

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623464>

Исследование роли эволюционно новых энхансеров в развитии мозолистого тела

А.О. Кустова^{1, 2 *}, Х.К. Целис Суэскун¹, В.П. Рыбакова^{1, 2}, В.С. Тарабыкин³

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

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

³ Институт клеточной биологии и нейробиологии клиники Шарите, Берлин, Германия

АННОТАЦИЯ

Одним из важных аспектов работы головного мозга млекопитающих является обмен информации между нейронами разных полушарий. Данный процесс развивался в ходе эволюции. У сумчатых (*Marsupialia*) и однопроходных (*Monotremata*) млекопитающих межполушарное сообщение осуществляется через увеличенную переднюю комиссуру. У плацентарных (*Eutheria*) млекопитающих в процессе эволюционного развития появилась новая структура головного мозга — мозолистое тело. Мозолистое тело (*Corpus callosum*) — самая большая комиссура в организме человека, содержащая около 80% комиссуральных аксонов всего головного мозга. Мозолистое тело в большой степени отвечает за эффективность разных аспектов высшей нервной деятельности, включая функцию исполнения решений, социальное взаимодействие, память и язык. Вероятно, образование новой структуры для межполушарного взаимодействия связано с изменением направления роста аксонов неокортекса во время развития. Данный процесс может регулироваться изменениями уровня экспрессии определенных генов, ответственных за контроль над ростом аксонов и миграцией клеток в неокортексе. Полное понимание процесса навигации аксонов коры головного мозга и формирования межполушарных связей позволит создать новые животные модели, которые можно будет использовать в изучении пороков развития коры.

Был идентифицирован ряд энхансеров для белок-кодирующих генов, чьи паттерны экспрессии различаются в клетках неокортекса у плацентарных и неплацентарных (сумчатых) млекопитающих. Проведено сравнение уровней ацетилирования гистона H3 на лизине 27 (*H3K27ac*), рассматриваемого как эпигенетическая метка для активных энхансеров генов, по всему геному домового опоссума (*Monodelphis domestica*) и домашней мыши (*Mus musculus*). Далее проводился скрининг генов-кандидатов, оценивалась локализация и уровень экспрессии в коре во время эмбриогенеза. Таким образом, был определен ген *Tbr1*, неправильная экспрессия которого может привести к изменениям развития коры. Следующим шагом стало объединение системы CRISPR/Cas9 с *in utero* электропорацией для полной делеции активного энхансера гена *Tbr1* в развивающихся клетках неокортекса у эмбрионов мышей на 14 день эмбрионального развития. Проанализировано влияние делеции энхансера на экспрессию *Tbr1* в верхних слоях коры, направление роста аксонов и миграция нейронов на 18 день эмбрионального развития.

Было продемонстрировано значительное снижение экспрессии *Tbr1* в верхних слоях коры: после делеции активного энхансера только 30% электропорированных нейронов сохранили экспрессию *Tbr1*. Также наблюдалась достоверная задержка миграции нейронов в субвентрикулярной зоне (41% против 17% в контрольной группе) и в верхних слоях коры (20% против 35% в контрольной группе). Однако направление роста аксонов не изменилось: каллозальные аксоны успешно пересекли среднюю линию и сформировали мозолистое тело.

Таким образом, экспрессия эволюционно нового энхансера *Tbr1* играет важную роль в миграции нейронов в ходе кортикогенеза, однако её вклад в развитие мозолистого тела остается не до конца исследованным. Следующим шагом станет детальное изучение морфологии мозолистого тела после делеции энхансера.

Ключевые слова: мозолистое тело; CRISPR/Cas9; энхансер; *in utero* электропорация.

Как цитировать:

Кустова А.О., Целис Суэскун Х.К., Рыбакова В.П., Тарабыкин В.С. Исследование роли эволюционно новых энхансеров в развитии мозолистого тела // Гены и клетки. 2023. Т. 18, № 4. С. 502–503. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623464>

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 21-65-00017.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

* А.О. Кустова; адрес: Российская Федерация, 603022, Нижний Новгород, пр-т Гагарина, д. 23; e-mail: elakust@gmail.com

Рукопись получена: 23.05.2023

Рукопись одобрена: 26.11.2023

Опубликована online: 20.01.2024

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623464>

Study of the role of evolutionary new enhancers in the development of the *corpus callosum*

A.O. Kustova^{1,2*}, J.C. Celis Suescun¹, V.P. Rybakova^{1,2}, V.S. Tarabykin³¹ Institute of Neurosciences, National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russian Federation;² Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation;³ Institute of Cell Biology and Neurobiology, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany

ABSTRACT

One important aspect of the mammalian brain is the exchange of information between neurons located in different hemispheres. This process evolved during the development of mammals. In marsupial (*Marsupialia*) and monotreme (*Monotremata*) mammals, the communication between hemispheres is facilitated through an enlarged anterior commissure. In placental (*Eutheria*) mammals, a new brain structure, the corpus callosum, emerged during the evolutionary process. The corpus callosum, comprising 80% of the brain's commissural axons, is the largest commissure in the human body. The corpus callosum is a major contributor to the efficiency of higher neural activities, including memory, decision making, social interaction, and language. A possible explanation for the emergence of a novel structure for interhemispheric interaction is a change in the growth direction of neocortical axons during development. Changes in gene expression levels can regulate this process, which involves controlling axon growth and cell migration in the neocortex. A full comprehension of this process will enable the creation of new animal models for studying cortical malformations and the navigation of axons in the cerebral cortex leading to the formation of interhemispheric connections.

Several enhancers were identified for protein-coding genes with differing expression patterns in neocortical cells of placental and non-placental (marsupial) mammals. Throughout the genomes of the house opossum (*Monodelphis domestica*) and the house mouse (*Mus musculus*), the acetylation levels of histone H3 on lysine 27 (*H3K27ac*) were compared. *H3K27ac* is considered an epigenetic marker for active gene enhancers. Then, a screening of candidate genes was performed to evaluate their localization and expression levels in the cortex during embryonic development. Thus, the *Tbr1* gene was identified. Incorrect expression of this gene may result in changes to cortical development.

The CRISPR/Cas9 system was combined with in utero electroporation to completely delete the active *Tbr1* gene enhancer in developing neocortical cells of mouse embryos at day 14 of embryonic development. The impact of this enhancer deletion was then analyzed on the expression of *Tbr1* in the upper layers of the cortex, as well as the direction of axon growth and neuronal migration on the 18th day of embryonic development.

A significant reduction in *Tbr1* expression was observed in the upper layers of the cortex after deletion of the active enhancer. Only 30% of the electroporated neurons retained *Tbr1* expression. Moreover, a considerable delay in neuronal migration was observed in the subventricular zone (41% versus 17% in the control group) and in the upper layers of the cortex (20% versus 35% in the control group). However, the direction of axonal growth remained unchanged: callosal axons effectively crossed the midline and created the corpus callosum.

Thus, expression of the evolutionary novel *Tbr1* enhancer is important for neuronal migration during corticogenesis. However, its contribution to the development of the corpus callosum is not fully understood. A detailed analysis of the corpus callosum morphology post-enhancer deletion will be the subsequent step.

Keywords: *corpus callosum*; CRISPR/Cas9; enhancer; *in utero* electroporation.

To cite this article:

Kustova AO, Celis Suescun JC, Rybakova VP, Tarabykin VS. Study of the role of evolutionary new enhancers in the development of the *corpus callosum*. *Genes & Cells*. 2023;18(4):502–503. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623464>

ADDITIONAL INFORMATION

Funding sources. This study was supported by the Russian Science Foundation, grant No. 21-65-00017.

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.

AUTHORS' CONTACT INFO

* A.O. Kustova; address: 23 Gagarin avenue, 603022 Nizhny Novgorod, Russian Federation; e-mail: elakust@gmail.com

Received: 23.05.2023

Accepted: 26.11.2023

Published online: 20.01.2024