



**Резюме на проект по Фонд „Наука“ № 18016 – Конкурсна сесия 2018:
„Роля на транскрипционен фактор Zbtb20 за развитието на кортикалните
интерневрони в мозък на бозайници“**

Ръководител: Проф. д-р Антон Божидаров Тончев, дмн

В проекта е планирано сравнение на количеството на различни видове интерневрони, обозначени чрез маркерни протеини като Гама-аминомаслена киселина (ГАМК), парвалбумин, соматостатин и калретинин по време на различни етапи от развитието на хомозиготния мутант (тестови индивиди) и дивия тип (контроли). За да бъде проследен механизмът на дефицитите, предизвикани от липсата на Zbtb20 в мозъка, ще бъде изследвано количеството и разпределението на известни регулатори на интерневрогенезата, на различни стадии от развитието на субпалиума при мишка. За постигане на тези цели, като основен метод ще бъде използвана имуофлуоресценция. Получените препарати ще бъдат заснети и образите ще бъдат подложени на анализ. В допълнение, ще бъде направено сравнение между хомозиготни спрямо хетерозиготни индивиди, за да бъде проверено дали Zbtb20 има доза-зависим ефект върху неврогенезата на интерневроните.

Кратко описание на очакваните резултати:

1. Поради вече известните сериозни нарушения в хипокампа и силно деформирания неокортекс, се очаква дефицит при интерневроните в тези зони.
2. Детайлна карта на експресията на Zbtb20 в субпалиума при нормални животни.
3. Предлагане на възможни механизми за ефекта на Zbtb20 върху нормалното развитие на интерневроните.
4. Тъй като хетерозиготните мутанти имат нормална продължителност на живота и по-слабо изразени дефицити, като цяло се очаква и анализът на интерневроните да покаже по-слабо дискретни нарушения. При силно проявен дефицит само в една субпопулация се очаква хетерозиготният мутант да бъде използван като модел за изучаването на функциите ѝ в други изследвания.

Постигнати резултати:

1. Анализирани гъстотата на Соматостатин-позитивните и Парвалбумин-позитивните интерневрони и подготвена предварителна фигура за публикация.

2. Направени бяха оцветявания за общите за CGE и MGE маркери Rln и Cr. Предварително получените резултати за ефекта на Zbtb20 върху MGE CINs позволиха оценяването и на промените в CGE CINs въпреки припокриването на експресията на тези протеини и в двете споменати зони. Анализирана гъстотата на клетките, подготвена предварителна фигура за публикация.
3. Анализирана гъстотата на CGE интерневрон чрез специфичните маркери Sp8 и Prox1. Подготвена предварителна фигура за публикация.
4. Извършено е броене на пролифериращи клетки в герминативни зони, маркирани с BrdU 40 мин. Поради по-трудната работа с ембрионални тъкани ще бъдат необходими допълнителни опитни животни. Резултатите трябва да бъдат потвърдени.
5. Изяснена е експресията на Zbtb20 в ембрионални животни. Изяснявана е и постнатална експресия в кортикални неврони чрез двойно оцветяване с панневроналният маркер NeuN. Не беше наблюдавано припокриване между двата маркера.
6. Сравнени са експресиите на панел от гени. Използвани са IF и ISH методи.
7. Сравняването на фенотипа между контролното и мутантното опитно животно беше започнато, но са необходими допълнителни тъкани. Има предварителни резултати.
8. Използвани методи: анализът бе направен по следния алгоритъм – заснемането на изготвените IF хистологични препарати бе извършено на Axio Imager 2 и монохромна камера AxioCamMrm. Ръчното им броене бе извършено във Fiji, а статистическият анализ бе направен в R.