующем киназу тубулинов и тау-белков *TTBK2*, приводит к развитию такого нейродегенеративного заболевания, как спиноцеребеллярная атаксия 11 типа (SCA11). Однако существуют типы SCA, развивающиеся в результате экспансии в генах, напрямую не связанных с первичной ресничкой. Например, в случае SCA17 мутация возникает в гене *TBP*, кодирующем транскрипционный фактор TBP. При этом результаты анализа транскриптома мозговых органоидов пациента с SCA17 продемонстрировали сниженный уровень экспрессии целого сета генов, ассоциированных с первичной ресничкой. При SCA17 поражаются нейроны мозжечка, коры головного мозга, среднего мозга. Поэтому мозговые органоиды, полученные из клеток пациентов, могут быть рабочей моделью для анализа структурных изменений первичной реснички в нейронах, ассоциированных с SCA17.

Целью данной работы было получение мозговых органоидов из ИПСК пациентов с спиноцеребеллярной атаксией 17 типа и последующее изучение структуры первичной реснички в клетках пациентов с SCA17.

Были получены органоиды среднего мозга из нейрональных прогениторных клеток, дифференцированных из ИПСК двух пациентов, здоровой носительницы мутации и трех здоровых доноров. Подобраны праймеры к генам *DYNC2H1* и *TRAF3IP1*, продемонстрировавшим сниженную экспрессию по данным анализа транскриптома. Проведена оценка экспрессии *DYNC2H1* и *TRAF3IP1* с помощью количественной ОТ-ПЦР, в результате чего выявлен достаточно высокий для дальнейшего анализа уровень экспрессии. Отработана методика пробоподготовки и получены образцы для электронно-микроскопического анализа органоидов. Ультратонкие срезы, изготовленные из этих образцов, проанализированы методом трансмиссионной электронной микроскопии. На полученных препаратах выявлены первичные реснички и описана их структура. Из высаженных органоидов получены 2D-культуры и проведено их иммуноцитохимическое окрашивание для выявления первичных ресничек. Полученные данные будут представлены на конференции.

Таким образом, органоиды среднего мозга, полученные из клеток пациентов, больных SCA17, являются перспективной моделью для изучения морфологии первичной реснички при SCA17.