



Резюме на проект по Фонд „Наука“ № 21020 – Конкурсна сесия 2021:

„Сравнителен анализ на генна експресия в герминативни зони от приматния мозък с различен потенциал за невронална регенерация“

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

Стволовите клетки в мозъка при възрастните се локализируют предимно в субвентрикуларната зона, облицовваща страничния вентрикул на крайния мозък (subventricular zone, SVZ). Зоната SVZ се простира от предния рог на страничния вентрикул (anterior SVZ; SVZa) до темпоралния/ долния му рог (inferior SVZ, SVZi). Стволовите клетки в SVZa са способни да се диференцират до неврони, докато в SVZi прогениторите имат ограничен потенциал и образуват само глия.

Целта на настоящия проект е да изследва различията в генната експресия между двете зони (SVZa и SVZi) на геномно ниво. За целта ще бъдат използвани проби от SVZa и SVZi на възрастни примати (маймуни), подложени на глобална мозъчна исхемия – интервенция, стимулираща деленето и диференциацията на мозъчните стволови клетки. Екипът на проекта вече разполага с транскриптомни данни от новогенерационно РНК секвениране на контролни и исхемични проби от SVZa и SVZi. В рамките на проекта ще бъде проведен сравнителен анализ на тези гени след исхемия в SVZa и SVZi. Целта е да се открият групи от гени, чиято постисхемична експресия се увеличава селективно в SVZa или SVZi.

Чрез маркиране на транскриптите *in situ* в изследваната тъкан, ще бъде установен техният клетъчен произход и така ще бъдат дефинирани клетъчните типове, които реагират на исхемия в двете зони.

В края на проекта се очаква да се установи ген или група от гени, чиято експресия селективно се увеличава в SVZi и които имат потенциала да инхибират невроналната регенерация. По този начин ще се създаде основа за бъдещи приложни изследвания, които прицелно да въздействат върху молекулните механизми, потискащи неврогенезата в SVZi, с цел да се предложат подходи за активация на невроналната регенерация.

Получените транскриптомни данни от новогенерационно РНК секвениране на контролни и исхемични проби от SVZi разкриха наличието на около 25 000 транскрипта, отговарящи на приблизително 16 000 гена. Чрез извършен информационен анализ беше установено селективно повишение в експресията на около 250 гена. По този начин беше установена съществена разлика в генната експресия в SVZi в сравнение със SVZa.

Чрез анализи тип GO (Gene Ontology) и GSEA (Gene Set Enrichment Analysis) установихме, че гените с повишена експресия след исхемия са свързани основно с функционалните категории „клетъчно свързване“ и „развитие на нервната система“.

С цел визуализация на експресията с цел клетъчна резолюция и локализация на гените, повишени селективно в SVZi, извършихме колориметрична *in situ* хибридизация (CISH) за техните mRNA. Създадохме 49 специфични рибопроби за тези гени, които бяха хибридизирани към тъканни срезове, включващи SVZi и хипокамп, както и към срезове със SVZa, получени от контролни и исхемични животни. По този начин морфологично потвърдихме промените в експресията на 49 от изследваните гена в SVZi и SVZa при контролни и исхемични маймуни.

Установената значителна разлика между SVZi и SVZa подчертава регионалната специфика на мозъчния отговор към исхемия и процесите на неврогенеза. Допълнително беше анализиран клетъчният състав на SVZi чрез имунохистохимия, с цел идентифициране на субпопулации като неврони, макроглия, микроглия, кръвоносни съдове и делящи се клетки, включително чрез маркиране на ACVR1B-позитивни клетки.

Получените резултати допринасят за по-задълбочено разбиране на молекулярните механизми, регулиращи невропластичността и възстановяването на нервната система след исхемично увреждане. Всички данни ще бъдат публично достъпни чрез платформата monkey-niche.org.