

## Генетическое репрограммирование фибробластов человека с мутацией в гене *ATXN1* до плюрипотентного состояния

Научный руководитель – Лагарькова Мария Андреевна

*Воловиков Егор Алексеевич*

*Студент (бакалавр)*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра генетики, Москва, Россия

*E-mail: volovikovea@gmail.com*

Среди наследственных нейродегенеративных заболеваний человека можно выделить группу заболеваний, вызванных экспансией полиглутаминовых участков (pQ) в белках. Среди возможных причин, ведущих к нейродегенерации, выделяют: изменение конформации белка с удлиненным pQ трактом; его “неправильная” сборка, приводящая к образованию токсичных агрегатов; нарушение работы факторов транскрипции при взаимодействии с мутантным белком; образование токсичных фрагментов, содержащих pQ участки; а также различные комбинации этих механизмов (1). К этому классу заболеваний относится спиноцеребеллярная атаксия первого типа (SCA-1) - аутосомно-доминантное нейродегенеративное заболевание, вызванное экспансией CAG повторов в гене *ATXN1*, расположенном на 6 хромосоме и кодирующем белок ataxin-1. Этот белок связывается с мРНК и участвует в ее метаболизме. Тяжесть заболевания зависит от длины CAG участка. При SCA-1 наблюдается гибель клеток Пуркиньи и дегенерация оливо-мозжечковых путей. На клиническом уровне наблюдаются атаксия, офтальмоплегия и пирамидное расстройство (3).

В связи с ограниченной доступностью для изучения нервной ткани человека, использование животных моделей и клеточных культур является единственным способом изучения развития нейродегенеративных заболеваний. Открытие технологии генетического репрограммирования соматических клеток дало возможность получать индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК), которые обладают неограниченным пролиферативным потенциалом и способны дифференцироваться в любые типы клеток взрослого организма (2).

Из биоптатов кожи двух пациенток с мутацией в гене *ATXN1* были получены культуры фибробластов кожи. Из каждой культуры фибробластов путем доставки в клетку транскрипционных факторов OCT4, SOX2, KLF4, C-MYC при помощи лентивирусных векторов были получены линии ИПСК. Плюрипотентность полученных линий ИПСК была подтверждена в соответствии с международными стандартами методом иммунохимической окраски клонов на маркеры плюрипотентного состояния, тестом на формированием эмбрионидных тел, содержащих клетки трех зародышевых листков. Методом ОТ-ПЦР показано наличие мРНК факторов, необходимых для поддержания плюрипотентности. Амплификацией со специфическими праймерами к полиглутаминовому участку гена *ATXN1* было подтверждено наличие избыточных повторов в одном из аллелей. Также был проведен кариотипический анализ линий ИПСК, подтвердивший их нормальный кариотип (46XX). Полученные и охарактеризованные линии ИПСК, несущие мутацию в гене *ATXN1*, впоследствии будут применены для получения модельных культур нейронов для изучения механизмов патогенеза SCA-1.

**Источники и литература**

- 1) Adegbuyiro A et al. Proteins containing expanded polyglutamine tracts and neurodegenerative disease. // Biochemistry. 2017. in press.
- 2) Takahashi K., Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. // Cell. 2006. Vol. 126, № 4. P. 663–676.
- 3) OMIM.org: <http://omim.org/entry/164400>