

Изучение эффектов патогенного варианта р.N370S в гене GBA1 на клеточной модели болезни Паркинсона

Научный руководитель – Григорьева Елена Викторовна

Яркова Елена Сергеевна

Студент (магистр)

Новосибирский государственный университет, Факультет естественных наук,
Новосибирск, Россия

E-mail: e.drozdova2@g.nsu.ru

Болезнь Паркинсона (БП) – это второе по распространённости нейродегенеративное заболевание после болезни Альцгеймера. Среди многочисленных генетических факторов риска БП выделяют мутации в гене *GBA1*, в частности р.L444P и р.N370S, поскольку они являются наиболее распространёнными.

Ген *GBA1* кодирует фермент глюкоцереброзидазу, которая расщепляет сфинголипиды в лизосоме. Мутации в гене *GBA1* приводят к дисфункции фермента, что становится причиной стресса ЭПР, окислительного стресса, накопления телец Леви и последующей гибели нейронов среднего мозга.

Изучение всех этих процессов позволит лучше понять патогенные механизмы, которые приводят к развитию БП, и подобрать новые терапевтические мишени. Для реализации данных задач необходимо разрабатывать релевантные клеточные модели.

Материалы и методы

Путём репрограммирования мононуклеаров двух носителей варианта р.N370S в гене *GBA1* эписомными векторами, экспрессирующими факторы плюрипотентности (ОСТ4, KLF4, L-MYC, SOX2, LIN28, Trp53), получили 6 линий индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК). Клетки проверили на кариотип, маркёры плюрипотентности и потенциал дифференцировки. Дифференцировку в нейральном направлении провели с использованием факторов роста и ингибиторов, в частности: TGF- β 3, SB431542, CHIR99021, FGF-8b и др. Эффективность дифференцировки проверили иммунофлуоресцентным анализом и количественной ПЦР на маркёры производных среднего мозга. Клетки сокультивировали с 50 мкМ амброксола или 4 мкМ NCGC00241607 в течении 21 дня. Фармакологические шапероны (ФШ) любезно предоставлены коллегами из НИЦ «Курчатовский институт».

Результаты исследования

Получено 6 линий ИПСК. Клетки имеют нормальный кариотип, экспрессируют маркёры плюрипотентности и способны дифференцироваться в три зародышевых листка. ИПСК запустили в дифференцировку в направлении нейральных производных среднего мозга. По результатам иммунофлуоресцентного окрашивания и количественной ПЦР видно, что культуры экспрессируют маркёры данной части мозга (FOXA2, LMX1A, SOX6, OTX2). Исследование структуры популяции на более поздних стадиях дифференцировки демонстрирует наличие маркёров зрелых дофаминергических нейронов (TH) и астроцитов (S100 β , GFAP). Тестирование на полученной клеточной модели амброксола и NCGC00241607 показало, что данные соединения повышают активность GCase. Также было выяснено, что амброксол не влияет на экспрессию гена *GBA1* и основных генов-маркёров среднего мозга.

На данном этапе работы на созданной платформе изучаются влияние окислительного стресса на патогенез БП, а также потенциальная способность ФШ положительно влиять на работу антиоксидантных систем в клетке.

Выводы

В ходе работы получена клеточная модель GBA-БП и проведён скрининг потенциальных ФШ глюкоцереброзидазы. Необходимо продолжать изучение возможных влияний ФШ на внутриклеточные процессы, вовлеченные в патогенез БП.

Работа поддержана грантом РНФ №23-15-00224.