

Снижение регенеративного потенциала нейроглиальной культуры в ответ на ингибирование CDK8/19

Научный руководитель – Бакаева Занда Валериевна

Маслов Андрей Алексеевич

Студент (бакалавр)

Кафедра клеточной биологии и гистологии, Россия

E-mail: andrewmaslov@yandex.ru

CDK8 и его паролог CDK19 в составе с циклином C, MED12 и MED13 формируют киназный модуль Медиатора, одного из ключевых компонентов холофермента РНК-полимеразы II [3]. Известно, что в эмбриогенезе эти циклин-зависимые киназы регулируют активацию и ингибирование множества генов, ответственных за развитие и дифференцировку клеток [4], и сохраняют свою активность в стволовых клетках [2]. Миссенс мутации у людей в генах, кодирующих эти белки, приводят к лицевому дисморфизму, умственной отсталости, задержке моторного развития и другим заболеваниям [1]. Однако, механизмы, по которым недостаток CDK8/19 в клетках мозга приводил к такой симптоматике, не вполне ясны.

Целью данной работы является исследование влияния CDK8/19 на развитие нейрональной сети, определение выживаемости клеток и регенерационного потенциала первичной нейроглиальной культуры с дефицитом CDK8/19.

Все эксперименты были осуществлены с первичными нейроглиальными культурами мышей дикого типа C57BL/6 и применением селективного ингибитора CDK8/19 сенекси-на В. В рамках работы была произведена модель механической травмы на культурах и подсчет суммарной площади нейритов в области травмы спустя 5 дней после добавления ингибитора. Было показано, что обработка культур сенексином В приводила к значимому сокращению общей площади нейритов на 15-30%. Также были проведены МТТ-тесты на семидневных культурах, LD50 равен 10 мкМ. Была измерена концентрация свободных ионов Ca²⁺ в ответ на добавление глутамата (2 мМ и 100 мкМ соответственно). Первичный ответ перед отсроченной кальциевой дизрегуляцией в культурах с сенексином В был снижен, что говорит о нарушении митохондриального гомеостаза. Вестерн-блоттинг выявил каспазу 3 и расщепленный PARP, классические апоптотические белки. Наконец, были проведены ПЦР тестирования. Анализ экспрессии генов, ассоциированных с межклеточной адгезией, дал неоднозначные результаты. Так, экспрессия ICAM-1 была подавлена в ингибированных культурах, в то время как Fn1 была, наоборот, повышена.

Таким образом, ингибирование CDK8/19 влечет к снижению выживаемости нейронов и подавлению формирования нейритов в первичной нейроглиальной культуре, возможно, вследствие нарушения гомеостаза митохондрий. Также снижение экспрессии ICAM-1 может говорить об угнетении межклеточных контактов

Источники и литература

- 1) Calpena, Eduardo et al. "De Novo Missense Substitutions in the Gene Encoding CDK8, a Regulator of the Mediator Complex, Cause a Syndromic Developmental Disorder." American journal of human genetics vol. 104,4 (2019): 709-720.
- 2) Dannappel, Marius V et al. "CDK8 and CDK19 regulate intestinal differentiation and homeostasis via the chromatin remodeling complex SWI/SNF." The Journal of clinical investigation vol. 132,20 e158593. 17 Oct. 2022

- 3) Luyties, Olivia, and Dylan J Taatjes. "The Mediator kinase module: an interface between cell signaling and transcription." *Trends in biochemical sciences* vol. 47,4 (2022): 314-327.
- 4) Postlmayr, Andreas et al. "Cdk8 is required for establishment of H3K27me3 and gene repression by Xist and mouse development." *Development (Cambridge, England)* vol. 147,11 dev175141. 11 Jun. 2020