

3. INTERNATIONAL MEDITERRANEAN CONGRESS

ABSTRACT BOOK

Edited by
Assoc. Prof. Dr. Baran ARSLAN
Dr. Merve ERDOĞAN

ISBN: 978-625-367-050-4

3. INTERNATIONAL MEDITERRANEAN CONGRESS

April 17-18, 2023 / Mersin, Türkiye

ABSTRACT BOOK

Edited by

Assoc. Prof. Dr. Baran ARSLAN

Dr. Merve ERDOĞAN

All rights of this book belong to Iksad Global- 2023.

**Without permission can't be duplicate or copied. Authors of
chapters are responsible both ethically and juridically.**

Iksad Global- 2023 ©

Issued: 22.04.2023

ISBN: 978-625-367-050-4

CONGRESS ID

3. INTERNATIONAL MEDITERRANEAN CONGRESS

DATE-PLACE

April 17-18, 2023

Mersin, Türkiye

EDITORS

Assoc. Prof. Dr. Baran ARSLAN

Dr. Merve ERDOĞAN

EVALUATION PROCESS

All applications have undergone a double-blind peer review process

TOTAL NUMBER OF PAPERS: 253

THE NUMBER OF PAPERS FROM TÜRKİYE: 124

OTHER COUNTRIES: 129

PARTICIPANT COUNTRIES (19):

Türkiye, Azerbaijan, North Cyprus, Canada, Indonesia, Nigeria, Ukraine, Morocco, Vietnam, Republic of Belarus, Spain, India, Pakistan, Malaysia, Hungary, Kazakhstan, Egypt, France, Algeria

CONGRESS CHAIRMAN

Dr. Viola MAKHZOUM

CONGRESS ORGANIZING COMMITTEE

Prof. Dr. Abdulhamid SİNANOĞLU

Prof. Dr. Mykola VAS'KIV

Doç. Dr. Hakkı ÇİFTÇİ

Doç. Dr. Olha BYKOVA

Dr. Hüseyin ERİŞ

Dr. Ethem İlhan ŞAHİN

Dr. Vedat AKMAN

Dr. Baurcan BOTAKARAYEV

Dr. Elvan CAFAROV

COORDINATOR

Alina AMANZHLOVA

CONGRESS SCIENTIFIC COMMITTEE

Prof. Dr. Mykola VAS'KIV

Borys Grinchenko Kyiv University

Prof. Dr. Abdulhamid SİNANOĞLU

Kahramanmaraş Sütçü İmam University

Prof. Dr. Ahmet Niyazi ÖZKER

Bandırma Onyedi Eylül University

Prof. Dr. Natalia LATYGINA

Taras Sevchenko University

Prof. Dr. Sarash KONURBAYEVA

Kazakh State Teacher Training University

José G. Vargas-Hernández, M.B.A., Ph. D.

University of Guadalajara

Assoc. Prof. Dr. Olha BYKOVA

Borys Grinchenko Kyiv University

Assoc. Prof. Gökhan OFLUOĞLU

Zonguldak Bülent Ecevit University

Assoc. Prof. H.Burçin HENDEN ŞOLT

Zonguldak Bülent Ecevit University

Assoc. Prof. Hakkı ÇİFTÇİ

Çukurova University

Assoc. Prof. Veysel PARLAK

Atatürk University

Dr. Andrea LUCCHESI

University of São Paulo

Assoc. Prof. Dr. Betül APAYDIN YILDIRIM

Ataturk University

Asst. Prof. Dr. Elif Feyza TOPDAS

Ataturk University

Dr. Muntazir MEHDI

National University of Modern Languages

Prof. Guguli DUMBADZE

Batumi Shota Rustaveli State University

Dr. Terane NAGIYEVA

Azerbaijan State Pedagogical University

Dr. Viola MAKHZOUM

Islamic University of Lebanon

Dr. Bashir Ali SALEH

Al-Jabal Al-Gharbi University, Libya

Dr. Aysel KEKİLLİOĞLU

Nevsehir Hacibektas Veli University, Turkey

Dr. Zafer GÜLSAR

Independent Researcher, Turkey

Dr. Murat Genç

Ataturk University, Turkey

**FARE HİPOKAMPAL HT22 HÜCRE HATTININ NÖROGENEZ BELİRTEÇLERİ
AÇISINDAN KARAKTERİNİN BELİRLENMESİ**

CHARACTERISATION OF MOUSE HIPPOCAMPAL HT22 CELL LINE REGARDING THE
MARKERS OF NEUROGENESIS

Ayla BATU ÖZTÜRK

Mersin University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Mersin, Türkiye
ORCID ID: 0000-0003-3221-4292

Derya YETKİN

Mersin University Advanced Technology, Education, Research and Application Center,
Mersin, Türkiye
ORCID ID: 0000-0002-1452-5655

Nail Can ÖZTÜRK

Mersin University, Faculty of Medicine, Department of Anatomy, Mersin, Türkiye
ORCID ID: 0000-0001-9459-2120

Ahmet Hakan ÖZTÜRK

Mersin University, Faculty of Medicine, Department of Anatomy, Mersin, Türkiye
ORCID ID: 0000-0002-5182-9682

ÖZET

Fare hipokampusu kökenli HT22 hücre hattı, hipokampustan elde edilerek ölümsüzleştirilmiş nadir hücre hatlarından birisidir. HT22 hücreleri çeşitli nörobiyolojik olayların *in-vitro* düzeyde taklit edilmesinde model olarak kullanılmaktadır. Ancak hipokampustan elde edilmesine rağmen, HT22 hücrelerinin erişkin hipokampal nöroenez modeli olarak kullanılabilirliği ile ilgili sınırlı literatür bilgisi bulunmaktadır. Nöroenez alanında *in-vivo* deneyler gerçekleştiren araştırma grupları, sorularının önemli bir kısmını, deney hayvanı kullanmadan, *in-vitro* platformlarda cevaplama eğilimindedir. Çalışmamızın amacı, HT22 hücrelerinin doğal halinin; nöroenez, nöronal farklılaşma ve nöronal aktivite ile ilgili temel belirteçler açısından karakterinin anlaşılmasıdır. Çalışmamızda, üreticinin talimatlarına göre 4. pasajdaki HT22 hücreleri kullanılmıştır. HT22 hücreleri mikroskopik görüntüleme petrilere ve T25 flasklara ekilerek HG-DMEM besiyerinde 24 saat süre ile kültüre edilmiştir. Petrillerdeki HT22 hücreleri paraformaldehit ile fikse edilerek Calretinin, Doublecortin ve NeuN proteinlerinin ekspresyonlarını belirlemek amacıyla immünohistokimyasal işlemlere alınmıştır. T25 flaskalara ekilen hücreler ise *Ascl1*, *Klf9*, *NeuN*, *Fos* ve *Arc* genlerinin ekspresyon seviyelerinin endojen kontrol *Hprt* genine kıyasla ne mertebede olduğunu tespit etmek için sırasıyla RNA izolasyonu,

cDNA sentezi ve Real-Time-PCR işlemlerine alınmıştır. Gen ekspresyonu çalışmalarında pozitif kontrol olarak, ticari olarak elde edilen, fare hipokampusundan elde edilmiş cDNA kullanılmıştır. İşaretlemeler neticesinde HT22 hücrelerinin Doublecortin ve NeuN proteinlerini ifade etmediği Calretinin proteinini özgün biçimde ifade ettiği gözlenmiştir. HT22 hücrelerinin, *Ascl1*, *NeuN*, *Fos* ve *Arc* genlerini yok denecek kadar az ifade ettiği tespit edilmiştir. *Klf9* genin ise oldukça yüksek bir ifade seviyesine sahip olduğu görülmüştür. Elde edilen bulgular, HT22 hücrelerinin hipokampustan elde edilmiş olmasına rağmen, nöronal farklılaşma, olgunlaşma ve aktivite ile ilgili belirteçleri çok az seviyede ifade ettiği, farklılaşmanın tersine kök hücre havuzunun korunmasından sorumlu olan *Klf9* genini yüksek düzeyde ifade ettiği görülmüştür. Doğrudan nöronal yeniden programlanma olayında büyük öneme sahip *Ascl1* geninin HT22 hücre hattında çok az seviyede ifade olması, genetik ve epigenetik müdahale yöntemleriyle arttırılmaya değer olduğu görülmektedir. Bulgularımızın sonucunda, hipokampustan elde edilmiş HT22 hücreleri nöroenez modeli olarak kullanılabilir olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: HT22, Hipokampus, Nöronal Farklılaşma, *Ascl1*

Bu çalışma, Mersin Üniversitesi BAP birimi tarafından desteklenmiştir. (Proje no: 2018-1-AP4-2875)

ABSTRACT

The mouse hippocampus-derived HT22 cell line is one of the rare cell lines derived from the hippocampus. HT22 cells are used as models to mimic various neurobiological events at the *in-vitro* level. However, there is limited literature regarding the utility of HT22 cells as adult hippocampal neurogenesis model, despite being derived from the hippocampus. Research groups that perform *in-vivo* experiments in the field of neurogenesis tend to answer significant part of their questions, first, on *in-vitro* platforms without using experimental animals. The aim of our study, the natural state of HT22 cells; is to understand its character in terms of key markers of neurogenesis, neuronal differentiation and neuronal activity. In our study, HT22 cells from passage 4 were used according to the manufacturer's instructions. HT22 cells were cultured in HG-DMEM medium for 24 hours by seeding in microscopic imaging plates and T25 flasks. HT22 cells in petri dishes were fixed with paraformaldehyde and subjected to immunocytochemical processes to determine the expression of Calretinin, Doublecortin and NeuN proteins. Cells seeded in T25 flasks were subjected to RNA isolation, cDNA synthesis and Real-Time-PCR processes, respectively, to determine the level of expression of *Ascl1*, *Klf9*, *NeuN*, *Fos* and *Arc* genes compared to the endogenous control *Hprt* gene. Commercially available cDNA from mouse hippocampus was used as positive control in gene expression studies. As a result of the markings, it was observed that HT22 cell line didn't express Doublecortin and NeuN proteins, but expressed Calretinin protein specifically. It has been determined that HT22 cells express little or no *Ascl1*, *NeuN*, *Fos* and *Arc* genes. The *Klf9* gene was found to have a very high expression level. The findings showed that although HT22 cells were derived from the hippocampus, they expressed very little markers of neuronal differentiation, maturation and activity, and highly expressed the *Klf9* gene, which is responsible for maintaining the stem cell pool, in contrast to differentiation. The low level of expression of the *Ascl1* gene in the HT22 cell line, which is of great importance in direct neuronal reprogramming, seems to be worth increasing with genetic and epigenetic intervention methods. As a result of our findings, it is thought that HT22 cells derived from the hippocampus can be used as a model of neurogenesis.

Keywords: HT22, Hippocampus, Neuronal Differentiation, *Ascl1*

This study was supported by Mersin University BAP unit (Project no:2018-1-AP4-2875)



CERTIFICATE

OF PARTICIPATION

This Certificate is Proudly Presented to

Ayla BATU ÖZTÜRK

of participation in oral and technical presentation, recognition
and appreciation of research contributions to

3. INTERNATIONAL MEDITERRANEAN CONGRESS
held on April 17-18, 2023 / Mersin, Turkiye

with the paper entitled

CHARACTERISATION OF MOUSE HIPPOCAMPAL HT22 CELL
LINE REGARDING THE MARKERS OF NEUROGENESIS



Dr. Viola Makhzoum
Head of Congress

