

Transkriptsioonifaktori *TCF4* mRNA 3' mittetransleeritava regiooni mõju post-transkriptsioonilise ekspressiooni regulatsioonile kortikaalsetes neuronites

Kokkuvõte

Transkriptsioonifaktor TCF4 kuulub aluseliste heeliks-ling-heeliksiste perekonda ja on mitmete oluliste bioloogiliste protsesside regulaator. *TCF4* geenilt ekspresseeritakse mitmeid alternatiivse 5' terminusega transkripte, millelt kodeeritakse inimeses vähemalt 18 ja hiires 5 N-terminaalselt erinevat valgu isovormi. Alternatiivne splaiissing esineb ka eksonis 21, mis on *TCF4* 3' mittetransleeritav regioon (3' UTR). 3' UTR sisaldab piirkondi, mis reguleerivad mRNA stabiilsust, translatsiooni ja lokalisatsiooni. Mutatsioonid *TCF4* geenis on mitmete raskete haiguste põhjuseks, nagu Pitt-Hopkinsi sündroom (PTHS), skisofreenia, bipolaarne häire ja depressioon. PTHS on *TCF4* haplopuudulikkusest tingitud keeruline neuroloogiline arenguhäire, mis tähendab, et ühest funktsionaalset *TCF4* valku ekspresseerivast alleelist ei piisa organismi normaalseks talitluseks. PTHS potentsiaalseks raviks võiks olla funktsionaalse *TCF4* valgu taseme tõstmine läbi 3' UTR-i modifitseerimise. Varasemalt on uuritud *TCF4* geeni ja valgu struktuuri, ekspressiooni ja funktsiooni, kuid uuringuid *TCF4* ekspressiooni mõjutavate tegurite, sealhulgas *TCF4* 3' UTR-i kohta napib. Sellest tulenevalt oli käesoleva töö eesmärgiks kloneerida *TCF4* mRNA 3' UTR lutsiferaasi reporterkonstruktidesse ja uurida selle mõju post-transkriptsioonilise ekspressiooni regulatsioonile lutsiferaasi reporterkaitses.

Kloneerimisel õnnestus amplifitseerida hiire embrüonaalsetest tüvirakkudest 1,4 kb pikkune *Tcf4* splaissitud 3' UTR ja 6 kb pikkune *Tcf4* täispikk 3' UTR. Saadud *Tcf4* 3' UTR kloneeriti lutsiferaasi reportervektorisse polüadenüleerimisjärjestusest üla- või allavoolu ja teostati lutsiferaasireporterkaitses roti kortikaalsetes neuronites baastasemel ja 8-tunnise KCl töötuse järel. Lutsiferaasi reporterkaitses tulemusena leiti, et *Tcf4* 3' UTR omab mõju post-transkriptsioonilise ekspressiooni regulatsioonile roti DIV7 kortikaalsetes neuronites, kuid mõju oleneb sellest, kas 3' UTR on täispikk või splaissitud. *Tcf4* täispikk 3' UTR langetas lutsiferaasi ekspressioonitaset sõltumata töötusest ning *Tcf4* splaissitud 3' UTR tõstis lutsiferaasi taset baastasemel ja neuraalse aktiivsuse korral.

Käesolevas bakalaureusetöös näidati, et *Tcf4* mRNA 3' UTR omab mõju post-transkriptsioonilise ekspressiooni regulatsioonile kortikaalsetes neuronites. *Tcf4* 3' UTR-i kõrge konserveerumuse tõttu hiire, inimese ja roti vahel terves 3' UTR-i ulatuses saavad selles töö tulemused laieneda ka inimesele. 3' UTR sisaldab mitmeid negatiivseid regulaatorpiirkondi, mille modifitseerimise või deleteerimisega võib potentsiaalselt tõsta *TCF4* taset, mis kompenseeriks funktsionaalse *TCF4* valgu vähesust Pitt-Hopkinsi sündroomi korral. Sellest tulenevalt tuleks töö edasiarendusena proovida tõsta endogeense *Tcf4* valgu taset läbi polüadenüleerimissignaali sisestamise hiire embrüonaalsete tüvirakkude genoomi 3' UTR-st ülavoolu, kasutades CRISPR-Cas9 tehnoloogiat.