

## **Terapie neurodegenerativních poruch pomoci buněčného reprogramování**

Neurodegenerativní poruchy (Huntingtonova choroba, Parkinsonova choroba) způsobují těžká poškození mozku, pro která zatím neznáme léčbu. Několik klinických studií prokázalo, že přenos neuronových prekursorů do postižených částí mozku kladně ovlivňuje průběh nemoci nebo ji může zastavit. Základním problémem buněčné léčby je získávání vhodných buněk pro transplantace. V současnosti se používají buňky izolované z potracených plodů, což přináší značné etické problémy. Uvažuje se o také využití embryonálních kmenových buněk. Objevy posledních let naznačily další možnost, kterou je reprogramování buněk pacienta a jejich přeměna na požadovaný typ buněk.

V rámci projektu se pokusíme přeprogramovat astrocyty do neuronů. Populace astrocytů zůstává u většiny neurodegenerativních poruch intaktní a tvoří druhou nejpočetnější skupinu buněk v mozku. Jako model použijeme chemicky indukovaný model Huntingtonovy choroby. K reprogramování poslouží neurogenní transkripční faktory, které budeme do cílových buněk vnášet pomocí lentivirových vektorů.

Cílem projektu je dosáhnout přeměny astrocytů v mozku zvířat do neuronů a identifikovat transkripční faktory, které v procesu reprogramování řídí specifickou identitu nově vzniklých neuronů.

Student / studentka se bude podílet na vývoji expresních vektorů pro genový přenos, klonování transkripčních faktorů pro buněčné reprogramování a histologických analýzách mozků zvířat po experimentálních zákrocích .

## **Cellular reprogramming for treatment of neurodegenerative disorders**

Neurodegenerative disorders (Huntington's disease, Parkinson's disease) cause severe brain damage for which we have no cure. Several clinical studies have shown that transfer of neuronal precursors into affected brain regions attenuates symptoms of disease. Principal difficulty of cell replacement therapy is to identify acceptable source of cells for transplantation. Currently, cells from elective abortions have been used; however, such therapy raises severe ethical issues. Alternatively, embryonic stem cells are tested. Recent discoveries have opened a way to an alternative approach, such as cellular reprogramming of patient derived cells into desired cell type.

In this research project we will attempt to reprogram astrocytes into neurons. Astrocytes population remains mostly intact during the course of neurodegeneration and forms the second most abundant cell population in brain. As a model system we will use chemically induced model of Huntington's disease. For reprogramming we will use neurogenic transcription factors delivered into cells by lentiviral vectors.

The goal of the project is to achieve conversion of astrocytes into neurons in vivo and identify transcription factors directing neuronal subtype specification during reprogramming process. The student will be involved in the development of expression vectors for gene transfer, cloning of transcription factors for cellular reprogramming, and histological analysis after experimental interventions.

\*\*\*\*\*

## **Možnosti molekulární intervence při potlačování neuropatického zánětu periferních nervů**

Neuropatická bolest (NP) po mechanickém poškození periferních nervů je patologický stav, který je již dlouho studován, přesto zůstává bez účinné léčby. Mechanické poškození periferních nervů vede k vytvoření zánětu, který spouští celou kaskádu reakcí, které vedou k vytvoření neuropatické bolesti. Jde o složitý proces, na jehož vzniku se podílí mnoho faktorů převážně imunitního typu. Při vzniku neurozánětu se aktivují gliové buňky, které uvolňují pro-zánětlivé cytokiny (IL-1 $\beta$ ) a chemokiny (CCL2) dále zhoršující průběh zánětlivé reakce.

Cílem práce naší laboratoře je najít mechanismus, který umožní utlumení neurozánětu a potlačí vznik neuropatické bolesti.

K dosažení tohoto cíle se pokusíme vnést do poškozených nervů geny pro proti-zánětlivé cytokiny (IL-10) nebo jiné molekuly, které utlumí aktivitu pro-zánětlivých cytokinů (jednořetězcové protilátky, rozpustné receptory pro IL-6 a TNF $\alpha$ ). Pro genový přenos využijeme lentivirové vektory pseudotypované pro cílený přenos do neuronů. Funkce a účinnost jednotlivých konstruktů bude testována na modelu chronického konstriktivního poškození sedacího nervu u potkanů.

Student/studentka se bude podílet na vývoji a konstrukci expresních vektorů pro virový přenos a jejich testování. Bude analyzovat výsledky experimentálních intervencí u laboratorních zvířat a provádět imunohistologické analýzy tkání po zákroku.

## **Means of molecular intervention to suppress neuropathic inflammation of peripheral nerves**

Neuropathic pain (NP) after mechanical damage of peripheral nerves is a pathological state, which has been studied for many years nevertheless so far, remains without an effective cure. Nerve damage initiates formation of inflammatory lesion, which in turn triggers whole series of events leading to the development of neuropathic pain. The whole process is rather complicated with prominent contribution of immunological factors. During the process of neuroinflammation are activated glial cells releasing pro-inflammatory cytokines (IL-1 $\beta$ ) and chemokines (CCL2) further amplifying inflammatory reactions.

Goal of the project is to identify mechanism, which will permit attenuation of neuroinflammation and suppress development of neuropathic pain.

To reach the goal we will introduce into affected nerves genes coding for anti-inflammatory cytokines (IL-10) or other molecules capable of suppressing activity of pro-inflammatory cytokines (single chain antibodies, soluble receptors for IL6 and TNF $\alpha$ ). For gene transfer we will use viral vectors pseudotyped for directed transfer into neurons. Function and efficacy will be tested in chronic constriction injury of nervus ischiadicus model in rats.

The student will participate in development and construction of expression vectors for viral transfer and their testing. He / she will analyse results of experimental interventions in laboratory animals, and perform histological analysis of tissues after experiments.

### Nabízíme:

Práci v moderně vybavených laboratořích Bohunického kampusu a později v nových laboratořích CEITEC. Studenti se seznámí s technikami klonování DNA, přípravě expresních vektorů (plastidových a lentivirových), práci s tkáňovými kulturami, analýzou genové exprese pomocí imunofluorescenčních technik, RT-PCR nebo Western blottingu. Součástí práce bude také příprava a izolace expresních plasmidů a konstrukce lentivirových virových vektorů, práce s tkáňovými kulturami stabilních buněčných linií nebo primárních kultur lidských nebo zvířecích buněk.

### Nezbytné předpoklady:

Přednostně hledáme studenty molekulární biologie a biochemie nebo studenty biologie se základní znalostí technik molekulární a buněčné biologie. Pro PhD hledáme studenty s dokončeným bakalářským vzděláním, kteří končí magisterské studium. Uvedené témata lze využít také pro vypracování diplomové práce.

Podrobnější informace: = anotace uvedených témat

<http://www.med.muni.cz/index.php?id=1273>

<http://www.med.muni.cz/index.php?id=600>

### Kontakt:

Dr. Vladimír Pekarík  
Central European Institute of Technology (CEITEC)  
Institute of Anatomy, Masaryk University, A1 / 064  
Kamenice 3  
625 00 Brno  
Czech Republic

Tel. 549 49 7369  
pekarikv@mail.muni.cz