



Резюме на проект по Фонд „Наука“ № 20029 – Конкурсна сесия 2020
„Роля на транскрипционен фактор Pax6 в развитието на малкомозъчна кора
на мишка“

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

В малкия мозък съществуват две основни популации от неврони: Гама-аминомаслена киселина (ГАМК)-ергични инхибиторни и глутаматергични възбудни клетки. Първата група неврони се образуват от ембрионалната вентрикулна зона на четвърто мозъчно стомахче (англ. ventricular zone, VZ) и експресират транскрипционния фактор Ptf1a. Вторият вид клетки се генерират в ембрионалната зона „ромбична устна“ (англ. Rhombic Lip, RL) и експресират транскрипционния фактор Pax6.

Целта на настоящото изследване е да се проучи функцията на Pax6 по време на развитието на малко-мозъчната кора, по-специално на глутаматергичните неврони в кората. За целта се използват тъкани от малък мозък на генетично модифицирана (трансгенна) мишка. Публикуваните досега резултати са върху мишки с обща (глобална) инактивация (knock-out, KO) на Pax6 гена. Тези мишки умират при раждането, което не позволява изследване на неврогенезата в кората на малкия мозък. При мишка неврогенезата се случва и след разяждането и приключва до постнатален ден 21 (P21). С цел превенция на тази перинатална смъртност, в настоящия проект е планирано използването на иновативен подход, който включва трансгенни животни със селективна инактивация на Pax6 в кората на малкия мозък (Pax6 conditional KO, Pax6сКО). Тези животни преживяват до адултна възраст, а в същото избирателно време изявяват редукция на нивата на Pax6 в кората на малкия мозък.

Сравняването на мутантни със здрави (контролни) животни на различни възрасти ще позволи анализирането на: 1) дефектите в морфогенезата (фолиация) на малкомозъчната кора; 2) ефектите на Pax6сКО върху количеството на глутаматергичните неврони в кората. Тези резултати за първи път ще покажат функцията на Pax6 за развитието на малкия мозък при бозайници, постнатално *in vivo*.

Настоящият проект ще покаже за първи път в света ефекта от загуба на функцията на гена Pax6 върху различни популации от клетки на развиващия се постнатален малък мозък.

По-конкретно, очаква се понижена експресия на маркери, които бележат глутаматергичните неврони в ядрата на малкия мозък, еднополярни четковидни клетки и зърнисти клетки при мутантите с Pax6 инактивация.

Също така, формулираната от екипа хипотеза гласи, че мутантите с Pax6сКО ще имат намалена площ и променена форма на фолиите на кората на малкия мозък. Очаква

се и променена експресия на маркери, които бележат ГАМК-ергичните неврони в малкия мозък.

За пръв път показваме миши модел (Рах6flox/flox) със селективно намалена експресията на транскрипционния фактор Рах6, в който мишките могат да бъдат изследвани след раждане (при тоталния нокаут на гена мишките загиват при раждане). Нашите резултати показват абнормена фолиация на кората на малкия мозък и наличие на ектопични огнища от хетерогенна популация ГАМК- и глутамат-ергични неврони при мутантите и доказват есенциалната роля на Рах6 за правилната фолиация на кората на малкия мозък.

В рамките на настоящия проект ние също така предоставяме доказателства, че съществува хетерогенност и в основните хистоморфологични параметри на медиалния (вермис) и латералния (малкомозъчните полукълба) домейн на кората на малкия мозък на мишката. Открихме, че кората на малкия мозък на нормални възрастни мишки има средно 42% по-ниска повърхност в полукълбата в сравнение с вермиса. Тази повърхност е неравномерно разпределена по малкомозъчните гънки. Във вермиса 4 от 10-те малкомозъчни гънки съставляват около 55% от общата кортикална повърхност, докато в полукълбата 3 от 6-те малкомозъчни гънки съставляват около 62% от общата повърхност. Неочаквано открихме, че зърнестия и молекулярния слой са с по-малка повърхност, но с по-голяма дебелина в полукълбата в сравнение с вермиса. Слой на Пуркиние има по-ниска (средно 46%) дължина в полукълбата в сравнение с дължината на вермиса. Тези резултати подчертават необходимата предпазливост при тълкуване на хистоморфологични промени, базирани на различни модели на заболяване на малкия мозък на мишката.