

Трёхмерная визуализация нейрогенеза мозга взрослой мыши

Научный руководитель – Лазуткин Александр Алексеевич

Доронин Иван Андреевич

Студент (магистр)

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

E-mail: IADoronin@yandex.ru

В настоящее время активно развиваются методы, позволяющие получать трёхмерные изображения целых органов и тканей с клеточным разрешением. Объёмные изображения дают более полную картину по сравнению с традиционными плоскими снимками и позволяют исследовать образец с разных ракурсов и проекций и выявлять пространственно сложные паттерны.

Целью настоящей работы было визуализировать процессы деления и миграции предшественников нейронов в головном мозге мышей. У грызунов нейрогенез во взрослом мозге протекает преимущественно в двух областях: в зубчатой извилине гиппокампа и субвентрикулярной зоне (СВЗ). Из СВЗ клетки мигрируют в обонятельные луковицы по ростральному миграционному пути [1,2,3]. Для маркирования делящихся клеток использовали синтетический аналог тимидина EdU (2'-дезоксид-5-этилтилуридин), выявляемый с помощью клик-реакции. В ходе работы были подобраны дозы EdU, позволяющие получать сигнал необходимой интенсивности на изображении. Для выявления клеток, содержащих EdU, была разработана новая методика окраски, так как имеющиеся на сегодняшний момент протоколы не подходили для окраски целых образцов. Окрашенные образцы, содержавшие флуоресцентные метки в поделившихся клетках, были сняты на двухфотонном серийном томографе [5] и светоплоскостном флуоресцентном микроскопе (СПФП)[4]. Образцы перед съёмкой на СПФП были просветлены по протоколу 3DISCO+. Для устранения некоторых артефактов съёмки и окраски, критически влияющих на восприятие трёхмерного изображения была написана программа в среде MATLAB. В результате проведенных работ была создана технология, позволяющая производить морфологический анализ зон пролиферации и миграции клеток в цельных образцах головного мозга взрослых мышей. Работа выполнена при поддержке грантов Министерства образования и науки РФ 15-29-01305 офи_м, РФФИ, 16-15-00294 РФФ

Источники и литература

- 1) Bonaguidi M. A., Wheeler M. A., Shapiro J. S., Stadel R. P., Sun G. J., Ming G.-l., Song H.. In vivo clonal analysis reveals self-renewing and multipotent adult neural stem cell characteristics// Cell 145. 2011. 1142-1155.
- 2) Doetsch F., Caillé I., Lim D. A., García-Verdugo J. M., Alvarez-Buylla A.. Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain//Cell 97. 1999. 703-716.
- 3) Morozov A., Lazutkin A., Turchin I., Kamenskii V., Fiks I., Bezryadnov D., Ivanova A., Toptunov D., Anokhin K.. Fiberoptic fluorescent microscopy in studying biological objects// Quantum Electronics 40. 2010. 842-846.
- 4) Ragan T., Kadirli L., Venkataraju K., Bahlmann K., Sutin J., Taranda J., Arganda-Carreras I., Kim Y., Osten P.. Serial two-photon tomography for automated ex vivo mouse brain imaging//Nature Methods 9. Nature Methods 9, 255–258. 2012. 255–258