



Резюме на проект по Фонд „Наука“ № 24026 – Есенна конкурсна сесия 2024:
„Откриване на нови маркери за прогениторни клетки в мозъка при примати чрез анализ на гени с повишена постисхемична експресия в стволово-клетъчни ниши“
Ръководител: Гл. ас. д-р Мартин Николаев Иванов, дм

Адултната неврогенеза представлява процес на формиране на неврони от невронални стволови клетки в региони на мозъка, известни като „неврогенни ниши“. Тези области включват субвентрикуларната зона на страничния вентрикул в крайния мозък (SVZ) и субгрануларната зона на хипокампаалния дентатен гирус (SGZ). SVZ се простира от предния рог на страничния вентрикул (предна SVZ, SVZa) до темпоралния/долния рог (долна SVZ, SVZi). Стволовите клетки в SVZa могат да произвеждат неврони, докато прогениторите в SVZi формират само глиални клетки. Предходни изследвания на екипа показаха, че мозъчната исхемия води до диференциално променена (повишена или понижена) експресия на около 1000 гена в SVZa и SVZi. Биоинформатични анализи показаха, че предимно гените, чиято експресия е повишена след исхемия в някоя от двете зони (SVZa или SVZi), са функционално свързани с прогениторните клетки и тяхната биология.

В настоящия проект целта е да се изследват само тези гени, чиято експресия се повишава след исхемия и в двете стволови-клетъчни ниши: SVZa и SVZi, тъй като тези гени имат голям потенциал да маркират стволови клетки. За осъществяването на тази цел ще бъдат използвани проби от възрастни примати (маймуни), подложени на глобална мозъчна исхемия. Мозъчната хипоксия стимулира транскрипцията на гени, които подпомагат деленето и диференциацията на стволовите клетки в мозъка. Предходни биоинформатични анализи на РНК секвениране откриха кои са гените, чиято експресия се повишава в SVZa и SVZi след исхемия. В настоящия проект екипът планира да изследва една значителна част от тези над 130 гени на ниво, което достига клетъчна резолюция: анализ чрез *in situ* хибридизация (ISH) на тъканни срези от нормални и исхемични тъкани от SVZa и SVZi.

Експресията на гените в неврогенната зона SVZa ще бъде сравнена с тази на гените в неневрогенната зона SVZi, като установяването на едни и същи гени с повишена експресия в двете зони би означавало важна роля на тези гени в клетъчните процеси, присъщи и за двете области. На първо място, целта е да се открият някой/някои от тези гени като нови потенциални маркери за стволови/прогениторни клетки в приматния мозък, което на следващ етап да се валидира при хора.

За постигане на поставената цел се предвиждат следните **задачи**:

1. Идентифициране на гените, увеличени и двете зони (SVZa и SVZi) след исхемия;
2. Генериране на *in situ* проби за максимален възможен брой, около 25% от 130-те увеличени гени в SVZa и SVZi (30-35 гена);
3. Провеждане на *in situ* хистологичен анализ на експресията на минимум 10 гена, чиято експресия е увеличена както в SVZa, така и в SVZi при контролни и исхемични маймуни;
4. Обобщение на резултатите и идентифициране на нови маркери за стволови клетки в приматния мозък.

Очаквани резултати:

Основните предпоставки за успех на настоящия проект са вече налични за екипа: тъканни проби и хистологични срези от мозък на маймуни, извършено РНК секвениране, ноу-хау за провеждане на оцветяване чрез РНК *in situ* хибридизация. В рамките на проекта ще бъде докладвано за първи път в света:

1. Функционалните и фенотипни характеристики на гените с диференциална експресия след исхемия в SVZi и SVZa във формат на екселски таблици и диаграми;
2. Гените, които увеличават експресията си в SVZa или в SVZi след исхемия във формат на екселски таблици и диаграми;
3. Експресията *in situ* в SVZi и SVZa на минимум 10 гена под формата на микрографии и статистически данни за силата на експресия в контролни и исхемични срези. Снимки ще бъдат качени в онлайн атласа MONKEY-NICHE (<http://monkey-niche.org>);
4. Фенотипен анализ на един избран ген под формата на микрографии и статистически данни за процента на коекспресия с клетъчно-специфични маркери;
5. Идентификация на нов маркер за стволови клетки в приматния мозък.