

**Università di Pisa**

**Studente:** Alessio Zanelli

**Titolo:** Deconstructing human nervous system cell complexity with cortical and spinal organoids

Lo sviluppo del sistema nervoso centrale nell'uomo inizia con la comparsa della piastra neurale. Segue la formazione delle pieghe neurali, che fondendosi origineranno il tubo neurale. Guidato da gradienti di morfogeni lungo i suoi assi rostro-caudale e dorso-ventrale, il tubo neurale origina il sistema ventricolare del cervello rostralmente e il midollo spinale caudalmente. A livello del telencefalo, la differenziazione delle cellule staminali/progenitrici neurali porterà alla generazione di neuroni, i quali migreranno verso la superficie piaie, formando gli strati della corteccia secondo un meccanismo detto "inside-out". Nel midollo spinale, i progenitori differenzieranno secondo il gradiente dorso-ventrale dei vari morfogeni, generando i diversi domini di interneuroni e motoneuroni. Durante lo sviluppo, la neocorteccia e il midollo spinale instaurano connessioni, le quali determineranno la formazione del tratto cortico-spinale, una struttura essenziale per il controllo dei movimenti volontari.

Le nuove tecnologie di riprogrammazione in cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) e le nuove conoscenze sui meccanismi molecolari coinvolti nel neurosviluppo hanno reso possibile la generazione di modelli umani 3D, chiamati organoidi. A partire dalle iPSC è possibile ottenere organoidi in grado di mimare *in vitro* un'ampia varietà di organi, tra cui il cervello e il midollo spinale. Recentemente, organoidi con identità diverse sono stati fusi per generare assembloidi.

Questa tesi si propone di generare e caratterizzare organoidi di tipo corticale e spinale, nonché assembloidi cortico-spinali derivati dalla loro fusione. Entrambi i tipi di organoidi sono stati generati con successo e, nelle fasi iniziali del differenziamento, questi mostrano espressione di marcatori di progenitori neurali e la formazione di architetture cellulari simili al tubo neurale. Nelle fasi successive, gli organoidi corticali dimostrano espressione di marcatori tipici dei vari strati della corteccia, mentre gli organoidi spinali esprimono marcatori caratteristici sia di interneuroni che di motoneuroni. Infine, negli assembloidi è stato possibile osservare proiezioni corticofugali originate da neuroni della porzione corticale.

Organoidi regione-specifici e assembloidi cortico-spinali possono rappresentare importanti modelli per lo studio di malformazioni dello sviluppo e di lesioni del tratto cortico-spinale, nonché un possibile strumento per testare approcci di medicina rigenerativa.