

**Ex vivo визуализация динамических процессов в 3D: анализ нейрогенеза в развивающемся мозге мыши**

**Научный руководитель – Лазуткин Александр Алексеевич**

**Кирьянов Роман Александрович**

*Студент (магистр)*

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

*E-mail: roman.kiryanov@phystech.edu*

В процессе развития головного мозга пространственный паттерн пролиферации клеток в разных областях мозга изменяется со временем. Сегодня при помощи методов трехмерной визуализации возможно исследование локализации и интенсивности нейрогенеза в отдельных целых образцах мозга. Однако представление изменения активности деления и миграции клеток требует разработки методов реконструкции временной картины. В данной работе впервые представляется метод псеудо-4D визуализации для исследования изменений процесса нейрогенеза во времени в целых образцах мозга.

Цель представленной работы - визуализация и анализ динамики пролиферативной активности клеток (деления, миграции, апоптоза) в процессе развития мозга мыши.

Образцы были получены в ходе эксперимента по следующей методике. Мышам вводили синтетический аналог тимидина EdU для мечения клеток в процессе деления (всего  $n = 39$  животных, на каждое из времен от 3 до 5 особей). Для каждой временной точки после процедуры перфузии (4% PFA) мозги извлекали и производили выявление меток по разработанному для whole-mount протоколу WM-Click-EdU. Обработанные образцы мозга просветляли в процессе дегидратации метиловым спиртом, хлористым метиленом и длительной инкубацией в бензиловом эфире [1]. На светоплоскостном микроскопе получали серию оптических срезов, из которых воссоздавали трехмерные изображения. Используя алгоритмы математического совмещения и динамической реконструкции, реализованных на языке MatLab, полученные изображения располагали на временной шкале по увеличению биологического возраста, последовательно совмещали и создавали псевдо-временную реконструкцию изменений. Также производили оценку изменений плотности сигнала клеток между соседними временными точками.

В результате работы при помощи разработанного метода была создана картина динамического процесса изменения нейрогенеза в развивающемся мозге мыши. Были обнаружены важные временные точки в процессах миграции клеток в субвентрикулярной зоне, ростральном миграционном пути и обонятельных луковицах. Были созданы картины изменения процесса нейрогенеза в развивающемся гиппокампе, мозжечке и стенках проводящей системы.

**Источники и литература**

- 1) Nicolas Renier, ZhuhaoWu, David J Simon, Jing Yang, Pablo Ariel, Marc Tessier-Lavigne. iDISCO: a simple, rapid method to immunolabel large tissue samples for volume imaging // Cell. 2014, №159(4). p.896-910.