

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623469>

# Влияние оверэкспрессии белка HSP70 на развитие коры головного мозга

Н.Н. Митина<sup>1, 2 \*</sup>, М.К. Амброзкевич<sup>3</sup>, А.О. Моторина<sup>1, 2</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

Белки теплового шока (Hsps) представляют собой большое семейство молекулярных шаперонов, которые хорошо известны своей ролью в созревании, рефолдинге и деградации белков. Hsp70 способствует выживанию клеток при различных патологических процессах в головном мозге, таких как инсульт, нейродегенеративные заболевания, эпилепсия и травмы [1]. Также одной из функций Hsps является содействие правильному эмбриональному и постнатальному развитию многих систем органов, особенно нервной системы [2]. Показано, что белки теплового шока проявляют специфические паттерны экспрессии в процессе развития нервной системы, особенно в критические моменты эмбрионального и постнатального развития [1].

Во время эмбрионального развития нейрональные и глиальные предшественники должны выживать в относительно гипоксической среде и одновременно выполнять энергетически затратные действия, такие как рост нейритов и миграция клеток. Hsps могут стимулировать или ингибировать развитие нервной системы посредством специфических путей, регулирующих дифференцировку клеток, рост нейритов, миграцию клеток или ангиогенез [1]. Действительно, недавние исследования показали, что Hsp70 непосредственно регулирует развитие нервной системы посредством модуляции сигнальных каскадов, участвующих в росте и миграции клеток [3]. Кроме того, было показано [4], что экзогенное введение Hsp70 значительно увеличивало популяции пролиферирующих клеток и дифференцированных нейробластов в гиппокампе мышей. Однако другие исследователи [1] предполагают, что избыточная экспрессия белков теплового шока может отрицательно сказываться на выживании клеток. Таким образом точная роль этих шаперонов остается в значительной степени неизученной.

В своем исследовании мы с помощью *in utero* электропорации вводили плазмиды, контролирующей оверэкспрессию Hsp70 в клетки-предшественники нейронов эмбрионов мышей на 14 день гестации. В эксперименте также использовалась плазмидная ДНК, кодирующая GFP, для последующей визуализации трансформированных клеток. На 18 день гестации получали образцы головного мозга для последующего иммуногистохимического анализа срезов. Методом конфокальной микроскопии сравнивали особенности миграции нейронов в контроле и при оверэкспрессии Hsp70.

Было обнаружено, что клетки, индуцирующие выработку Hsp70 плазмиды, демонстрируют более медленную миграцию в сравнении с контрольными. Также мы предполагаем, что индукция экспрессии Hsp70 может вызывать нарушения в анатомическом строении нейронов, а также влиять на развитие отростков.

В дальнейшем будут продолжены изучение цитоархитектоники коры, включая анализ принадлежности электропорированных клеток к отдельным популяциям нейронов с помощью маркеров *Satb2* и *Stip2*, оценка их дифференцировки путём подсчета клеток, не вышедших из митотического цикла, а также проверка гипотезы об индукции апоптоза в электропорированных Hsp70 клетках.

**Ключевые слова:** Hsp70; *in utero* электропорация; миграция нейронов.

## Как цитировать:

Митина Н.Н., Амброзкевич М.К., Моторина А.О., Тарабыкин В.С. Влияние оверэкспрессии белка HSP70 на развитие коры головного мозга // Гены и клетки. 2023. Т. 18, № 4. С. 516–519. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623469>

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Источник финансирования.** Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (грант № Н-026-0\_2023-2025).

Рукопись получена: 19.05.2023

Рукопись одобрена: 26.11.2023

Опубликована online: 20.01.2024

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. David J.M., Patrice E.F. Heat Shock Proteins Regulatory Role in Neurodevelopment // *Frontiers in Neuroscience*. 2018. Vol. 12. P. 821. doi: 10.3389/fnins.2018.00821
2. Loones M.-T., Chang Y., Morange M. The Distribution of Heat Shock Proteins in the Nervous System of the Unstressed Mouse Embryo Suggests a Role in Neuronal and Non-Neuronal Differentiation // *Cell Stress & Chaperones*. 2002. Vol. 5, N 4. P. 291–305. doi: 10.1379/1466-1268(2000)005<0291:tdohsp>2.0.co;2
3. Barreca M.M., Spinello W., Cavalieri V., et al. Extracellular Hsp70 enhances mesoangioblast migration via an autocrine signaling pathway // *Journal of Cellular Physiology*. 2017. Vol. 232, N 7. P. 1845–1861. doi: 10.1002/jcp.25722
4. Kwon H.J., Kim W., Jung H.Y., et al. Heat shock protein 70 increases cell proliferation, neuroblast differentiation, and the phosphorylation of CREB in the hippocampus // *Laboratory Animal Research*. 2019. Vol. 35. P. 21. doi: 10.1186/s42826-019-0020-2

## КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

\* Н.Н. Митина; адрес: Российская Федерация, 603022, Нижний Новгород, пр-т Гагарина, д. 23; e-mail: Turyginanatasha@yandex.ru

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623469>

# The effect of HSP70 overexpression on the cerebral cortex development

N.N. Mitina<sup>1,2\*</sup>, M.K. Ambrozkevich<sup>3</sup>, A.O. Motorina<sup>1,2</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

Heat shock proteins (HSPs) make up a large family of molecular chaperones, recognized for their role in protein maturation, refolding, and degradation. HSP70 was shown to promote cell survival during several pathological processes in the brain, such as stroke, neurodegenerative diseases, epilepsy, and trauma [1]. In addition, HSPs serve to promote the proper embryonic and postnatal development of many organ systems, such as the central nervous system [2]. Heat shock proteins demonstrate specific expression patterns throughout the development of the nervous system, notably during crucial embryonic and postnatal moments [1].

During embryonic development, neural and glial progenitors must survive within a hypoxic microenvironment while performing energetically demanding actions, such as cell migration and neurite outgrowth. HSPs can activate or inhibit development pathways in the nervous system that modulate cell differentiation, neurite outgrowth, cell migration, or angiogenesis [1].

Indeed, recent studies demonstrated that HSP70 directly regulates the development of the nervous system by modulating signaling cascades involved in cell growth and migration [3]. Additionally, research demonstrated [4] that introducing HSP70 from an external source significantly augments the populations of proliferating cells and differentiated neuroblasts within the mouse hippocampus. Nevertheless, some researchers [1] contend that overexpression of HSPs may negatively impact cell survival. Therefore, the precise role of these chaperones remains largely unexplored.

In our study, we used *in utero* electroporation to introduce plasmids that controlled HSP70 overexpression into neuron progenitors of mouse embryos on the 14th day of gestation. Additionally, plasmid DNA encoding GFP was used to facilitate subsequent visualization of transformed cells. Brain samples were collected on the 18th day of gestation for immunohistochemical analysis of the sections. Confocal microscopy was used to compare the characteristics of neuronal migration in both control and HSP70 overexpression conditions.

Cells that received plasmids inducing HSP70 were discovered to migrate at a lower pace in comparison to the control. Additionally, it is hypothesized that the induction of HSP70 expression could lead to neuronal malformations and impact the development of neurites.

In the future, the study of cytoarchitectonics in the cortex will continue, examining the identification of electroporated cells in individual neuron populations using *Satb2* and *Ctip2* markers. Additionally, the differentiation of these cells will be assessed by counting those that have not exited the mitotic cycle, and the hypothesis of apoptosis induction in cells electroporated with HSP70 will be tested.

**Keywords:** Hsp70; *in utero* electroporation; neuronal migration.

## To cite this article:

Mitina NN, Ambrozkevich MK, Motorina AO, Tarabykin VS. The effect of HSP70 overexpression on the cerebral cortex development. *Genes & Cells*. 2023;18(4):516–519. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623469>

## ADDITIONAL INFORMATION

**Funding sources.** The study was funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (project 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.

Received: 19.05.2023

Accepted: 26.11.2023

Published online: 20.01.2024

## REFERENCES

1. David JM, Patrice EF. Heat Shock Proteins Regulatory Role in Neurodevelopment. *Frontiers in Neuroscience*. 2018;12:821. doi: 10.3389/fnins.2018.00821
2. Loones MT, Chang Y, Morange M. The Distribution of Heat Shock Proteins in the Nervous System of the Unstressed Mouse Embryo Suggests a Role in Neuronal and Non-Neuronal Differentiation. *Cell Stress & Chaperones*. 2002;5(4):291–305. doi: 10.1379/1466-1268(2000)005<0291:tdohsp>2.0.co;2
3. Barreca MM, Spinello W, Cavalieri V, et al. Extracellular Hsp70 enhances mesoangioblast migration via an autocrine signaling pathway. *Journal of Cellular Physiology*. 2017;232(7):1845–1861. doi: 10.1002/jcp.25722
4. Kwon HJ, Kim W, Jung HY, et al. Heat shock protein 70 increases cell proliferation, neuroblast differentiation, and the phosphorylation of CREB in the hippocampus. *Laboratory Animal Research*. 2019;35:21. doi: 10.1186/s42826-019-0020-2

## AUTHORS' CONTACT INFO

\* N.N. Mitina; address: 23 Gagarin avenue, 603022 Nizhny Novgorod, Russian Federation; e-mail: Turyginanatasha@yandex.ru