

Projektbeschreibung

Regulierung der Genexpression in humanen induzierten Neuronen durch Faktoren der Musterbildung

Zusammenfassung

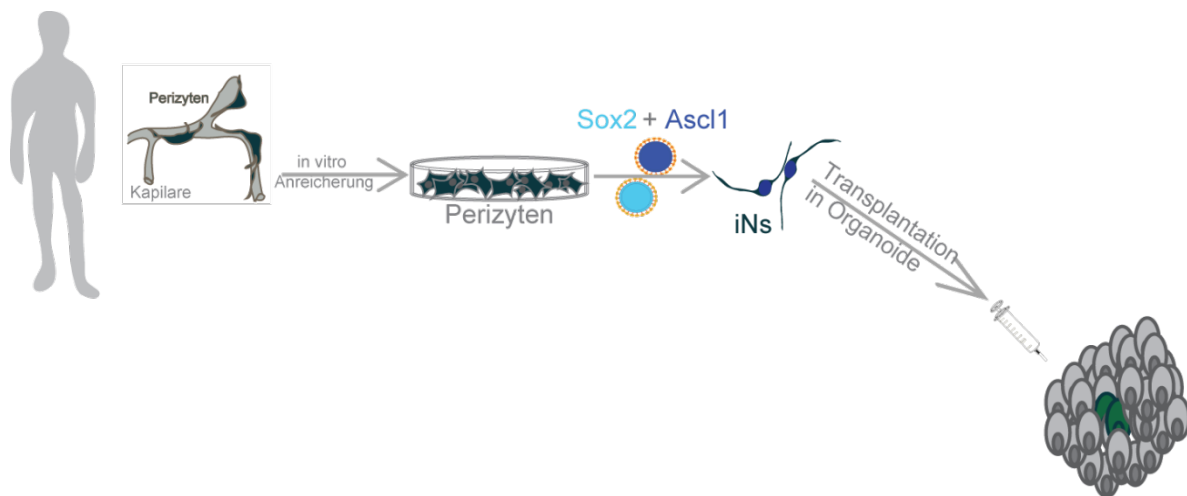
Durch die wissenschaftliche Errungenschaft, dass distinkte Zelltypen mittels forcierter Expression zelltypspezifischer Transkriptionsfaktoren (TF) direkt in einen anderen Zelltyp konvertiert werden können, wurden neue Wege für zellbasierte Gewebeheilung, auch im menschlichen Gehirn, eröffnet. Unsere eigenen Vorarbeiten haben gezeigt, dass Perizyten aus dem adulten humanen Kortex durch Überexpression der zwei TF *Ascl1* und *Sox2*, die beide eine wichtige Rolle bei der normalen Hirnentwicklung spielen, direkt in induzierte Neurone (iNs) umgewandelt werden können. Im vorliegenden Antrag beabsichtigen wir das Genexpressions-Programm dieser iNs eingehend zu untersuchen.

Projektbeschreibung

Im Fokus unserer Arbeiten liegen Perizyten, Endothel-assoziierte Zellen, die in vielen Geweben des Körpers vorkommen, unter anderem auch im zentralen Nervensystem. Insbesondere im sich entwickelnden, aber auch im adulten Gehirn spielen diese Zellen eine wichtige Rolle für die Bildung der Bluthirnschranke. Für unsere Studien machen wir uns das Vorkommen dieser Zellen innerhalb des Gehirns zunutze, um letztendlich Strategien zu entwickeln Perizyten für den Nervenzellersatz einzusetzen. Wir konnten bereits in früheren Arbeiten zeigen, dass wir durch forcierte Expression der Neurogenese-induzierenden TF *Ascl1* und *Sox2* in der Lage sind die Ausgangs-Identität der Perizyten in die von Neuronen zu reprogrammieren, weshalb man diese Nervenzellen dann als induzierte Neurone (iNs) bezeichnet. Um die zugrunde liegenden Mechanismen dieser Reprogrammierung sowie die entstandenen iNs auf Transkriptomebene näher zu charakterisieren haben wir Einzell-Zell RNA-Sequenzierungen durchgeführt. Diese Untersuchungen haben ergeben, dass ein Großteil dieser Zellen das Expressions-Programm GABAerger Neurone aufweist, welches charakterisiert ist durch die Expression von Mitgliedern der *Dlx* Genfamilie. Im vorliegenden Antrag beabsichtigen wir das Genexpressions-Programm dieser iNs eingehend zu untersuchen hinsichtlich der vorliegenden regionalen Identität und wie diese durch Faktoren, die üblicherweise die Regionalisierung des Gehirns bewirken, reguliert wird und moduliert werden kann. Darüber hinaus werden wir die Genexpression und Identität dieser iNs innerhalb einer humanen neuronalen Nische, nämlich innerhalb von zerebralen Organoiden, untersuchen. Das zerebrale Organoid Model stellt eine 3-dimensionale zelluläre Struktur aus menschlichen Zellen dar, die in wesentlichen Aspekten die frühe menschliche Gehirnentwicklung rekapituliert. Ausgehend von humanen induzierten pluripotenten Stammzellen kann man mittels eines definierten Protokolls zerebralen Organoiden generieren,

in denen menschliche neuronale Vorläuferzellen ebenso wie verschiedene Nervenzelltypen vorliegen. Im vorliegenden Projekt werden wir aus Perizyten generierte iNs in zerebrale Organoide transplantieren, wo sie sich in ein humanes neuronales Netzwerk integrieren können. Zu definierten Zeitpunkten nach Transplantation werden die Organoid-ständigen iNs analysiert.

Zusammenfassend, wird das hier vorgelegte Projekt neue und wichtige Einsichten bezüglich der Authentizität humaner induzierter Neurone sowie der Fähigkeit dieser als Folge veränderter Bedingungen innerhalb einer neuronalen Nische plastische Veränderungen zu durchlaufen, erbringen.



Schematische Zusammenfassung des Projektes. Perizyten, isoliert aus dem zerebralen Kortex erwachsener Patienten werden in der Zellkulturschale (*in vitro*) in induzierte Neurone (iNs) konvertiert. Dies erfolgt durch retrovirale Überexpression zweier Neurogenese-induzierender Faktoren, Ascl1 und Sox2. Die so entstandenen iNs werden eingehend charakterisiert und darüber hinaus Methoden (z.B. zusätzliche Überexpression weiterer Faktoren sowie *patterning* Faktoren) getestet um spezifische neuronale Subtypen zu generieren. Ferner werden iNs in zerebrale Organoide transplantiert und so der Einfluss einer neuronalen Nische im 3D-Modell analysiert.