

Neuralne komórki macierzyste (NSC), wczesne progenitory neuralne (eNP) oraz progenitory neuralne (NP) otrzymane poprzez różnicowanie ludzkich indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych (hiPSC) stanowią ważny model w badaniach wczesnych etapów różnicowania neuralnego. Różnicowanie komórek polega na ustaleniu właściwego dla danego typu komórki wzoru ekspresji genów. W trakcie różnicowania komórek nie dochodzi zwykle do zmian ilościowych i jakościowych genów, lecz jedynie do wybiórczej aktywacji transkrypcji jednych genów i represji innych. Kontrola i modulacja kierunków różnicowania jest istotnym aspektem biologii rozwojowej. W czasie różnicowania komórek pluripotencjalnych (ESC, iPSC) następuje zmiana metabolizmu z glikolizy beztlenowej na fosforylację oksydacyjną. Dlatego zastosowanie czynników, które mają wpływ na biogenezę mitochondriów i oddychanie komórkowe wydaje się zasadne i ważne dla prowadzenia badań nad kontrolą różnicowania neuralnego na wczesnych fazach rozwoju. Substancje niskocząsteczkowe takie jak PQQ oraz idebenon stanowią atrakcyjną strategię indukcji biogenezy mitochondriów i oceny konsekwencji tej indukcji dla zmiany decyzji rozwojowych neuralnych komórek macierzystych (NSC).

Celem projektu jest określenie odpowiedzi ludzkich indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych (hiPSC) różnicowanych neuralnie w hodowlach „dwuwymiarowych” (neuralne komórki macierzyste (NSC), wczesne progenitory neuralne (eNP), progenitory neuralne (NP)) oraz „trójwymiarowych” (organoidy) na PQQ oraz idebenon w tym wpływu na biogenezę mitochondriów oraz regulację głównych markerów różnicowania neuralnego i astrocytarnego.

Biogeneza mitochondriów rozumiana jako wzrost liczby mitochondriów może wpływać na różnicowanie neuralne jednak dotychczas nie ustalono czy jej indukcja jest możliwa z taką samą efektywnością niezależnie od stopnia zróżnicowania komórek NSC. Prowadzone badania mają za zadanie także ocenę czy indukcja biogenezy mitochondriów nie będzie skutkowała zmianą kierunku różnicowania oraz czy zmiana kierunku różnicowania będzie taka sama na wszystkich etapach różnicowania. Badania pozwolą również na potwierdzenie wpływu ekspresji genu $PPAR\alpha$, $PPAR\beta/\delta$ na kierunek różnicowania.

Głównymi zadaniami badawczymi są: a) różnicowanie neuralne komórek hiPSC oraz charakterystyka otrzymanych populacji: neuralnych komórek macierzyste (NSC), wczesnych progenitorów neuralnych (eNP), progenitorów neuralnych (NP); b) ocena wrażliwości komórek: NSC, eNP, NP traktowanych; PQQ oraz idebenonem; c) analiza biogenezy mitochondriów w komórkach NSC, eNP oraz NP po ekspozycji na substancje badane: ocena poziomu białek SDH oraz COX1; oznaczanie liczby kopii mtDNA; profilu ekspresji genów w (*NRF1*, *TFAM*, *PPARGC1*, *MAP2*, *GFAP*), d) analiza aktywności transkrypcyjnej *PPAR*'s; e) ocena wpływu genów *PAPRA* oraz *PPARD* na różnicowanie neuronalne i astrocytarne.; f) otrzymanie organoidów mózgu i ich ekspozycja na PQQ oraz idebenon; g) ocena liczby kopii mtDNA oraz ekspresji (*NRF1*, *PPARGC1*, *TFAM*, *MAP2*, *GFAP*, *CSPG4*) w organoidach traktowanych PQQ oraz idebenonem.

Realizacja stażu na Uniwersytecie w Buffalo umożliwi mi weryfikację wyników uzyskanych w hodowli adherentnej 2D w modelu organoidów 3D. Ocena wpływu PQQ oraz idebenonu na fenotyp komórek w modelu organoidów mózgu pozwolą na określenie zdolności do modulacji biogenezy mitochondriów i kierowania decyzjami rozwojowymi w modelu 3D przypominającym strukturę warstwową kory mózgu.