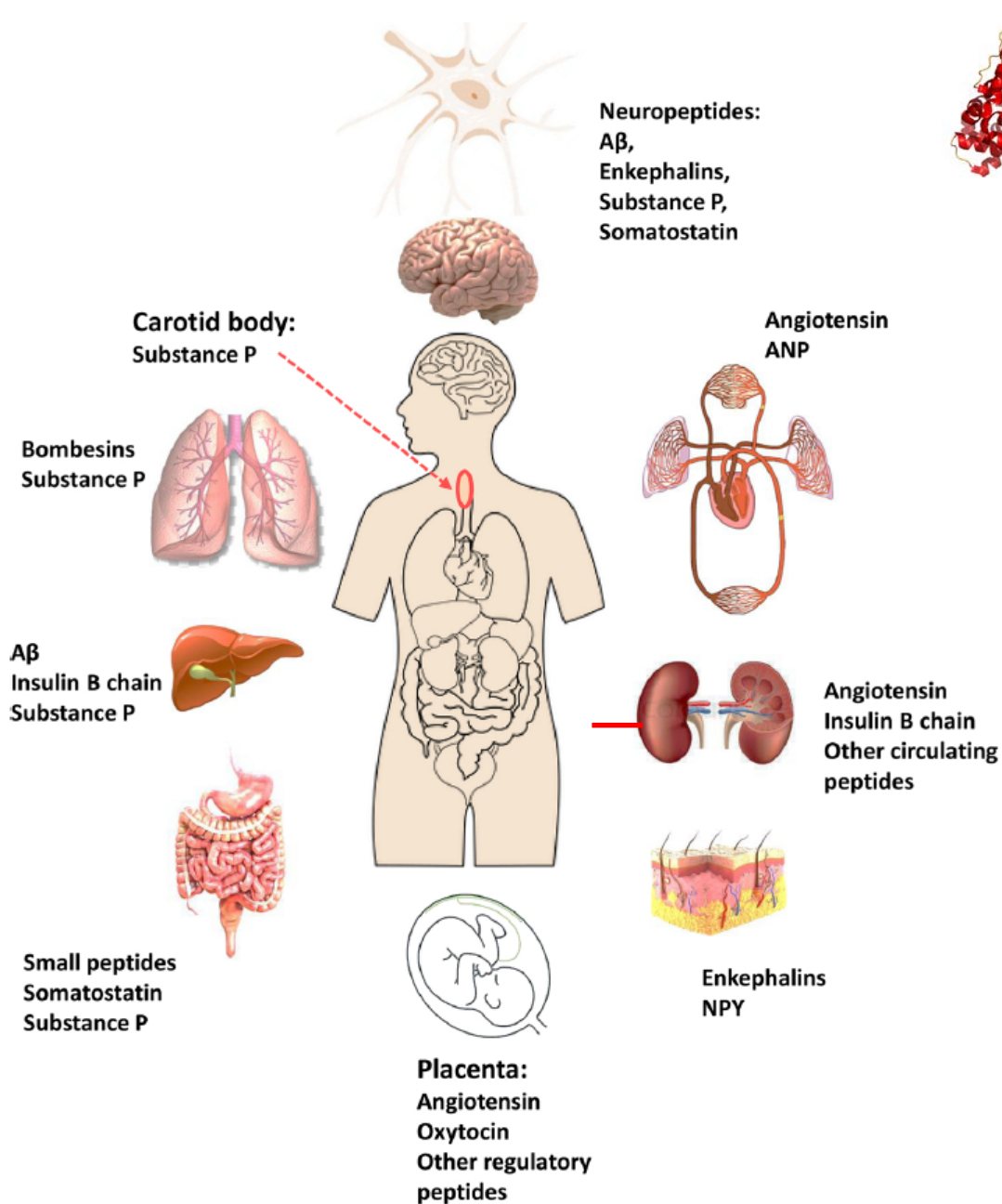


**Исследование нейродегенерации в
кортикальных отделах мозга
трансгенных мышей линии 5xFAD и
возможность её фармакологической
коррекции**

Васильев Д.С., Туманова Н.Л., Дубровская Н.М., Наливаева Н.Н.

*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М.
Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия*



Неприлизин млекопитающих - ЕС3.4.24.11, нейтральная эндопептидаза, НЕП, CD10

Ферменты семейства неприлизина (M13) - группа цинк-зависимых металлопептидаз, расщепляющих аминоконцевые связи гидрофобных остатков

Субстраты НЕП представляют собой сигнальные пептиды малого или среднего размера (в том числе энкефалины, тахикинины, опиоидные пептиды, эндотелины и бомбесин). К ним также относится амилоидный Aβ пептид.

Alison R. Whyteside, Anthony J. Turner / FEBS Letters 582 (2008) 2382–2386

2385

Table 1
Comparative hydrolysis (%) of peptide substrates by NEP2 and NEP

| Substrate | | NEP2 | NEP |
|---------------------------|-----------------------------|-----------|-----------|
| Substance P | RPKPQQFFGLM-NH ₂ | 100 ± 0.1 | 100 ± 0.1 |
| Angiotensin I | DRVYIHPFHL | 92 ± 0.4 | 99 ± 0.2 |
| Bradykinin | RPPGFSPFR | 57 ± 3.4 | 100 ± 0.2 |
| NEP fluorogenic substrate | Suc-AAF-AMC | 39 ± 1.6 | 100 ± 0.1 |
| Met enkephalin | YGGFM | 25 ± 1.6 | 99 ± 0.2 |
| Substance P 7–11 | FGLM-NH ₂ | 17 ± 3.1 | 68 ± 1.7 |
| Neurotensin 8–13 | RRPYIL | 14 ± 1.3 | 96 ± 0.2 |
| Leucine enkephalin | YGGFL | 10 ± 0.1 | 99 ± 0.1 |
| Angiotensin II | DRVYIHPF | 7 ± 0.6 | 98 ± 0.2 |
| Neurotensin | pELYENKPRRPYL | 6 ± 1.3 | 85 ± 0.2 |
| Leucine enkephalinamide | YGGFL-NH ₂ | 1.2 ± 0.8 | 62 ± 2.4 |
| Endothelin-1 | CSCSSLMDKCEVYFCHLDIHW | 1.2 ± 0.4 | 14 ± 2.9 |
| Neurotensin 1–11 | pELYENKPRRPY | 0.7 ± 0.5 | 4.9 ± 0.4 |
| Vasopressin | CYFQNCPRG-NH ₂ | 0.6 ± 0.2 | 0.4 ± 0.2 |
| Oxytocin | CYIQNCPLG-NH ₂ | 0.4 ± 0.3 | 2.5 ± 0.5 |
| Bradykinin 1–5 | RPPGF | 0.4 ± 0.2 | 0.9 ± 0.4 |
| NEP fluorogenic substrate | Dansyl-dAG-p-nitro-FG | 0.3 ± 0.1 | 77 ± 0.7 |
| Substance P 1–7 | RPKPQQF | 0.2 ± 0.1 | 1.9 ± 0.3 |

NEP2^a ectodomain (100 ng) or recombinant NEP (100 ng) was incubated with 100 μM substrate at 37 °C for 1 h. Reactions were terminated by heating at 100 °C for 5 min and products analysed by reverse-phase HPLC. Results are an average of three independent experiments ±S.E.M.

CD10 – биомаркер метастазирующих лимфом, меланом и карцином

RESEARCH MODELS

5xFAD (B6SJL)

Synonyms: 5XFAD, APP/PS1, Tg6799, Tg-5xFAD



RESEARCH MC

OVERVIEW

PHENOTYPE CHARACTERIZATION

COMMENTS / QUESTIONS

REFERENCES

FURTHER

Species: Mouse

Genes: APP, PSEN1

Mutations: APP KM670/671NL (Swedish), APP I716V (Florida), APP V717I (London), PSEN1 M146L (A>C), PSEN1 L286V

Modification: APP: Transgenic; PSEN1: Transgenic

Disease Relevance: Alzheimer's Disease

Strain Name: B6SJL-

Tg(APP^{SwFLon},PSEN1^{*M146L*L286V})6799Vas/Mmjax

Genetic Background: C57BL/6 x SJL

Availability: The Jackson Lab; available through the [JAX MMRRC Stock# 034840](#); Live. Research with this model is available from [QPS Austria](#).

Summary

5xFAD mice express human APP and PSEN1 transgenes with a total of five AD-linked mutations: the Swedish (K670N/M671L), Florida (I716V), and London (V717I) mutations in APP, and the M146L and L286V mutations in PSEN1. Three lines were generated originally: Tg6799, Tg7031, and Tg7092. The Tg6799 line, which expresses the highest levels of mutant APP, is the most studied of the three, and is described here on the original hybrid B6SJL background. Tg6799 mice are also available on a congenic C57BL6 background, described [elsewhere](#).

These widely used mice recapitulate many AD-related phenotypes and have a relatively early and aggressive presentation. Amyloid plaques, accompanied by gliosis, are seen in mice as young as two months of age. Amyloid pathology is more severe in females than in males. Neuron loss occurs in multiple brain regions, beginning at about 6 months in the areas with the most pronounced amyloidosis. Mice display a range of cognitive and motor deficits.

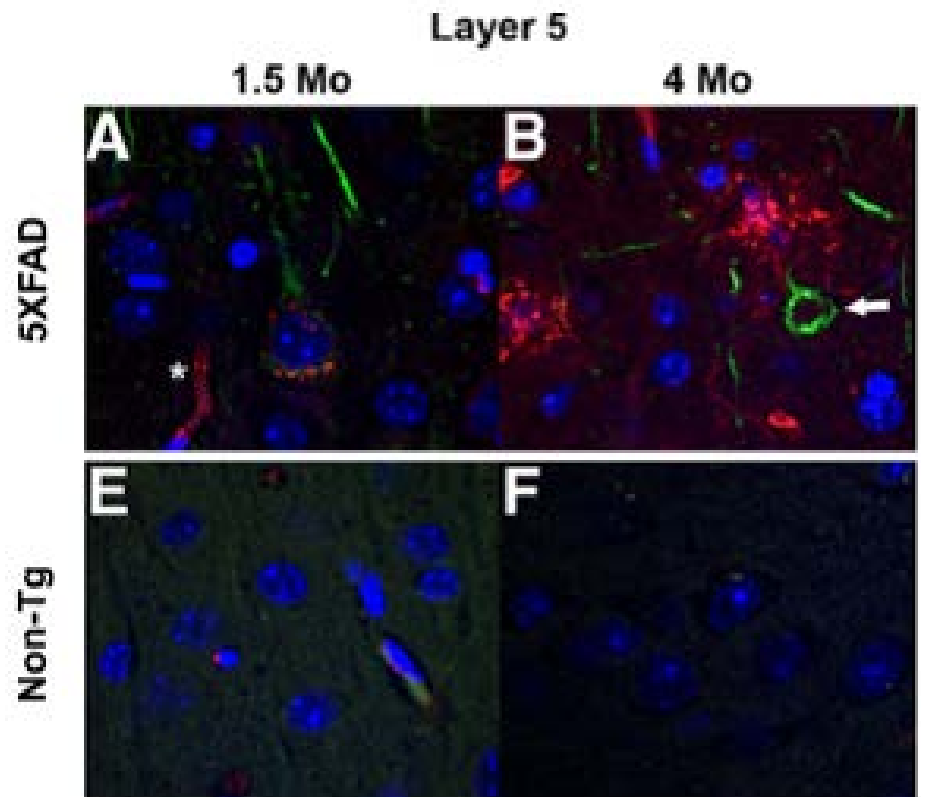
RESEARCH ARTICLE

Open Access

Neuron loss in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease correlates with intraneuronal A β ₄₂ accumulation and Caspase-3 activation

William A Eimer and Robert Vassar*

Каспаза-3 - позитивный нейрон
A β агрегаты
Ядра клеток

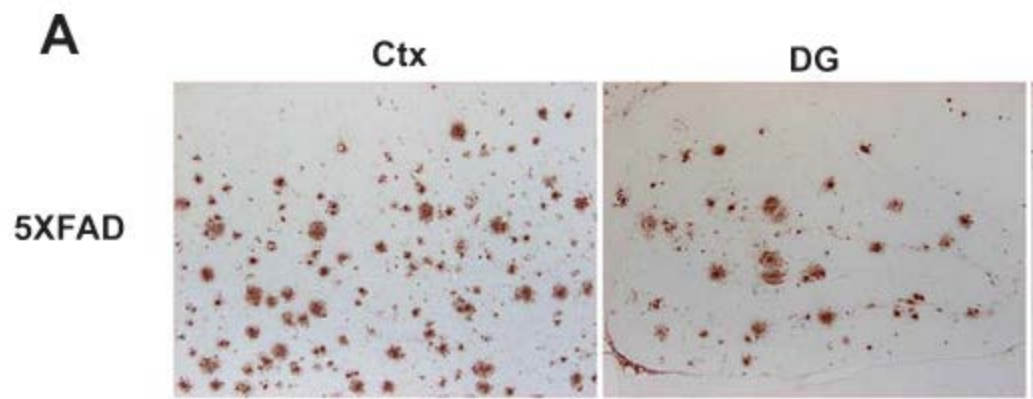


Neprilysin Deficiency Alters the Neuropathological and Behavioral Phenotype in the 5XFAD Mouse Model of Alzheimer's Disease

Melanie Hüttenrauch^a, Sandra Baches^b, Janina Gerth^{a,1}, Thomas A. Bayer^a, Sascha Weggen^b and Oliver Wirths^{a,*}

^aDivision of Molecular Psychiatry, Department of Psychiatry and Psychotherapy, University Medical Center (UMG), Georg-August-University, Göttingen, Germany

^bMolecular Neuropathology Group, Department of Neuropathology, Heinrich-Heine-University, Duesseldorf, Germany



Aβ агрегаты

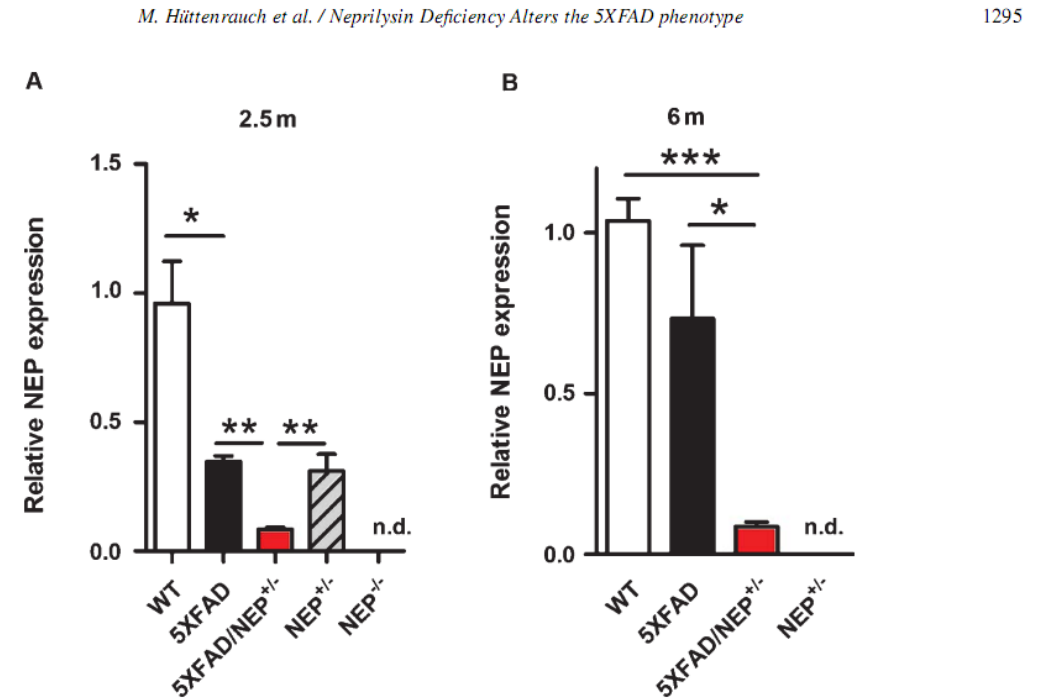
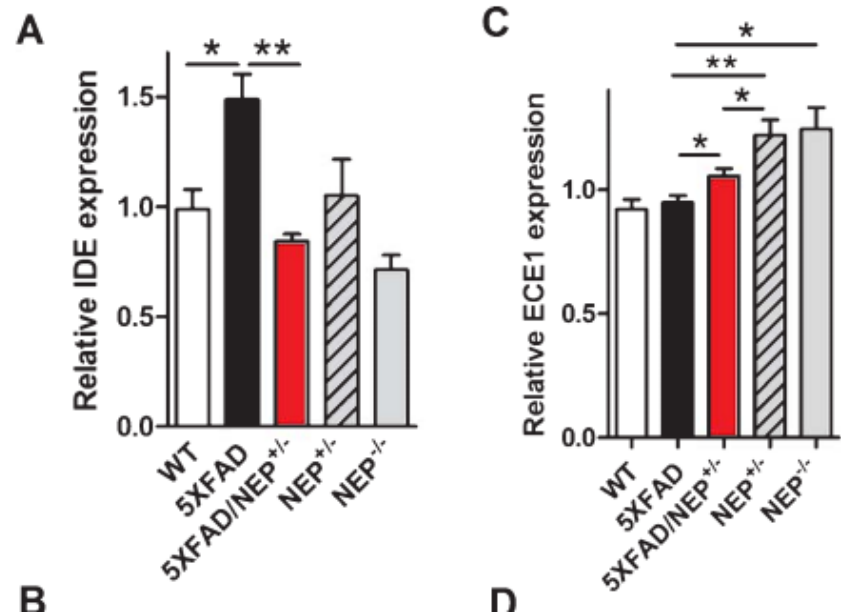
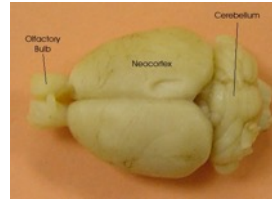


Fig. 1. 5XFAD mice showed reduced NEP mRNA levels already at 2.5 months of age (A), which increase during aging being not significantly different from WT levels at 6 months of age (B). A heterozygous NEP knock-out led to dramatically reduced NEP levels in 5XFAD/NEP^{+/-} mice at 2.5 and 6 months of age, with undetectable NEP levels in NEP^{-/-} mice. All error bars represent s.e.m. ****p* < 0.001, ***p* < 0.01; **p* < 0.05.



WT (P180)



5xFAD



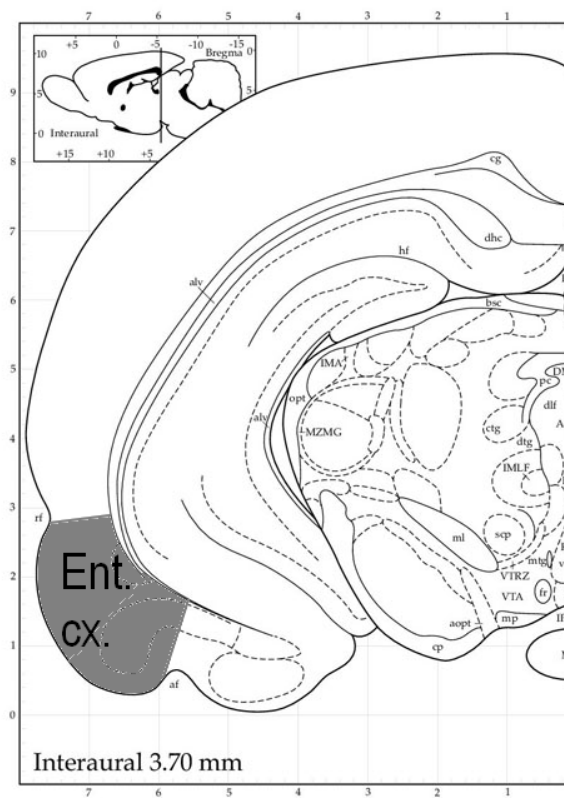
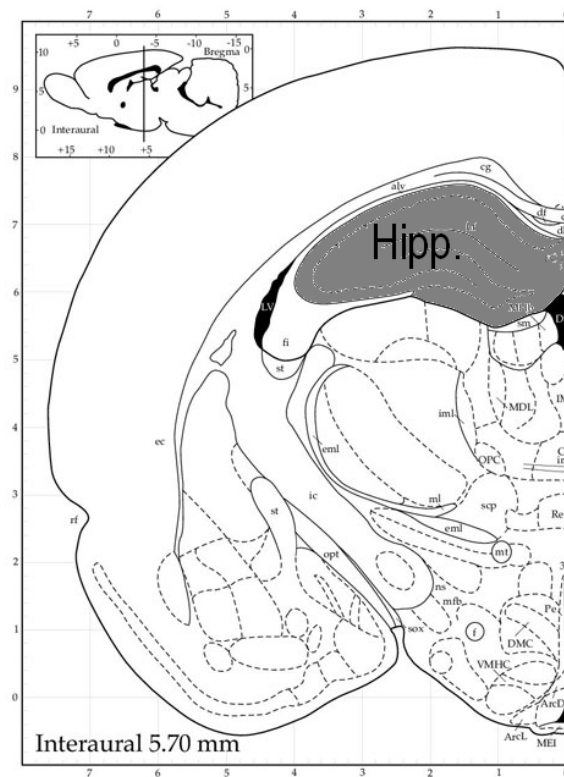
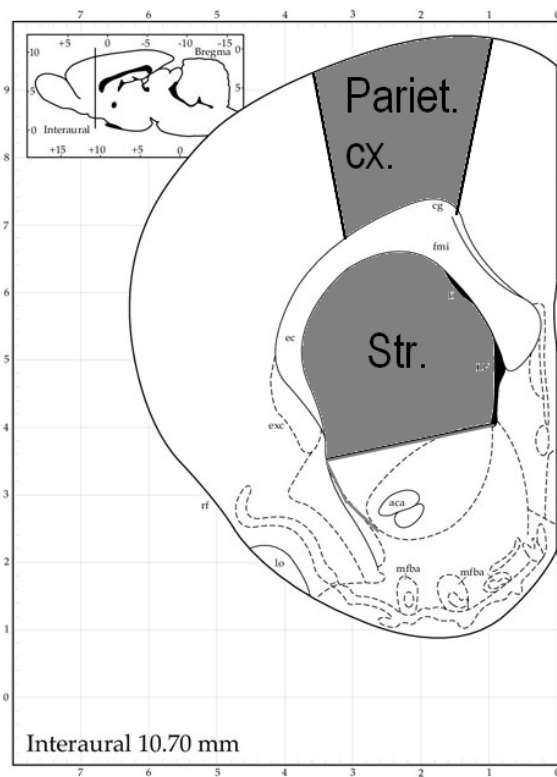
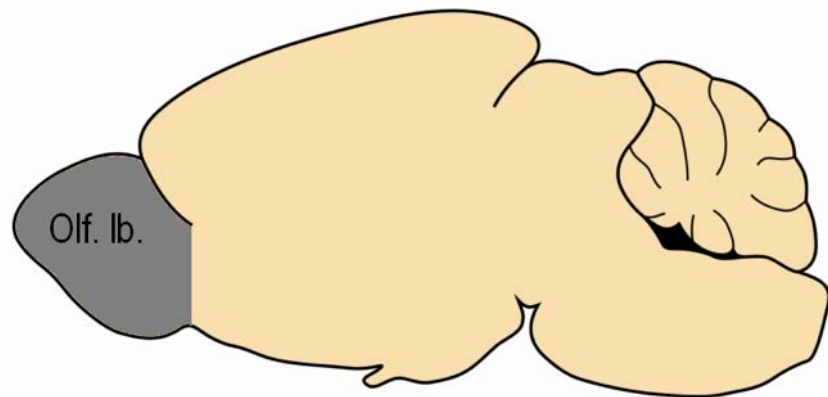
Mini Trans-Blot cell.

Anti- CD10 antibody [EPR5904] (Abcam ab126593, rabbit anti-rat, 1:10000)



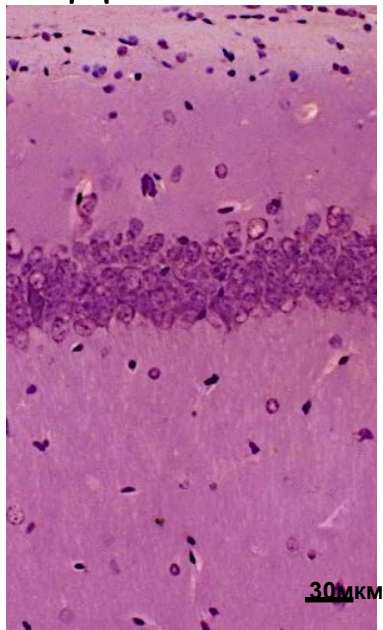
Праймеры : NEP-F: 5'-GGA TCTTGTAAGCAGCCTCAGC-3'; NEP-R: 5'-AGTTGG CACACCGTCTCCAG-3'. CysA-F: 5'-AGGATTCATGTG CCAGGGTG-3'; CysA-R: 5'-CTCAGTCTTGGCAGT GCAGA-3'.

Области интереса

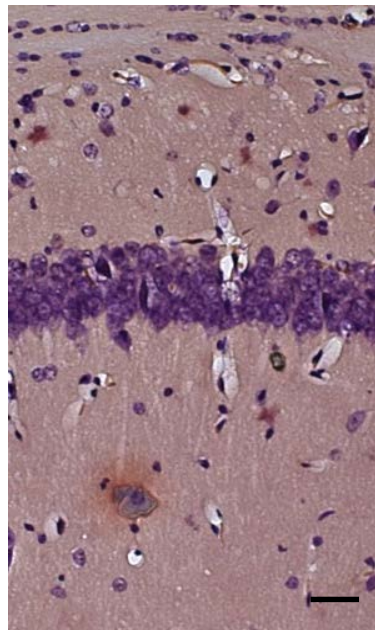


Гиппокамп

Дикий тип

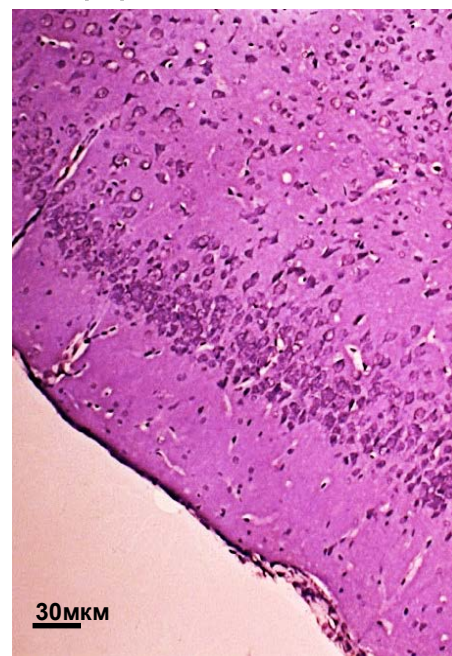


5xFAD

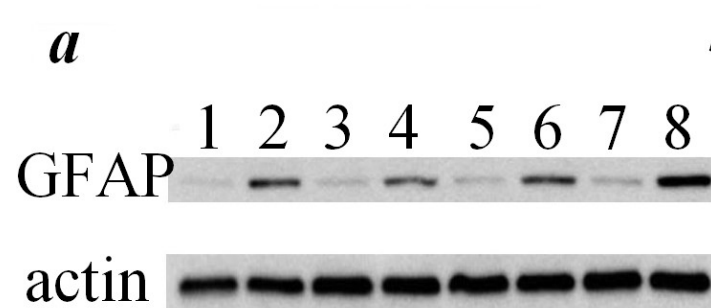
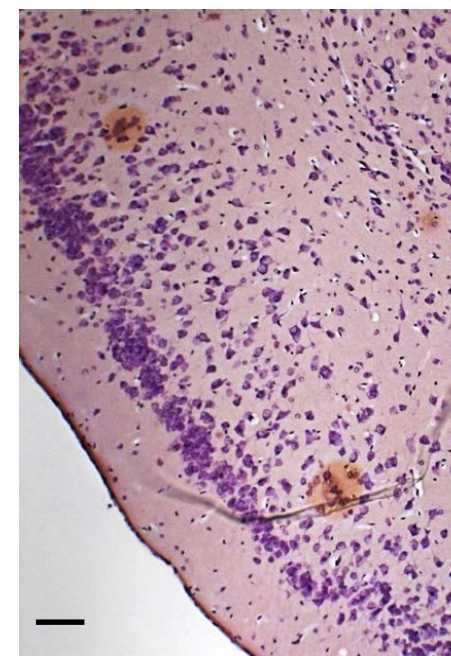


Энторинальная кора

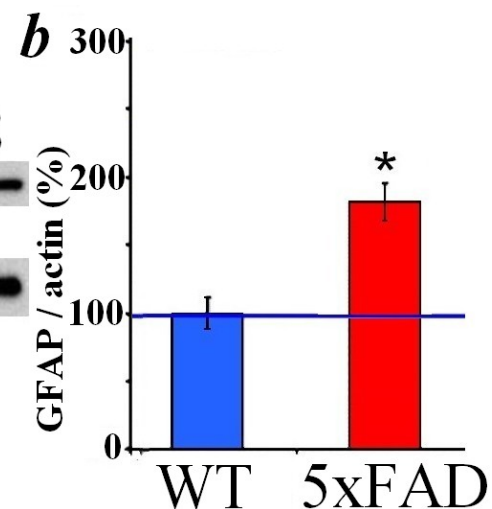
Дикий тип



5xFAD



WT: 1, 3, 5, 7
5xFAD: 2, 4, 6, 8



МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕРВНОЙ ТКАНИ МОЗГА ТРАНСГЕННЫХ МЫШЕЙ ЛИНИИ 5xFAD

© 2022 г. Н. Л. Туманова¹, Д. С. Васильев¹*, Н. М. Дубровская¹, Н. Н. Наливаева¹

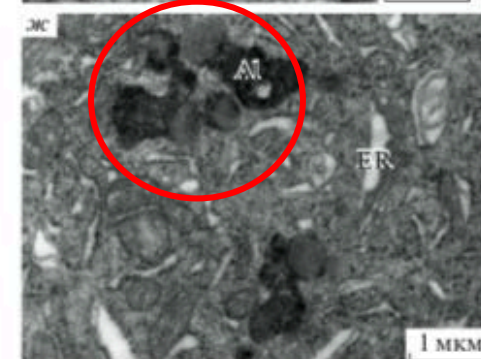
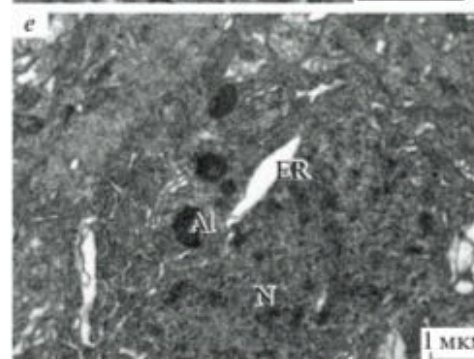
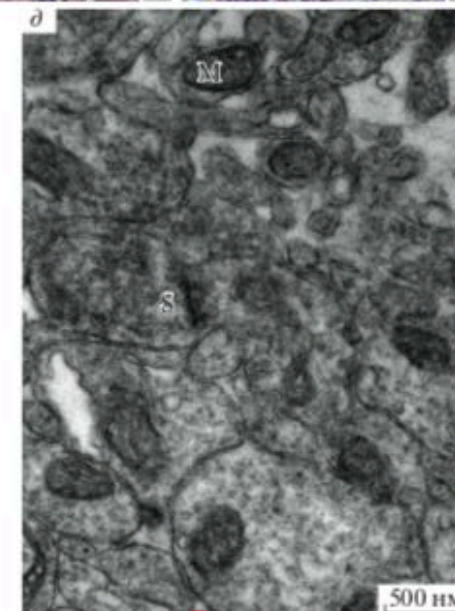
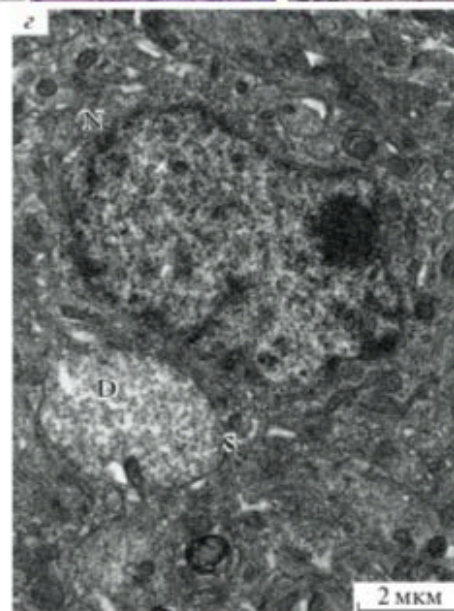
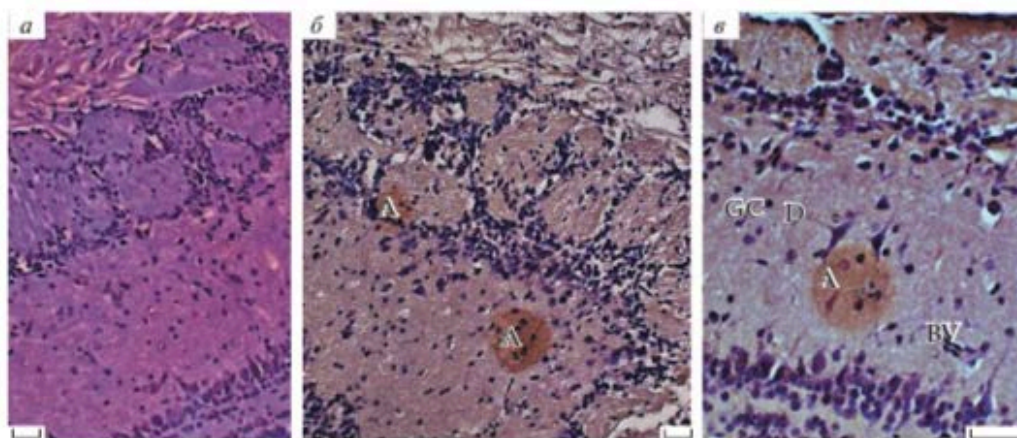
¹Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, 194223 Россия

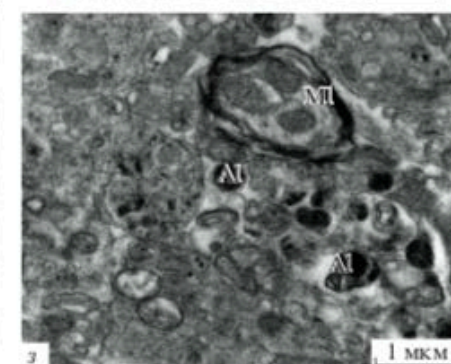
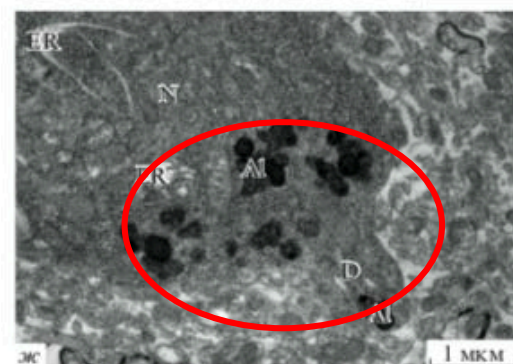
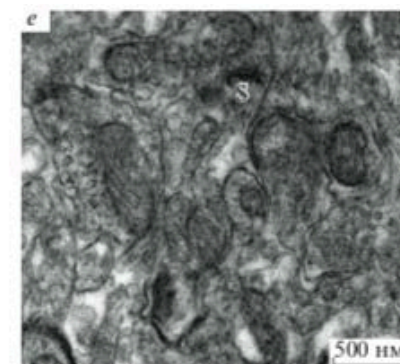
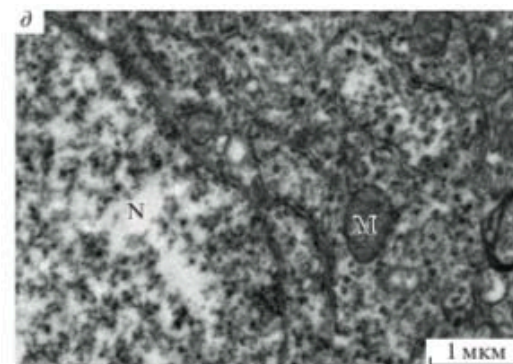
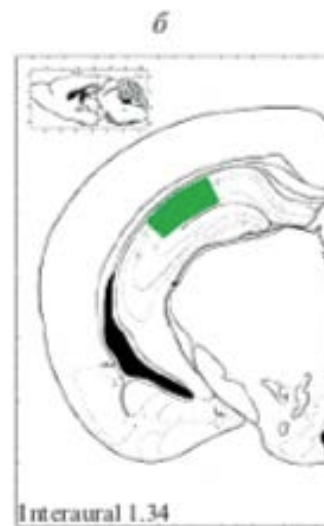
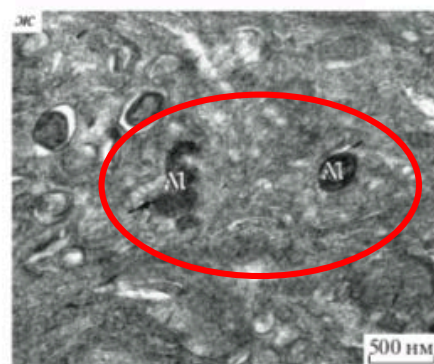
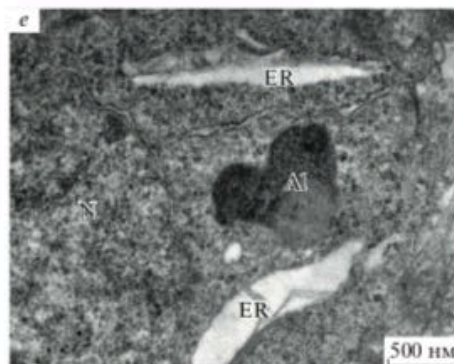
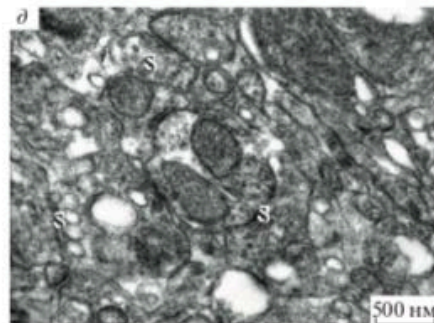
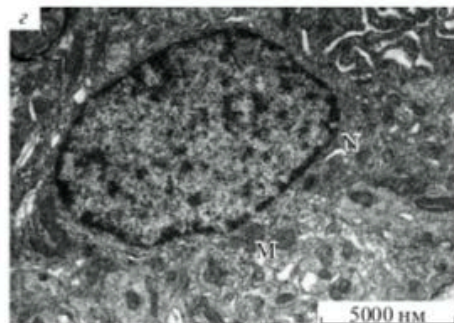
*E-mail: dvasilyev@bk.ru

Поступила в редакцию 15.12.2021 г.

После доработки 02.01.2022 г.

Принята к публикации 13.01.2022 г.





МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕРВНОЙ ТКАНИ МОЗГА ТРАНСГЕННЫХ МЫШЕЙ ЛИНИИ 5xFAD

© 2022 г. Н. Л. Туманова¹, Д. С. Васильев^{1*}, Н. М. Дубровская¹, Н. Н. Наливаева¹

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, 194223 Россия

*E-mail: dvasilyev@bk.ru

Поступила в редакцию 15.12.2021 г.

После доработки 02.01.2022 г.

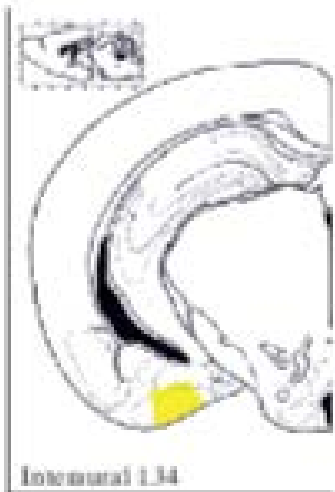
Принята к публикации 13.01.2022 г.

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ
В СТРУКТУРНОЙ И УЛЬТРАСТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ
ПИРИФОРМНОЙ КОРЫ У ТРАНСГЕННЫХ МЫШЕЙ ЛИНИИ 5xFAD

© 2022 г. Н. Л. Туманова¹, Д. С. Васильев^{1,*}, Н. М. Дубровская¹, Н. Н. Наливаева¹

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Россия

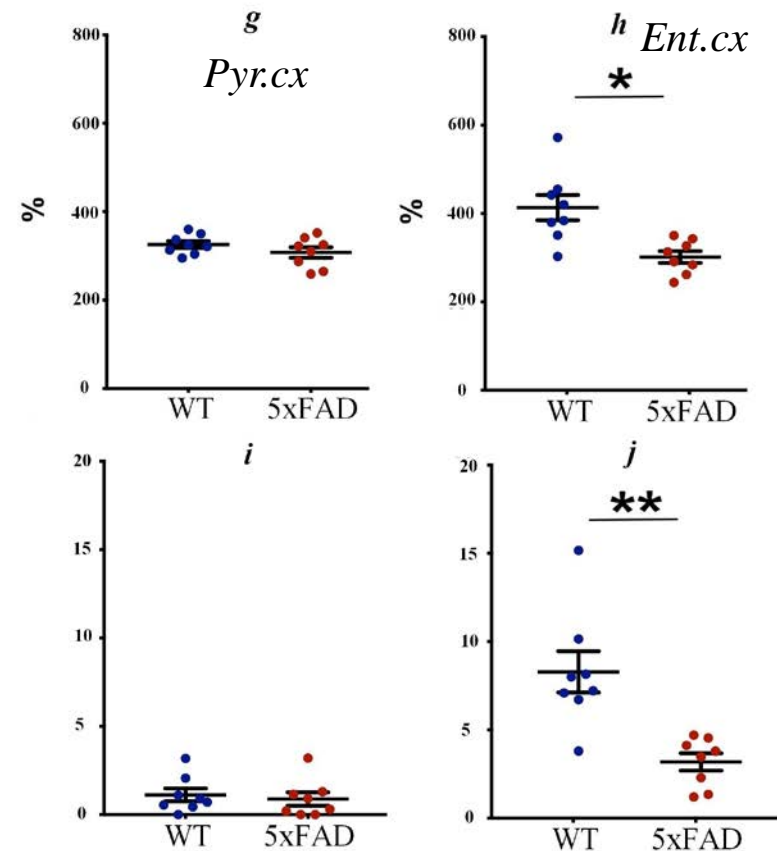
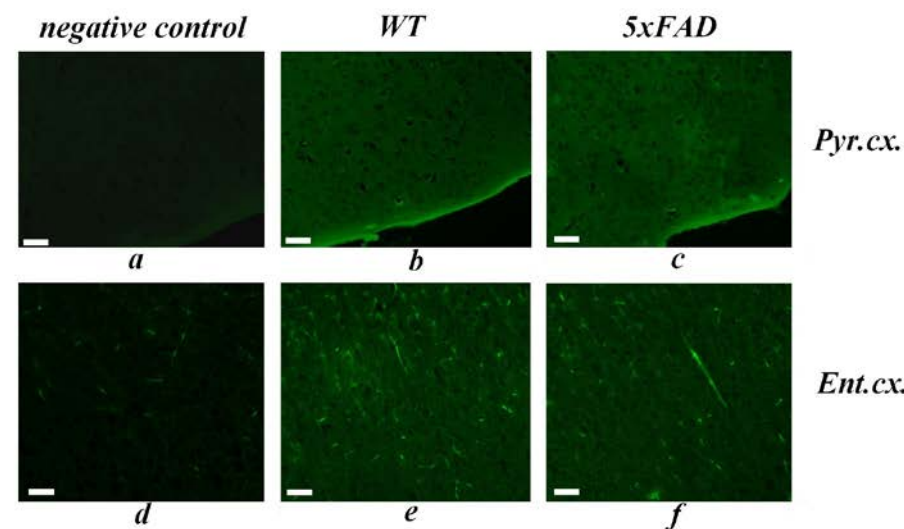
*E-mail: dvasilyev@bk.ru



Денситометрия
иммунореактивности НЕП (в % от
негативного контроля)

Количество НЕП⁺ клеток на
участке площадью 10000
мкм²

Mann-Witney U-test,
*p<0,05



ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

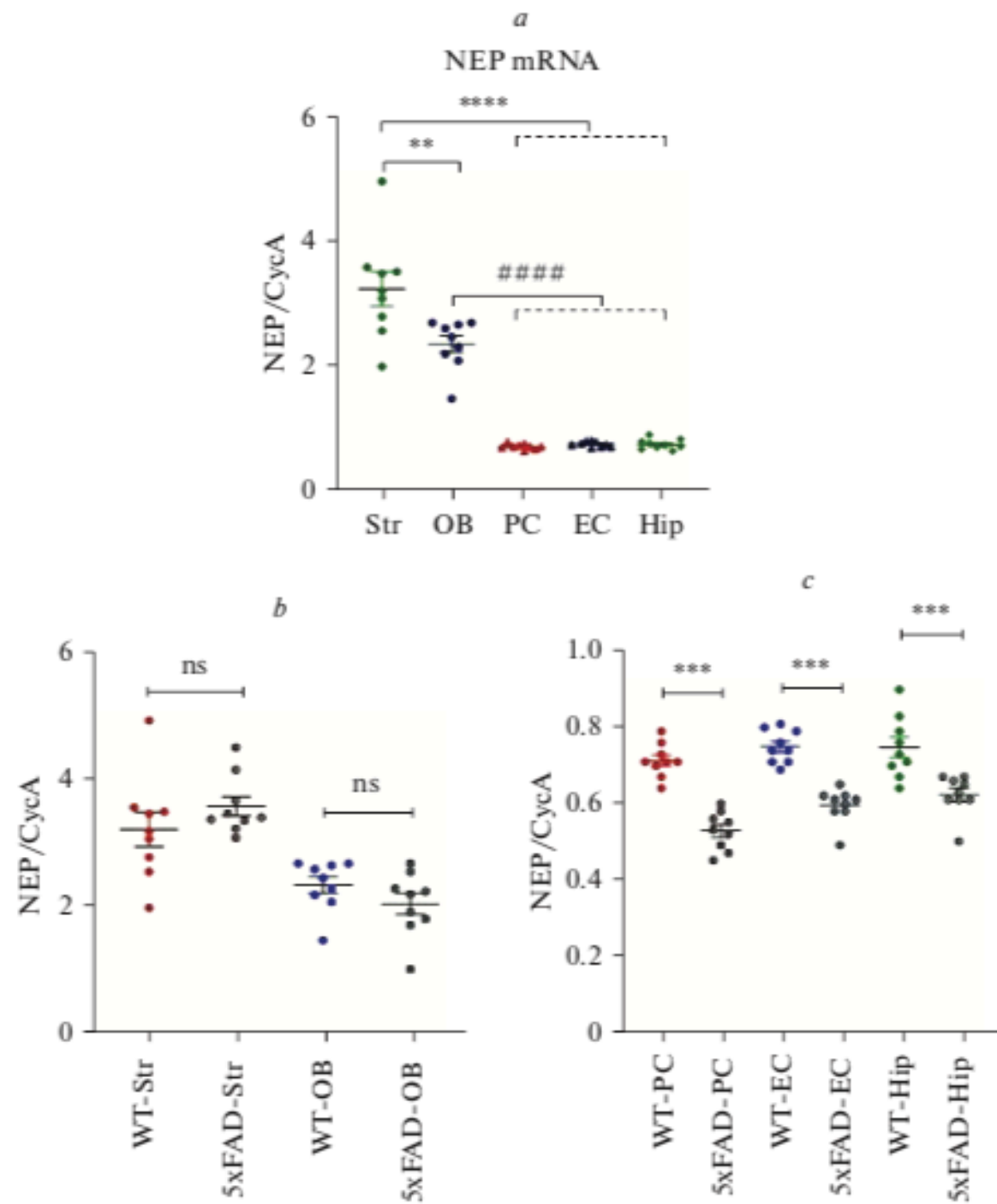
АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ АМИЛОИД-ДЕГРАДИРУЮЩЕГО ФЕРМЕНТА
НЕПРИЛИЗИНА В СТРУКТУРАХ МОЗГА ТРАНСГЕННЫХ МЫШЕЙ
ЛИНИИ 5xFAD

© 2022 г. Д. С. Васильев¹, Н. М. Дубровская¹, Н. Л. Туманова¹, Н. Н. Налываева^{1, *}

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: natalia.nalivaeva@outlook.com

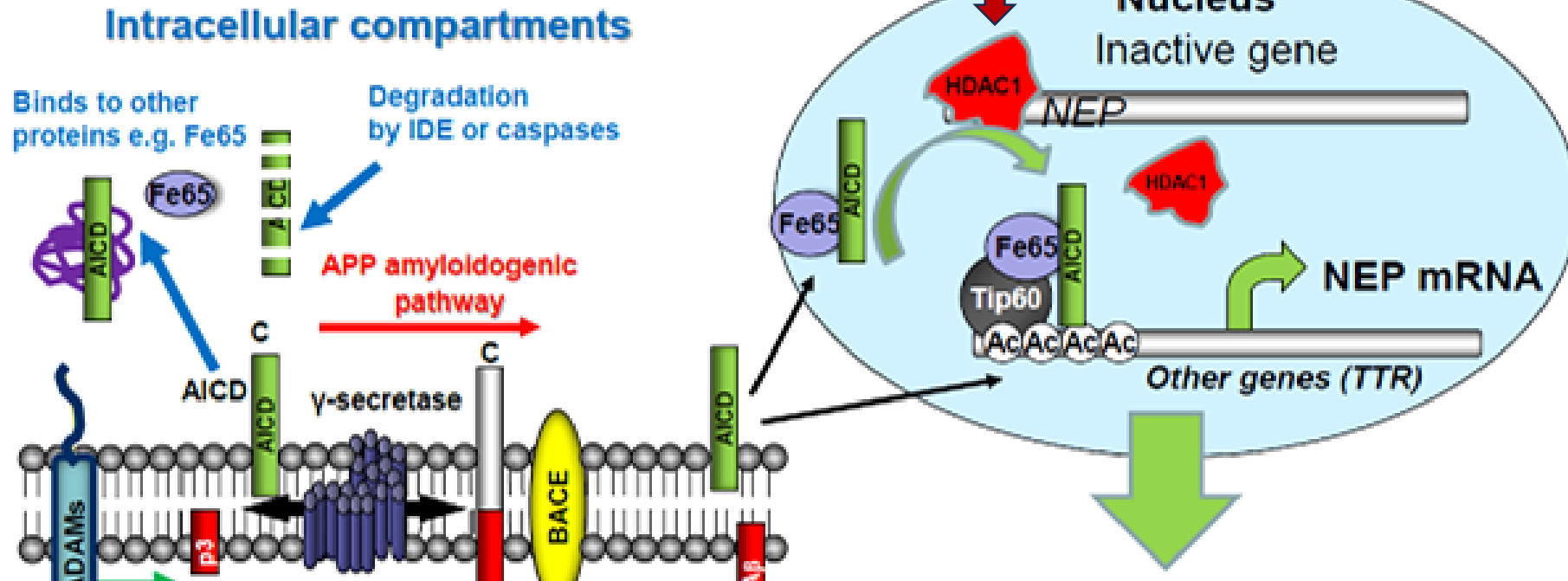
Поступила в редакцию 01.12.2021 г.
После доработки 20.12.2021 г.
Принята к публикации 21.12.2021 г.



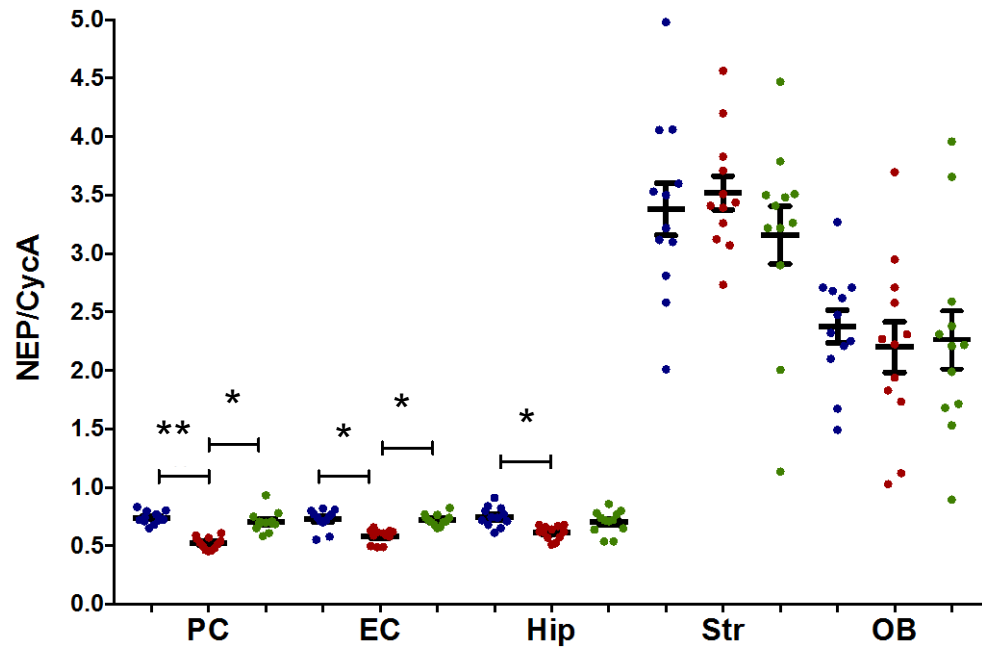
Механизм регуляции экспрессии НЕП в нейрональных клетках

AICD – C-концевой фрагмент белка- предшественника амилоида (APP) - образуется в процессе амилоидогенного расщепления APP с образованием A β и является позитивным регулятором экспрессии амилоид-деградирующего фермента неприлизина (НЕП). Ингибирование деацетилаз гистонов приводит к связыванию AICD с промотором гена НЕП и повышению его экспрессии.

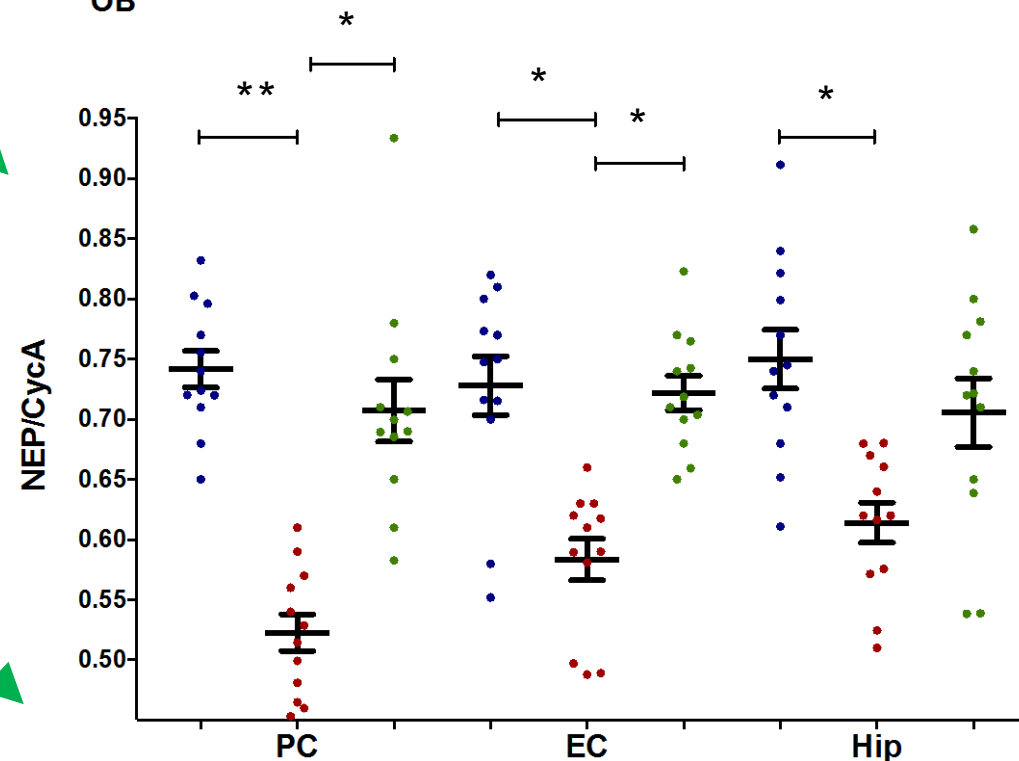
**Ингибитор деацетилаз гистонов
вальпроат натрия (VA)**



Содержание мРНК НЭП в ткани различных отделов мозга трансгенных мышей линии **5xFAD** и мышей дикого типа (возраст 6 месяцев)
Части трансгенных животных вводили ингибитор деацетилаз гистонов вальпроат натрия (VA)



Содержание мРНК НЭП в ткани кортикальных отделов мозга



One-way ANOVA with
Dunn's post-hoc,
*p<0,05 ** p<0,01



Выводы

- Уровень базовой экспрессии НЕП в кортикальных отделах мозга у грызунов ниже, чем в ткани стриатума и обонятельных луковиц
- В кортикальных отделах мозга у мышей линии 5xFAD уровень экспрессии НЕП снижен по сравнению с мышами дикого типа
- Амилоидоз в ткани кортикальных отделов мозга мышей линии 5xFAD коррелирует со снижением уровня экспрессии НЕП
- У мышей линии 5xFAD наблюдаются очаги глиоза в новой коре и гиппокампе, а также встречаются клетки с признаками нейродегенеративных изменений: скоплениями лизосом, аутофагосом и аутофаголизосом в цитоплазме, лизисом органоидов в некоторых областях цитоплазмы, снижением количества дендритных шипиков и синаптических контактов
- Ингибирование деацетилаз гистонов вальпроатом натрия способно усиливать экспрессию амилоид-деградирующей нейрорептидазы НЕП в ткани кортикальных отделов головного мозга, что может смягчать развитие амилоидоза, обусловленного генетическим профилем трансгенной линии 5xFAD, и снижать степень развития когнитивных и обонятельных нарушений

**БЛАГОДАРИМ ЗА
ВНИМАНИЕ!**

Поддержано грантом РФФИ 19-015-00232,
выполнено в рамках государственного задания 075-00408-21-00