

## Streszczenie pracy doktorskiej mgr inż. Pauli Chlebanowskiej

Promotor: prof. dr hab. Marcin Majka

Temat pracy doktorskiej: pt.: „*Dissecting pathomechanisms of idiopathic form of Parkinson's disease using induced pluripotent stem cells technology*”

(“*Określenie patomechanizmów rozwoju idiopatycznej formy choroby Parkinsona z wykorzystaniem technologii indukowanych komórek pluripotencjalnych*”) – cykl publikacji

Przedmiotem badań niniejszej pracy było otrzymanie modelu do badania idiopatycznej formy choroby Parkinsona stworzonego z indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych oraz analiza porównawcza modelu 3D organoidów śródmózgowia w celu poznania patomechanizmów idiopatycznej formy tej choroby.

W pierwszej części pracy sprawdzone zostało czy pochodzenie komórek z różnych tkanek od tego samego dawcy może wpływać na ich reprogramowanie i dalsze zdolności otrzymanych indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych do różnicowania do neuronów dopaminergicznych zarówno w modelu 2D, jak i modelu organoidów śródmózgowia 3D. W tym celu otrzymano kilka klonów komórek iPS wywodzących się z komórek krwi oraz keratynocytów od tego samego dawcy. Następnie komórki te zostały bardzo dokładnie scharakteryzowane i porównane. Na tym etapie pierwsze różnice zostały wykryte przy badaniu struktur powstających w teratomach oraz podczas analizy macierzy ekspresyjnych. Kolejnym etapem było różnicowanie otrzymanych komórek iPS do neuronów dopaminergicznych zarówno w modelu 2D, jak i 3D, gdzie również obserwowane były różnice w ekspresji badanych genów. Przeprowadzone badania dowodzą, że pochodzenie komórek somatycznych, z których tworzone są komórki iPS może mieć wpływ na dalsze różnicowanie neuronalne tych komórek macierzystych. Stąd istotne jest, aby do eksperymentów porównawczych, wykorzystujących różnicowanie komórek iPS do neuronów, używać takich linii, które pochodzą z tego samego źródła komórek somatycznych.

Druga część pracy poświęcona jest stworzeniu oraz porównaniu modelu 3D organoidów śródmózgowia z komórek iPS uzyskanych od zdrowego wolontariusza i pacjenta z idiopatyczną formą choroby Parkinsona. W tym celu najpierw, komórki jednojądrzaste krwi zostały poddane reprogramowaniu. Następnie otrzymane komórki iPS zostały scharakteryzowane i poddane dalszemu różnicowaniu do organoidów śródmózgowia. Uzyskane wyniki pokazały, że na poziomie podstawowej charakterystyki komórek macierzystych nie ma różnic między zdrowym wolontariuszem, a osobą chorą. Natomiast przy tworzeniu organoidów śródmózgowia 3D obserwujemy wpływ komórek dawcy z idiopatyczną formą choroby Parkinsona na tworzony model. Na bazie naszego nowego modelu oraz doniesień literaturowych wybraliśmy kilka genów, które mogą być odpowiedzialne za rozwój idiopatycznej formy choroby Parkinsona, takich jak: *PTX3*, *LMX1A* i *FOXA2*. Zmiany w ich ekspresji mogą prowadzić do większej podatności neuronów na uszkodzenia oraz neurodegenerację. Podsumowując, po raz pierwszy opisaliśmy i scharakteryzowaliśmy model 3D idiopatycznej formy choroby Parkinsona, który może stanowić doskonałą bazę do dalszych badań.

## Summary

The aim of this research was to obtain a model for the study of the idiopathic form of Parkinson's disease that is generated from induced pluripotent stem cells and a comparative analysis of a 3D model of midbrain organoids to understand the pathomechanisms of the idiopathic form of this disease.

In the first part of this thesis, it was checked whether the origin of cells from different tissues of the same donor may affect their reprogramming and further ability of the obtained induced pluripotent stem cells to differentiate into dopaminergic neurons both in the 2D and the 3D midbrain organoid models. Therefore, firstly, several clones of iPS cells were obtained from blood cells and keratinocytes isolated from the same donor. Subsequently, those cells were very carefully characterized and compared. The first differences were detected during the investigation of structures formed in teratomas and in the analysis of gene expression. The next step was to differentiate the obtained iPS cells into dopaminergic neurons in both the 2D and 3D models, in which differences in the expression of the studied genes were also detected. The conducted research proves that the origin of the somatic cells, from which iPS cells are generated, may have an impact on further neuronal differentiation of the stem cells. Hence, it is important to use cell lines derived from the same somatic cell source for the comparative analysis of differentiation of iPS cells into neurons.

The second part of the work described the generation and comparison of a 3D model of midbrain organoids from iPS cells obtained from a healthy volunteer and a patient with idiopathic form of Parkinson's disease. Therefore, firstly, the isolated blood mononuclear cells were reprogrammed. Subsequently, the obtained iPS cells were characterized and analyzed during differentiation into midbrain organoids. There were no differences between a healthy donor and a patient with idiopathic Parkinson's disease in basic features of the generated iPS cells. However, during generation of the 3D midbrain organoids, we observed the impact of donor cells from the patients with idiopathic Parkinson's disease on the created model. Based on our results and literature reports, we selected several genes that may be responsible for the development of the idiopathic form of Parkinson's disease, such as *PTX3*, *LMX1A* and *FOXA2*. Changes in their expression may lead to greater susceptibility of neurons to damage and neurodegeneration. To conclude, we described and characterized for the first time a 3D model of idiopathic form of Parkinson's disease, which gives enormous opportunities for further studies.