

**Получение и направленная дифференцировка в дофаминергические нейроны пациент-специфичных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток с мутацией в гене GBA, вызывающей болезнь Паркинсона**

**Научный руководитель – Григорьева Елена Викторовна**

*Пилицкая О.И.<sup>1</sup>, Сорогина Д.А.<sup>2</sup>, Дроздова Е.С.<sup>3</sup>*

1 - Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия, *E-mail: o.pilitskaya@g.nsu.ru*; 2 - Новосибирский государственный университет, Факультет естественных наук, Новосибирск, Россия, *E-mail: d.sorogina@g.nsu.ru*; 3 - Новосибирский государственный университет, Факультет естественных наук, Новосибирск, Россия, *E-mail: e.drozdova2@g.nsu.ru*

Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК) являются перспективным инструментом фундаментальных исследований различных генетических заболеваний, в том числе и нейродегенеративных. Преимущества использования ИПСК заключаются в способности к неограниченной пролиферации, направленной дифференцировке в любой тип узкоспециализированных клеток и возможности исследования основ патогенеза заболеваний на ранних стадиях развития. В нашей работе создавалась клеточная модель болезни Паркинсона на основе пациент-специфичных ИПСК с дальнейшей их направленной дифференцировкой в дофаминергические нейроны.

Болезнь Паркинсона является одним из самых распространенных нейродегенеративных заболеваний, которое характеризуется гибелью дофаминергических нейронов. Основными клиническими проявлениями данного заболевания является тремор, брадикинезия, ригидность, а также психиатрические и вегетативные нарушения. Поражение нейронов может быть связано с мутациями в различных генах. Известно, что мутации в гене GBA приводят к снижению активности лизосомного фермента глюкоцереброзидазы, участвующего в деградации сфинголипидов. В результате образуются нейротоксичные модификации  $\alpha$ -синуклеина, которые агрегируют в фибриллы и формируют тельца Леви [2]. У пациентов с GBA-мутацией раньше проявляются различные паркинсонические фенотипы и связанные с ними когнитивные изменения [1].

Для работы были взяты мононуклеарные клетки периферической крови от двух пациентов с болезнью Паркинсона и перепрограммированы в ИПСК с использованием эписомных векторов, кодирующих факторы плюрипотентности (OCT4, KLF4, L-MYC, SOX2, LIN28 и Trp53). Наличие мутации GBA подтверждалось секвенированием. Полученные линии клеток обладали типичной морфологией плюрипотентных клеток. Иммуногистохимическое выявление эндогенной щелочной фосфатазы, иммунофлуоресцентное окрашивание, а также количественная ПЦР в реальном времени (qPCR) на маркеры плюрипотентности подтвердили плюрипотентный статус полученных линий пациент-специфичных ИПСК. Далее при помощи цитокинов, малых молекул и ростовых факторов была проведена направленная дифференцировка в дофаминергические нейроны.

Данные линии в дальнейшем будут использованы для изучения основ патогенеза болезни Паркинсона, а также для тестирования потенциальных медицинских препаратов.

#### **Источники и литература**

- 1) Gómez-Benito, M., Granada, N., ... Moratalla, R. Modeling Parkinson's Disease With the Alpha-Synuclein Protein// *Frontiers in Pharmacology*. -2020. -11:356
- 2) Zhang, G., Xia, Y., ... Wang, T. New Perspectives on Roles of Alpha-Synuclein in Parkinson's Disease// *Frontiers in Aging Neuroscience*. -2018. -10:370