

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623462>

# Закономерности паттернов экспрессии генов, мутированных у пациентов с нарушениями развития нервной системы

Е.В. Кондакова<sup>1,2\*</sup>, М.С. Гавриш<sup>1</sup>, А.Е. Филатьева<sup>1</sup>, В.С. Тарабыкин<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт нейронаук, Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Российская Федерация;

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, Томск, Российская Федерация;

<sup>3</sup> Институт клеточной биологии и нейробиологии клиники Шарите, Берлин, Германия

## АННОТАЦИЯ

Нарушения развития нервной системы — Neurodevelopmental Disorders (NDD) — гетерогенная группа расстройств с различными проявлениями, включая микроцефалию, структурные аномалии мозга, эпилепсию, задержку развития, умственную отсталость и расстройства аутистического спектра [1]. Каждый тип расстройства развития нервной системы встречается относительно редко, но в совокупности они составляют большую популяцию неврологических пациентов. NDD по распространенности превышают 15% во всем мире [2]. Нарушения развития нервной системы обычно являются результатом нарушения строго регулируемых молекулярных каскадов, вызванных либо генными мутациями, либо факторами окружающей среды. Генетику значительной части этих расстройств трудно определить, так как часть из них не обязательно наследуются по менделевским принципам и предполагают вклад аллельных вариантов в нескольких генах. Однако, по некоторым оценкам, примерно 40% NDD являются моногенными состояниями, преимущественно обусловленными повреждениями одного гена [3].

Для понимания и прогнозирования физиологической роли белка и кодирующего его гена, установления его взаимодействий с другими белками, а также для понимания роли гена в развитии различных органов и тканей важную роль играет установление того, на каком сроке развития и в какой ткани экспрессируется этот ген. Поэтому первым этапом в изучении генов, мутации в которых приводят к нарушениям развития нервной системы, является изучение паттерна экспрессии этих генов в головном мозге мыши на различных эмбриональных стадиях развития.

Для отображения паттерна экспрессии генов на срезах ткани головного мозга мыши использовали технологию гибридизации РНК *in situ* (ISH). Предварительно зафиксированные в 4% PFA/PBS/DEPC образцы головного мозга мыши на эмбриональных (E12.5, E15.5, E18.5) и постнатальных (P1, P21) стадиях развития нарезали на криостате Leica CM1520 с толщиной среза 15 мкм. Далее проводили гибридизацию клеточной мРНК с РНК-зондами, мечеными DIG-dUTP (дигоксигенином) и предварительно синтезированными методом ПЦР с кДНК с использованием ген-специфичных праймеров. Для визуализации локализации экспрессии мРНК в тканях использовали 5-бром-4-хлор-3-индолилфосфат/нитросиний тетразолий (BCIP/NBT), который, вступая в реакцию с щелочной фосфатазой, даёт нерастворимый осадок тёмно-синего или фиолетового цвета, который виден в световой микроскоп.

В результате была изучена экспрессия одного из представителей семейства генов CCDC, кодирующих белки, которые участвуют в межклеточной трансмембранной передаче сигнала. Гибридизация *in situ* на срезах головного мозга мыши выявила распространённую экспрессию мРНК изучаемого гена в коре больших полушарий. В дальнейшем планируется выполнение частичного нокаута изучаемого гена с последующим выявлением его роли в нарушениях развития нервной системы.

**Ключевые слова:** NDD; паттерн экспрессии; гибридизация РНК *in situ*; нарушения развития нервной системы; неокортекс.

## Как цитировать:

Кондакова Е.В., Гавриш М.С., Филатьева А.Е., Тарабыкин В.С. Закономерности паттернов экспрессии генов, мутированных у пациентов с нарушениями развития нервной системы // Гены и клетки. 2023. Т. 18, № 4. С. 494–497. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623462>

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Источник финансирования.** Исследование выполнено при поддержке министерства науки и высшего образования РФ (грант № FSWR-2023-0029).

Рукопись получена: 19.06.2023

Рукопись одобрена: 26.11.2023

Опубликована online: 20.01.2024

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mitani T., Isikay S., Gezdirici A., et al. High prevalence of multilocus pathogenic variation in neurodevelopmental disorders in the Turkish population // *American Journal of Human Genetics*. 2021 Vol. 108, N 10. P. 1981–2005. doi: 10.1016/j.ajhg.2021.08.009
2. Barkovich A.J., Guerrini R., Kuzniecky R.I., et al. A developmental and genetic classification for malformations of cortical development: update 2012 // *Brain*. 2012. Vol. 135 (Pt 5). P. 1348–1369. doi: 10.1093/brain/aws019
3. Mesnil M., Defamie N., Naus C., Sarrouilhe D. Brain Disorders and Chemical Pollutants: A Gap Junction Link? // *Biomolecules*. 2020. Vol. 11, N 1. P. 51. doi: 10.3390/biom11010051

## КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

\* Е.В. Кондакова; адрес: Российская Федерация, 603022, Нижний Новгород, пр-т Гагарина, д. 23; e-mail: elen\_kondakova@list.ru

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623462>

# Developmental expression patterns of genes mutated in patients with neurodevelopmental disorders

E.V. Kondakova<sup>1, 2\*</sup>, M.S. Gavrish<sup>1</sup>, A.E. Filat'eva<sup>1</sup>, V.S. Tarabykin<sup>3</sup><sup>1</sup> Institute of Neurosciences, National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russian Federation;<sup>2</sup> Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation;<sup>3</sup> Institute of Cell Biology and Neurobiology, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany

## ABSTRACT

Neurodevelopmental disorders (NDDs) comprise a heterogeneous spectrum of disorders with diverse manifestations, such as microcephaly, structural brain abnormalities, epilepsy, developmental delay, intellectual disability, and autism spectrum disorders [1]. Although relatively rare, each type of NDDs represents a significant population of neurological patients. The global prevalence of NDDs exceeds 15% [2]. NDDs typically arise from molecular cascades that are highly regulated and disrupted by either gene mutations or environmental factors. The genetic basis of a substantial proportion of such disorders is hard to discern given that not all are inherited according to Mendelian principles and involve allelic variations from multiple genes. However, roughly 40% of NDDs are believed to be caused by the disruption of a single gene, indicating monogenic conditions. [3]

Understanding and predicting the physiological function of a protein encoded by a specific gene, determining its interactions with other proteins, and investigating the role of the gene in organ and tissue development requires a close examination of its expression. Thus, a crucial initial step in researching genes associated with neurodevelopmental disorders is to investigate the expression patterns of these genes in the mouse brain at various embryonic developmental stages.

*In situ* RNA hybridization was used to analyze gene expression patterns in slices of mouse brain tissue. Fixed in 4% paraformaldehyde/phosphate-buffered saline/diethylpyrocarbonate mouse brain samples at embryonic (E12.5, E15.5, E18.5) and postnatal (P1, P21) developmental stages were sectioned using a Leica CM1520 cryostat with 15 µm slice thickness. Next, we conducted *in situ* hybridization of cellular mRNA using DIG-dUTP-labeled RNA probes that were previously synthesized by PCR with cDNA and gene-specific primers. 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate/nitroblue tetrazolium (BCIP/NBT) was used, which produces an insoluble dark blue or purple sediment visible under a light microscope by reaction with alkaline phosphatase, to visualize the localization of mRNA expression in tissues.

The study examined the expression of a member of the CCDC gene family which encodes proteins involved in intercellular transmembrane signal transduction. *In situ* hybridization was performed on mouse brain slices, revealing significant mRNA expression of the gene in the cerebral cortex. Additionally, mouse knockout experiments are planned to investigate the gene's role in brain development.

**Keywords:** NDD; expression pattern; RNA *in situ* hybridization; neurodevelopmental disorders; neocortex.

## To cite this article:

Kondakova EV, Gavrish MS, Filat'eva AE, Tarabykin VS. Developmental expression patterns of genes mutated in patients with neurodevelopmental disorders. *Genes & Cells*. 2023;18(4):494–497. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623462>

## ADDITIONAL INFORMATION

**Funding sources.** The study was funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (grant No. FSWR-2023-0029).

**Authors' contribution.** All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, and final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

**Competing interests.** The authors declare that they have no competing interests.

## REFERENCES

1. Mitani T, Isikay S, Gezdirici A, et al. High prevalence of multilocus pathogenic variation in neurodevelopmental disorders in the Turkish population. *American Journal of Human Genetics*. 2021;108(10):1981–2005. doi: 10.1016/j.ajhg.2021.08.009

Received: 19.06.2023

Accepted: 26.11.2023

Published online: 20.01.2024

2. Barkovich AJ, Guerrini R, Kuzniecky RI, et al. A developmental and genetic classification for malformations of cortical development: update 2012. *Brain*. 2012;135(Pt 5):1348–1369. doi: 10.1093/brain/aws019
3. Mesnil M, Defamie N, Naus C, Sarrouilhe D. Brain Disorders and Chemical Pollutants: A Gap Junction Link? *Biomolecules*. 2020;11(1):51. doi: 10.3390/biom11010051

## AUTHORS' CONTACT INFO

\* E.V. Kondakova; address: 23 Gagarin avenue, 603022 Nizhny Novgorod, Russian Federation; e-mail: elen\_kondakova@list.ru