

Aluselise heeliks-ling-heeliks transkriptsioonifaktori TCF4 märklaudgeenid roti ajukoore neuronites

Andra Moistus

Transkriptsioonifaktor TCF4 on alusliste heeliks-ling-heeliks (bHLH) transkriptsioonifaktorite perekonda kuuluv valk, mis homodimeerina või heterodimeriseerudes teiste bHLH valkudega kontrollib sihtmärkgeenide ekspresioonitaset. On näidatud, et TCF4 on laialdaselt, kuid mitte ühtlaselt ekspresseeritud ning selle tasemed on eriti kõrged loote närvisüsteemis aga ka täiskasvanud aju eri piirkondades, mis viitab TCF4 vajalikkusele närvisüsteemi arengus ning täiskasvanud aju normaalses talitluses. TCF4 mutatsioone on seostatud mitmete erinevate haiguste, näiteks skisofreenia, autismi, Fuchs'i sarvkesta düstroofia ning Pitt-Hopkinsi sündroomi tekkega. Vaatamata sellele on TCF4 märklaudgeenide kohta suhteliselt vähe teada. TCF4 sihtmärkgeenide tuvastamine aitaks seletada TCF4 rolli erinevate haiguste tekkel ning kirjeldada TCF4 molekulaarseid funktsioone aju arenguprotsessides ja normaalses talitluses.

Varasemalt on meie laboris alustatud tööd uurimaks TCF4 sihtmärkgeene. Selleks sekveeriti RNA roti primaarsetest kortikaalsetest neuronitest, kus *TCF4* oli vaigistatud, eesmärgiga määrata TCF4 potentsiaalsete sihtmärkgeenide ekspresioonitasemete muutust RNA tasemel. Käesoleva töö eesmärgiks oli bioinformaatiliselt analüüsida ja valideerida qPCR meetodil TCF4 vaigistamise RNA-sekveerimise tulemusi ning lisaks ka uurida TCF4 üleekspressiooni mõju potentsiaalsetele TCF4 sihtmärkgeenidele. Töö eksperimentaalses osas tehti varasemalt teostatud TCF4 vaigistamise RNA sekveerimise tulemustele bioinformaatiline geeniontoloogia analüüs. Seejärel valideeriti TCF4 vaigistatud RNA sekveerimise tulemusi qPCR analüüsiga. Lisaks uuriti TCF4 üleekspressiooni mõju bioinformaatilises analüüsis valituks osutunud geenidele roti primaarsetes kortikaalsetes neuronites nii basaal- kui ka KCl-iga depolariseeritud tingimustel.

RNA sekveerimise tulemustele teostatud bioinformaatilise analüüsi põhjal mõjutab TCF4 mitmeid rakusiseseid funktsioone. Tulemuste verifitseerimiseks valiti sünapsite pikaajalise vaigistamisega, transmembraanse transpordiga, sünaptilise signaliseerimisega ning tsütoskeleti reguleerimisega seotud geenid. Antud töö tulemuste põhjal võib väita, et funktsioonigruppide põhiselt mõjutab TCF4 vaigistamine transmembraanse transpordiga ning sünaptilise signaliseerimisega seotud geenide grupe. Üksikutest geenidest õnnestus kõige kindlamalt tõendada sünapsite pikaajalise vaigistamisega seotud geenide rühma kuuluva *Igf1*, transmembraanse transpordiga ja sünaptilise signaliseerimisega seotud geenide rühma kuuluva *Mef2c* ning sünaptilise signaliseerimisega seotud geenide rühma kuuluva *Gfap* ekspresioonitasemete sõltuvust TCF4-st. TCF4 üleekspressiooni korral oli katsete varieeruvus suur, mille tõttu ei saa üleekspressiooni tulemuste baasil TCF4 sihtmärkgeenidest olulisi järeldusi teha.