

Клеточная модель для функционального анализа вклада генетического варианта с.1087G>T (p.Gly363Cys) в патогенез болезни Паркинсона

Научный руководитель – Григорьева Елена Викторовна

Подвысоцкая Валерия Сергеевна

Студент (бакалавр)

Новосибирский государственный университет, Факультет естественных наук,
Новосибирск, Россия

E-mail: v.podvysotskaya@g.nsu.ru

Создание клеточных моделей с помощью индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) — это широко используемый метод для исследования молекулярно-генетических механизмов патогенеза наследственных заболеваний человека. Так как ИПСК являются аналогом эмбриональных стволовых клеток, их состояние плюрипотентности позволяет получать любые клетки организма путём направленной дифференцировки. Наиболее актуальным на сегодняшний день является моделирование клеток головного мозга при нейродегенеративных заболеваниях [3]. Данная работа посвящена созданию клеточной модели болезни Паркинсона на основе дофаминергических нейронов (ДА-нейронов) из пациент-специфичных ИПСК.

Несмотря на существование множества локусов, ассоциированных с болезнью Паркинсона, особый интерес в моей работе представляет ген *LGR4*, связь которого с заболеванием не была доказана. Белок, который кодирует этот ген, отвечает за функционирование WNT/ β -катенин сигнального пути. WNT путь, в свою очередь, участвует в дифференцировке ДА-нейронов на эмбриональной стадии развития [2]. Поэтому, мы предполагаем, что мутация с.1087G>T (p.Gly363Cys) в гене *LGR4* может быть причиной возникновения болезни Паркинсона с ранним началом.

Методы

Мононуклеары периферической крови пациентов с ранним началом болезни Паркинсона с мутацией в гене *LGR4* были репрограммированы для возврата к плюрипотентному состоянию. Полученные линии ИПСК культивировали, а затем проводили характеристику на плюрипотентность [1]: способность к спонтанной дифференцировке, иммунофлуоресцентный анализ и qPCR на маркёры плюрипотентности, кариотипирование, окраска на щелочную фосфатазу. Затем линии ИПСК были запущены в направленную дифференцировку в ДА-нейроны. На терминальной стадии проводилось иммунофлуоресцентное окрашивание на выявление маркёров ДА-нейронов (TH, TUBB3/TUJ1, SOX6, OTX2).

Результаты

Охарактеризовано 7 линий ИПСК от 2 пациентов. Тест на спонтанную дифференцировку, qPCR и иммунофлуоресцентный анализ подтвердили статус плюрипотентности линий. Клетки имеют нормальный кариотип и морфологически соответствуют плюрипотентным. Иммунофлуоресцентная окраска подтвердила наличие ДА-нейронов в культуре клеток.

Выводы

Получена клеточная модель ДА-нейронов для изучения патогенности варианта с.1087G>T (p.Gly363Cys) в гене *LGR4* при болезни Паркинсона.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Фонда научно-технологического развития Югры в рамках научного проекта № 2023-573-05.

Источники и литература

- 1) Grigor'eva EV, Kopytova AE, Yarkova ES, Pavlova SV, Sorogina DA, Malakhova AA, Malankhanova TB, Baydakova GV, Zakharova EY, Medvedev SP, Pchelina SN, Zakian SM (2023) Biochemical Characteristics of iPSC-Derived Dopaminergic Neurons from N370S GBA Variant Carriers with and without Parkinson's Disease. *International Journal of Molecular Sciences* 24, 4437. doi:10.3390/ijms24054437.
- 2) Marchetti B, Tirolo C, L'Episcopo F, Caniglia S, Testa N, Smith JA, Pluchino S, Serapide MF (2020) Parkinson's disease, aging and adult neurogenesis: Wnt/ β -catenin signalling as the key to unlock the mystery of endogenous brain repair. *Aging Cell* 19, e13101. doi:10.1111/acer.13101.
- 3) Yasuhara T, Kameda M, Sasaki T, Tajiri N, Date I (2017) Cell Therapy for Parkinson's Disease. *Cell Transplantation* 26, 1551–1559. doi:10.1177/0963689717735411.