

Abstrakt

Cholinergní přenos reguluje celou řadu behaviorálních domén, od motorické aktivity po kognici. Cholinergní signalizace je zprostředkována muskarinovými a nikotinovými acetylcholinovými receptory (mAChR a nAChR). Zatímco mAChR jsou pomalu reagující metabotropní receptory, nAChR jsou iontové kanály zprostředkovávající rychlou neurotransmisi. Existuje rostoucí množství důkazů potvrzujících roli nAChR jako důležitých modulátorů behaviorálních funkcí. Protože se však nAChR skládají z mnoha podtypů, v závislosti na jejich podjednotkovém složení, a protože jsou exprimovány různými populacemi neuronů v různých oblastech mozku, jejich příspěvek ke kontrole chování je velmi komplexní. K jeho dešifrování je nutné selektivně cílit na nAChR exprimované nejen v konkrétních oblastech, ale i konkrétními neurony s definovaným účinkem na lokální nervové okruhy. Cílem této práce bylo použít různé genetické strategie k vytvoření delece $\beta 2$ -obsahujících nAChR v konkrétních oblastech myšího mozku a typech neuronů, aby bylo možné charakterizovat funkční význam těchto receptorů.

Naši práci jsme zaměřili na dvě oblasti mozku, striatum a prefrontální kůru (PFC). Ve striatu jsme identifikovali neurony exprimující jednu z nejběžnějších nikotinových podjednotek, $\beta 2$ podjednotku, pomocí dvojité fluorescenční hybridizace in situ. Překvapivě byly striatální cholinergní interneurony identifikovány jako neuronální populace s nejvyšší expresí $\beta 2$ nikotinové podjednotky. Abychom prozkoumali funkční význam $\beta 2$ nAChR v neuronech striata, použili jsme jako první přístup lokální delecí injekcí AAV vektoru exprimujícího Cre rekombinázu. AAV vektor jsme injikovali do dorzálního striata myší Beta2-flox/flox a pomocí Cre/loxP rekombinace jsme indukovali delecí 5. exonu genu pro $\beta 2$ podjednotku. Poté jsme testovali myši s touto delecí v několika behaviorálních úlohách. Zjistili jsme, že nepřítomnost $\beta 2$ podjednotky ve striatu vedla ke změnám v několika behaviorálních doménách, včetně zvýšení úzkostného chování, snížení sociálního chování, deficitu v diskriminačním učení a zvýšené citlivosti na amfetamin. Změny chování byly také spojeny se zvýšenou expresí transkripčního faktoru c-Fos u zvířat, která obdržela injekci jak fyziologického roztoku, tak i amfetaminu. Kromě přístupu Cre/loxP jsme použili také techniku CRISPR/Cas9 k selektivnímu odstranění podjednotky $\beta 2$ v interneuronech exprimujících neuropeptid Y (NPY) v PFC. Tato specifická delece vedla ke zvýšení sociálního chování u mutovaných myší, která byla dříve

popsána pro $\beta 2$ -globální knock-out myši a spojena s nikotinovou signalizací v PFC. Došli jsme k závěru, že i selektivní delece nAChR exprimovaných specifickou a vzácnou populací neuronů vede ke změnám chování. Navíc behaviorální účinek delece nAChR není závislý pouze na podtypu receptoru, ale také na oblasti mozku a typu neuronů, které byly delecí ovlivněny.