

Transkriptsioonifaktori CREB ja tema koaktivaatori CRTC1 roll neurotrofiin BDNF geeni aktiivsusest sõltuvas transkriptsioonis ajukoore ja hipokampuse neuronites

Käthy Rannaste

Aju-päritolu neurotroofne tegur (BDNF) on neurotrofiin, millel on oluline roll selgroogsete organismide närvisüsteemi arengus ning talitluses. BDNF valgu funktsioonide alla kuuluvad näiteks neuronite eluspüsümise ja diferentseerumise toetamine, sünaptilise plastilisuse tagamine ning mälu seotud protsesside mõjutamine. BDNF tasemete või regulatsiooni häireid on täheldatud mitmete neurodegeneratiivsete või psühhiaatriliste haiguste puhul ning seega teades rohkem BDNF geeni regulatsioonist eri neuronites ning eri stiimulite korral, oleks tulevikus potentsiaalselt võimalik arendada paremini spetsiifilisi teraapiad.

BDNF geeni regulatsioon on ajalis-ruumiliselt mitmekesiselt reguleeritud, võimaldades täita nii erinevaid ülesandeid närvisüsteemis. BDNF geeni kompleksses ekspressioonis osalevad mitmed transkriptsioonifaktorid, muuhulgas ka cAMP vastuselementi siduv valk (CREB). CREB on neuraalsest aktiivsusest sõltuv transkriptsioonifaktor, mis on võimeline vahendama Ca^{2+} -sõltuvate geenide ekspressiooni. CREB-reguleeritud transkriptsiooni koaktivaator 1 (CRTC1) mõjutab CREB-sõltuvat geeniekspressiooni näiteks neuraalse aktiivsuse korral, lokaliseerudes tuuma ning seondudes CREB valgu bZIP domeeniga.

Eelnevalt on uuritud CREB perekonnaliikmete ning CREB koaktivaator CBP rolli BDNF geeni neuraalsest aktiivsusest sõltuvas regulatsioonis, vähem on pööratud tähelepanu CREB-i ja ta teise koaktivaator CRTC1 spetsiifilisele mõjule BDNF geeni regulatsioonis. Samuti on varasemates töödes keskendunud BDNF geeni regulatsioonile kortikaalsetes neuronites, kuigi BDNF ekspressioon erineb ajupiirkonniti.

Käesolevas töös uuriti CREB-i ja CRTC1 rolli BDNF geeni regulatsioonile primaarsetes roti kortikaalsetes ning hipokampaalsetes neuronites neuraalse aktiivsuse järel. Neuronites vaigistati CREB1 või CRTC1 geenide ekspressioon CRISPR interferentsi meetodil ning mõõdeti BDNF transkriptide tasemeid RT-qPCR-iga. Samuti loodi töö raames CRTC1 gRNA-sid kodeerivad lentiviirused, mida on võimalik ka tulevikus edasistes katsetes kasutada.

Töö tulemusena leiti, et nii CREB1 kui ka CRTC1 ekspressiooni vaigistamine CRISPR interferentsi meetodil mõjutas BDNF transkriptide baastasemeid nii kortikaalsetes kui ka hipokampaalsetes neuronites. Samuti leiti, et BDNF ekson I depolarisatsioonist indutseeritud tasemed erinesid neuronikultuurides nii CREB1 kui CRTC1 vaigistamise järel. BDNF ekson VI indutseeritud mRNA tasemed tõusid CREB1 vaigistamise järel mõlemas neuronikultuuris. Kokkuvõttes andis käesolev töö uusi teadmisi koespetsiifilise BDNF geeni regulatsiooni kohta.