

mgr inż. Justyna Augustyniak

Rozwojowo-zależna indukcja biogenezy mitochondriów podczas różnicowania neuralnego ludzkich indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych (hiPSC)

Rozprawa na stopień naukowy doktora nauk medycznych
w dyscyplinie biologia medyczna

Promotor: prof. dr hab. Leonora Bużańska

Promotor pomocniczy: dr Jacek Lenart



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Naukową
Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej
im. M. Mossakowskiego PAN

Warszawa 2019

Streszczenie

Odkrycie, że komórki somatyczne można reprogramować do indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych (iPSC, *ang. induced Pluripotent Stem Cells*) pozwoliło na znaczny rozwój badań w dziedzinie medycyny regeneracyjnej, jak również badań toksykologicznych oraz farmakologicznych *in vitro*. Postęp w otrzymywaniu ludzkich iPSC (hiPSC, *ang. human iPSC*) tzw. „bezpiecznymi metodami” tj. bez integracji transgenów do genomu gospodarza (np. stosując mRNA, białka rekombinowane, miRNA, wektory episomalne) przyczynił się do wykorzystania tych komórek w spersonalizowanej terapii komórkowej. Dodatkowo hiPSC stanowią „niekontrowersyjną etycznie” alternatywę dla ludzkich zarodkowych komórek macierzystych (hESC, *ang. human Embryonic Stem Cells*) w modelowaniu *in vitro* wczesnych etapów rozwoju człowieka dzięki zdolności do różnicowania we wszystkie tkanki organizmu. W cyklu publikacji stanowiących rozprawę doktorską przedstawiono wyniki oceny wpływu stymulacji biogenezy mitochondriów na wczesne etapy różnicowania neuralnych komórek hiPSC. W tym celu z hiPSC otrzymano trzy populacje komórkowe: neuralne komórki macierzyste (NSC, *ang. Neural Stem Cells*), wczesne progenitory neuralne (eNP, *ang. early Neural Progenitors*) oraz progenitory neuralne (NP, *ang. Neural Progenitors*), przy czym komórki eNP scharakteryzowano po raz pierwszy. Badane populacje komórkowe różniły się istotnie pod względem ekspresji markerów typowych dla rozwoju neuralnego na poziomie mRNA i białek. Komórki NSC, eNP oraz NP zostały poddane ekspozycji na substancje indukujące biogenezę mitochondriów: pirolochinolinochinon (PQQ) lub idebenon (IDB). Pod wpływem tych związków wykazano istotne zmiany w parametrach ważnych dla procesów życiowych komórki: żywotności, poziomie wolnych rodników (RFT), potencjale błony mitochondrialnej ($\Delta\Psi_m$) oraz ekspresji genów związanych z regulacją biogenezy mitochondriów: *NRF1*, *PPARGC1A*, *TFAM*. Wzrostowi ekspresji tych genów towarzyszył wzrost pozostałych badanych markerów biogenezy mitochondriów: liczby kopii mitochondrialnego DNA (mtDNA) oraz ekspresji białek SDHA i COX-1, wyłącznie w stadium eNP. W komórkach NSC i eNP, po inkubacji z PQQ zanotowano równoczesny wzrost ekspresji genu *PPARGC1A* oraz markera astrocytów *GFAP*, przy jednoczesnym spadku ekspresji markera neuronalnego *MAP2*. IDB działał podobnie we wszystkich stadiach, z wyjątkiem eNP, gdzie stymulował ekspresję zarówno *GFAP* jak i *MAP2*. Powyższe wyniki świadczą o istnieniu w stadium eNP „przedziału wrażliwości rozwojowej” na PQQ oraz IDB, a także o pozytywnym wpływie stymulacji biogenezy mitochondriów na różnicowanie komórek hiPSC w kierunku astrocytarnym.