

Celem przedłożonego projektu jest poznanie molekularnych mechanizmów rozwoju mózgu, których działanie prowadzi do powstania największego szlaku włókien nerwowych łączących korę dwóch półkul mózgu ssaków, zwanego spoidłem wielkim lub też ciałem modzelowatym. Spoidło wielkie występuje jedynie u ssaków łożyskowych, nie ma go natomiast u ssaków jajorodnych (stekowców) i torbaczy, u których kora nowa obu półkul mózgu połączona jest znacznie dłuższą drogą, przez spoidło przednie. Zbadanie mechanizmów rozwoju tej najmłodszej struktury mózgu ssaków może więc pomóc w zrozumieniu, jak przebiegał ten etap ich ewolucji. Ponadto, u ludzi nieprawidłowości rozwoju ciała modzelowatego mogą prowadzić do znacznej niepełnosprawności poznawczej oraz trudności w komunikacji społecznej. Tak więc, wyniki naszych badań mogą się przyczynić do opracowania sposobów zapobiegania takim zaburzeniom rozwojowym i ich skutkom.

Wszystkie ssaki mają sześciowarstwową korę mózgu, zwaną korą nową. Jest ona strukturą radykalnie odmienną od trójwarstwowej kory występującej w tym samym miejscu u innych kręgowców. Budowa i połączenia kory nowej umożliwiają bardziej złożoną i szybszą analizę informacji, niż to ma miejsce u innych kręgowców. Połączenia długie między obiema półkulami umożliwiają integrację aktywności obu półkul. Bez integracji percepcji bodźców z obu stron powierzchni ciała jak również percepcji docierające z lewej i prawej strony do innych zmysłów, reakcja organizmu byłaby niespójna, a procesy uczenia zaburzone.

Połączenia międzypółkulowe kory nowej są obecne już u stekowców. Zarówno u nich, jak i u torbaczy przebiegają one przez spoidło przednie mózgu. Spoidło wielkie ssaków łożyskowych jest zupełnie nowym połączeniem kory nowej obu półkul, podczas gdy spoidło przednie łączy u nich głównie struktury układu węchowego. Jest to droga znacznie krótsza, niż połączenie przez spoidło przednie, co umożliwia szybszą ocenę sytuacji i szybsze podejmowanie decyzji. Toteż wytworzenie spoidła wielkiego (obok zmiany sposobu rozmnażania i wyższego metabolizmu) jest uważane za jedną z zasadniczych zmian, które umożliwiły dominację ssaków łożyskowych. Spoidło wielkie przebiega w sposób nietypowy: przebija ono powierzchnię zewnętrzną obu półkul w miejscu ich zetknięcia. Rozwój połączeń międzypółkulowych odbywa się w na podobnym etapie rozwoju mózgu torbaczy i stekowców. W tym czasie wydłużające się aksony neuronów kory są kierowane sygnałami molekularnymi tak, że u torbaczy rozwijają się w kierunku przedniego bieguna półkuli, a u ssaków łożyskowych ku powierzchni półkul w miejscu ich styku. W tym miejscu komórki powierzchni półkul obumierają, a aksony przekraczają granicę półkul.

Te odmiennie systemy sygnałów sterujących kierunkiem rozwoju długich połączeń kory torbaczy i łożyskowców są przedmiotem obecnych badań. Nasza hipoteza zakłada, że podczas ewolucji ssaków łożyskowych, aksony neuronów górnych warstw kory zmieniły sposób interakcji z otaczającą je tkanką, zmieniając ekspresję białek receptorowych, lub też otaczająca je tkanka zaczęła wytwarzać odmiennie sygnały. W skutek tego, rozwijające się aksony kory nowej ssaków łożyskowych kierują się ku powierzchni kory, tworząc ciało modzelowate, zamiast rosnąć w kierunku dolnych warstw kory i do przodu, tworząc spoidło przednie.

W naszych badaniach chcemy znaleźć różnice w ekspresji genów kodujących białka warunkujące kierunek wydłużania się aksonów kory nowej oposa laboratoryjnego (torbaczy) i myszy (ssak łożyskowy). Inna ekspresja białek w czasie rozwoju mózgu u tych gatunków prowadzi do odmiennego ukierunkowania wzrostu stożka aksonalnego, a zatem do odmiennego przebiegu połączeń długich między korą nową obu półkul u tych gatunków.

Niewiele wiadomo na temat organizacji i molekularnych mechanizmów rozwoju spoidła przedniego u torbaczy. Znamy niektóre czynniki transkrypcyjne wpływające na tworzenie połączeń międzypółkulowych u łożyskowców, takich jak białko Satb2 (chromatin-remodeling protein). Wykazano, że myszy pozbawione tego genu nie tworzą spoidła wielkiego, a połączenia międzypółkulowe przebiegają u nich przez spoidło przednie, podobnie jak u torbaczy. Jednak nasze wstępne badania pokazały, że u oposa laboratoryjnego białko Satb2 także ulega ekspresji w korze na tym etapie rozwoju mózgu. Tak więc, interakcja aksonów kory nowej torbaczy i łożyskowców z tym białkiem jest odmienna, z nieznanymi przyczynami. Wiedza o mechanizmach rozwoju spoidła wielkiego pozostaje dalece niewystarczająca do wyjaśnienia genetycznego podłoża zmiany tych połączeń w ewolucji.

Planujemy wykonanie licznych hybrydyzacji *in situ*, co pozwoli na identyfikację genów ulegających ekspresji w korze w badanym okresie rozwoju, z zastosowaniem zaprojektowanych przez nas sond dla opossich homologów genów mysich, o których wiadomo, że kontrolują kierunek wzrostu aksonów korowych. Następnym etapem, będzie analiza bioinformatyczna poszczególnych elementów genów kontrolujących kierunek wzrostu aksonów a następnie manipulacja ekspresją wybranych genów (obniżenie ekspresji odpowiednich genów z zastosowaniem shRNA, bądź wzrost ekspresji z zastosowaniem adenowirusów), mająca na celu wytworzenie w mózgu oposa korowych połączeń międzypółkulowych homologicznych do ciała modzelowatego.

Zbadanie różnic i podobieństw w profilu ekspresji genów kontrolujących rozwój korowych połączeń międzypółkulowych u myszy i oposa umożliwi zrozumienie mechanizmów ich rozwoju i różnic międzygatunkowych. Ponieważ opos laboratoryjny wykazuje wiele cech charakterystycznych dla przodków ssaków, to wyniki tych badań mogą przyczynić się do wzbogacenia wiedzy o mechanizmach ewolucji mózgu ssaków.