

1. Raziskovalna organizacija:

Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta

2. Ime in priimek mentorja:

Robert Zorec

3. Področje znanosti iz šifranta ARRS:

3.03 Nevrobiologija

4. Kontaktni e-naslov mentorja:

robert.zorec@mf.uni-lj.si

5. Kratek opis programa usposabljanja:

Predmet raziskovalnega usposabljanja so raziskave na možganih, bolj specifično na celicah glije, na astrocitih. Te v nekaterih področjih po številu prekašajo živčne celice. V zadnjem času se je razumevanje vloge teh celic v procesiranju informacij v možganih močno spremenilo. Te spremembe so povezane tudi z možganskim nevrotrofičnim dejavnikom (»brain-derived neurotrophic factor«, BDNF), ki sodi med najbolj razširjene rastne dejavnike v osrednjem živčevju. Igra ključno vlogo v razvoju možganov in pri t.i. sinaptični plastičnosti. Povezujejo ga z nastankom nevropsihiatričnih bolezni (depresija, shizofrenija in odvisnosti). Njegovo izražanje v hipokampusu povečajo zdravila antidepresivi. BDNF, z uravnavano eskocitozo, izločajo tako živčne kot tudi celice glije, čeprav je malo znanega o mehanizmih izločanja iz glije. Astrociti, najpogostejši tip glije v možganih sesalcev, so aktivno udeleženi v medcelični signalizaciji, pri učenju, oblikovanju spominskih zapisov ter reorganizaciji sinaps (v sinaptični plastičnosti). Z izločanjem kemičnih prenašalcev modulirajo prenos v t.i. tripartitni sinapsi. Kandidat/-ka bo svoje delo zato usmeril/-a v karakterizacijo mešičkov, ki skladiščijo in izločajo BDNF iz astrocitov v kulturi. Uvodoma bo osvojil/-a tehnike za specifično, imunofluorescentno označevanje subceličnih organelov. Z uporabo konfokalne mikroskopije in mikroskopije s strukturiranim osvetljevanjem (SIM) bo v preparatu fiksiranih astrocitov izmeril/-a velikost endogenih, fluorescentno označenih BDNF mešičkov, kvantitativno ovrednotil/-a porazdelitev BDNF v sekretijskih in endosomskih organelih ter ugotavljal/-a lokalizacijo označenih receptorjev za BDNF (TrkB in p75NTR) v plazmalemi astrocitov. Testiral/-a bo tudi vpliv učinkovin, s hitrim in dolgotrajnim antidepresivnim učinkom, na spremembo sinteze in skladiščenje endogenega BDNF v mešičkih. Z vnosom plazmidne DNK v astrocitate bo izrazil/-a zapis za fuzijsko beljakovino BDNF in rdečo fluorescentno beljakovino (BDNF-DsRed) s katero bo označil/-a sekretijske mešičke v živih celicah in izvedel/-a fluorimetrične meritve spontane ter izzvane mobilnosti mešičkov. Testiral/-a bo vpliv sekretagogov, ki povečajo citosolno aktivnost kalcijevih ionov in kvantificiral/-a delež sekretijsko aktivnih mešičkov ter dinamiko izločanja njihove vsebine. Z izvedbo dvojne transfekcije s plazmidi za BDNF-DsRed ali atrijski natriuretični peptid označen z zeleno fluorescentno beljakovino (ANP.emd) in plazmidi za mutirane preseniline, ki delujejo kot kanalčki prepustni za kalcijeve ione v membrani endoplazemskega retikuluma (ER), bo raziskal/-a povezavo med mobilnostjo mešičkov in spremenjeno homeostazo kalcija v ER. Dodatno bo testiral/-a še vpliv hitro delujočih antidepresivov na mobilnost in sekretijsko aktivnost BDNF-DsRED mešičkov. Z ugotavljanjem kolokalizacije imunofluorescence membranskih vSNARE beljakovin sinaptobrevin 2 in celubrevin ter beljakovine sinaptotagmin IV in fluorescence BDNF-DsRed bo, v konfokalnih in/ali SIM mikrofografijah, kvantitativno in neodvisno ovrednotil/-a sekretijski potencial mešičkov, ki pričakovano vstopajo v uravnavano, od kalcija, odvisno eksocitozo. Vse rezultate raziskav bo kandidat/-ka tekoče analiziral/-a in objavil/-a v ugledni, mednarodni znanstveni periodiki.