

## **«Разработка методов, технологий и платформ для исследований функционирования нервных систем на основе создания высокоразрешающей информационной модели кортикальных структур мозга»**

В Университете Лобачевского продолжаются работы по созданию «3D Атлас нейроглии кортикальных колонок мозга крысы / мыши» (Соглашение о предоставлении субсидии № 14.581.21.0016 с Минобрнауки России в рамках ФЦП «Исследования и разработки»).

3D Атлас представляет собой программный комплекс, способный заложить основу трансляционных исследований в области функционирования центральной нервной системы млекопитающих (нейробиологических, фармакологических, токсикологических и иных исследований), а также базу для формирования нового класса стратегических технологий – искусственных когнитивных систем.

Из списка ключевых работ проекта на 2 этапе можно выделить следующие:

- Исследование нейро-, глиотрансмиттерных и рецепторных транскрипционных профилей клеток кортикальных микроколонок головного мозга.
- Проведение оценки качественных и количественных характеристик транскрипционного профиля астроцитов микроколонок коры головного мозга
- Разработка и изготовление экспериментальных образцов набора реагентов для трансфекции астроцитов (НРТА)
- Исследование с помощью биологического имиджинга и описание структуры глиальных связей в кортикальных колонках мозга.
- Разработана методики формирования трехмерной нейроглиальной культуры клеток (ТНКК) с возможностью формирования полноценных синапсов *in vitro*.
- Разработка и изготовление экспериментальных образцов ТНКК.
- Разработка и согласование состава программного комплекса «3D Атлас нейроглии кортикальных колонок мозга крысы/мыши».

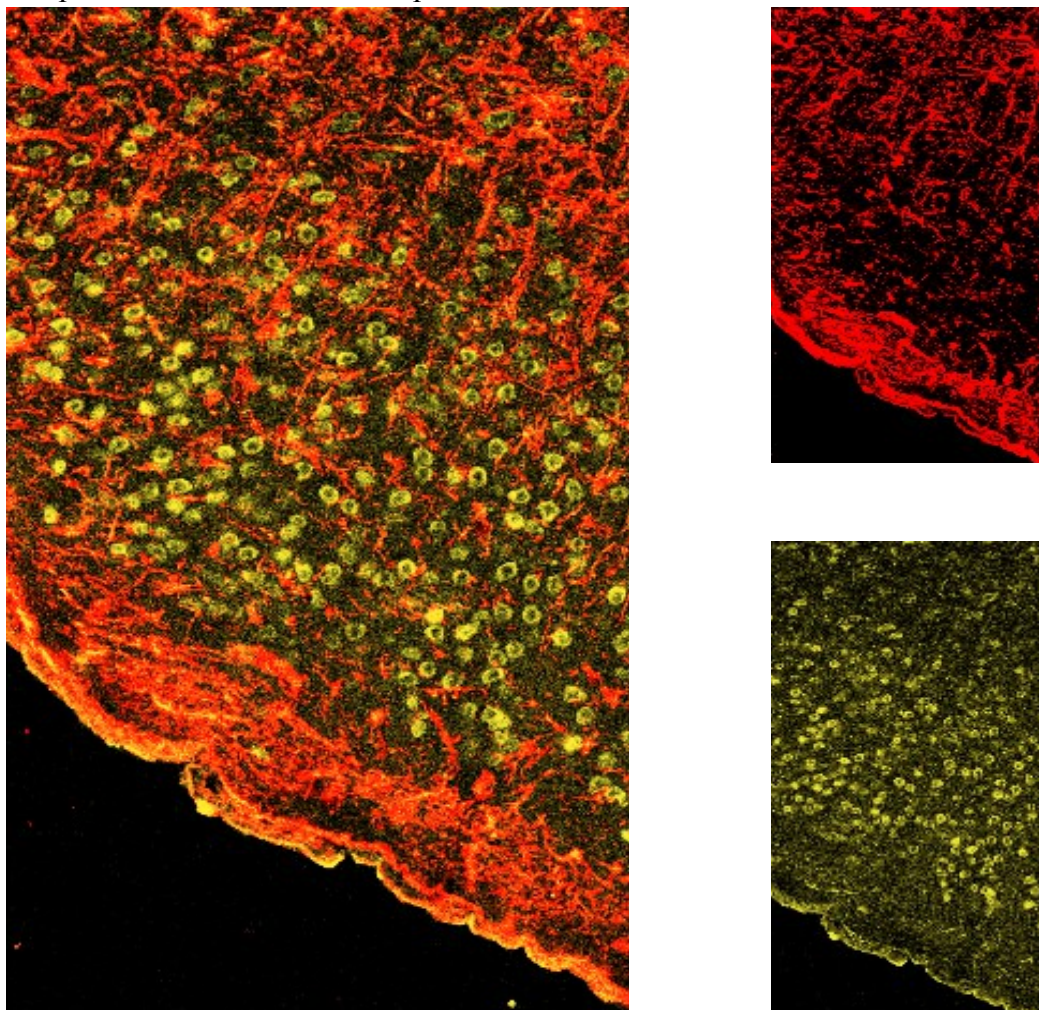
При этом были получены следующие результаты:

Проведенные исследования транскрипционных профилей кортикальных астроцитов и астроцитов ствола мозга выявили разницу в генной экспрессии между астроцитами, принадлежащими разным частям центральной нервной системы. В ходе выполнения работ по проекту было проанализировано более 60000 генов. Среди исследованных генов детально изучены гены, кодирующие нейро- и глио-трансммиттеры. Проанализировав полученные экспериментальные данные, были обнаружены три гена имеющие статистически значимые отличия в уровне экспрессии в стволе головного мозга и коре полушарий: *Slc6a9*, *Slc6a11*, *Gabra*, *Gabrg1*, *Grm3* и *Slc6a1*.

В результате проведенных исследований качественных и количественных характеристик транскрипционного профиля астроцитов коры головного мозга выявлены гены с высокой экспрессией; гены, экспрессия которых характерна для астроцитов; продемонстрированы отличия уровней экспрессии генов астроцитов коры в сравнении с генами астроцитов ствола мозга; охарактеризованы гены астроцитов, коотрые кодируют белки с различной локализацией в клетке и различными функциями.

В состав набора реагентов для трансфекции астроцитов входят 5 аденовирусных векторных конструкций для трансфекции астроцитов: AVV-sGFAP-ChR2-Venus, AVV-sGFAP-opto $\alpha$ 1AR –YGP, AVV-sGFAP-opto $\beta$ 21AR –YGP, AVV-sGFAP-Case12, AVV-sGFAP-DREADD-GFP. Проведено исследование экспрессии белков, кодируемых вирусам, в культурах астроцитов коры головного мозга. Показан ответ клеток, трансдуцированных AVV-sGFAP-ChR2-Venus на оптогенетическую стимуляцию. Исследованы цитотоксичность и специфичность вирусов, входящих в разработанный набор.

Иммуноцитохимическое исследование структуры глиальных связей микроколони коры головного мозга выявило наличие различных астроцитарных связей в сети микроколони – от единично расположенных клеток звездчатого типа до синцития.



Иммунофлуоресцентное окрашивание среза мозга мыши антителами к глиальному фибриллярному белку GFAP, а также красителю NeuN – маркера ядер нейронов

Ультраструктурные исследования выявили, что наибольшее количество астроцитов приходится на слой полиморфных клеток; кроме того наблюдалась тенденция к увеличению числа астроцитарных клеток от более старых слоёв неокортекса к более молодым. 3Д реконструкция показала, что астроцитарные отростки, располагаясь вблизи синапса, с одной стороны, могут способствовать созреванию тонких шипиков, а с другой стороны, плотно охватывая синапс, участвуют в своевременном удалении нейромедиатора из синаптической щели.

Разработана оригинальная методика формирования трехмерной нейроглиальной культуры клеток на основе хитозановых матриц-носителей (скаффолдов) с возможностью формирования полноценных синапсов *in vitro*. Разработан лабораторный протокол совместного трехмерного культивирования нейронов и глиальных клеток коры головного мозга на скаффолде. Произведены экспериментальные образцы ТНКК.

Разработана номенклатура программных компонентов комплекса «3D Атлас нейроглии кортикальных колонок мозга крысы / мыши». Описаны состав, структура, взаимодействие, а также назначения и функции программных компонент (ПК) программного обеспечения (ПО) комплекса «3D Атлас».

Требования Технического задания были выполнены в полном объеме.

Комиссия Минобрнауки России признала обязательства по Соглашению на 2 этапе исполненными надлежащим образом.