

ВЛИЯНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ШАПЕРОНОВ НА АКТИВНОСТЬ ГЛЮКОЦЕРЕБРОЗИДАЗЫ В ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНАХ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ИПСК

Научный руководитель – Григорьева Елена Викторовна

Дроздова Елена Сергеевна

Студент (бакалавр)

Новосибирский государственный университет, Факультет естественных наук,

Новосибирск, Россия

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

Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки, способные неограниченное время жить в культуре и дифференцироваться в релевантные типы клеток, все чаще используют при создании пациент-специфичных клеточных моделей различных патологий. Например, болезни Паркинсона (БП) - мультифакториального нейродегенеративного заболевания, поражающего дофаминергические (ДА) нейроны головного мозга.

Одна из причин развития болезни - гетерозиготные мутации в гене *GBA* (*GBA*-БП), снижающие активность фермента глюкоцереброзидазы [2]. Это приводит к накоплению сфинголипидов в лизосомах и последующему формированию телец Леви.

Известные особенности мутаций в гене *GBA* позволили предположить лечебный эффект фармакологических шаперонов (ФС), повышающих активность глюкоцереброзидазы. Примерами таких веществ являются амброксол и NCGC00241607.

Методы

Мононуклеарные клетки двух пациентов (больной БП и бессимптомный носитель) с мутацией N370S в гене *GBA1* перепрограммировали к плюрипотентному состоянию. Провели характеристику полученных линий ИПСК [1]: кариотипирование; иммунофлуоресцентный анализ на экспрессию маркеров плюрипотентности; кПЦР на маркеры плюрипотентности; тест на спонтанную дифференцировку. Получили ДА-нейроны путем направленной дифференцировки ИПСК. Для оценки эффективности использовали иммунофлуоресцентную окраску на маркеры ДА-нейронов (TH, LMX1A). Полученные ДА-нейроны культивировали в присутствии ФС: 50 мкМ амброксол, 4 мкМ NCGC00241607 и его химических модификации.

Результаты

Охарактеризовано по 3 линии ИПСК от каждого пациента. Клетки имеют нормальный кариотип. Иммунофлуоресцентный анализ, кПЦР и тест на спонтанную дифференцировку подтверждают плюрипотентность линий. Иммунофлуоресцентная окраска подтвердила наличие в культуре ДА-нейронов. Показано, что ФС повышают активность глюкоцереброзидазы.

Выводы

Созданную нами модель на основе ДА-нейронов можно использовать для скрининга потенциальных лекарственных препаратов.

Работа поддержана грантом РФФ №19-75-20063

Источники и литература

- 1) Grigor'eva E.V., Drozdova E. S., Sorogina D. A., Malakhova A. A., Pavlova S.V., Vyatkin Y.V., Khabarov E. A., Rzaev J. A., Medvedeva S. P., Zakiana S. M. Generation of induced pluripotent stem cell line, ICGi034-A, by reprogramming peripheral blood mononuclear cells from a patient with Parkinson's disease associated with *GBA* mutation // Stem Cell Research – 2022 – V.59(5):102651. DOI:10.1016/j.scr.2021.102651

- 2) Senkevich, K. A., Kopytova, A. E., Usenko, T. S., Emelyanov, A. K. & Pchelina, S. N. Parkinson's Disease Associated with GBA Gene Mutations: Molecular Aspects and Potential Treatment Approaches // Acta Naturae – 2021 – V. 13(2) - p. 70-78. DOI:10.32607/actanaturae.11031