

CREB perekonna transkriptsioonifaktorite roll BDNF geeni transkriptsioonilises autoregulatsioonis ajukoore neuronites

Eli-Eelika Esvald

Aju-päritoluga neurotroofne tegur (BDNF) avastati 80-ndate alguses ja sellest ajast alates on näidatud BDNF valgu oluline roll kesknärvisüsteemis, kus ta osaleb nii neuronite elulemuses, diferentseerumises, omavahelises signaliseerimises kui ka neuraalsete võrgustike moodustumises. Närilistes koosneb BDNF geen kaheksast 5' mittekodeerivast eksonist ja ühest 3' kodeerivast eksonist. Erinevad BDNF transkriptid moodustuvad ühe 5' eksoni ja 3' kodeeriva eksoni kokku splaissimisel. Iga 5' eksoni transkriptsiooni reguleerib iseseisev promootor, millest tulenevalt on võimalik üksikute transkriptide koespetsiifilise ja ajalise ekspresioonimustri moodustumine.

BDNF on sekreteeritav valk, mis signaliseerib nii parakriinselt kui autokriinselt, seondudes kaht tüüpi retseptoritele: p75^{NTR}, mis enamasti vahendab proapoptoetilisi signaale, ja TrkB, mis enamasti on elulemust soodustav. BDNF-TrkB signaliseerimises on kirjeldatud transkriptsioonilise autoregulatsiooni fenomen, kus BDNF-TrkB signaliseerimine indutseerib erinevate BDNF transkriptide ekspressiooni mitogeen-aktiveeritud proteiinkinaaside (MAPK) raja kaudu. Praeguseks on aga vähe uuritud, millised transkriptsioonifaktorid vahendavad BDNFi transkriptsioonilist autoregulatsiooni.

Aluselist leutsiini tõmbelukku sisaldavad transkriptsioonifaktorid CREB, ATF-1 ja CREM moodustavad CREB transkriptsioonifaktorite perekonna. CREB perekonna liikmed on olulised embrüogeneesis, käitumises ja mälu- ning õppeprotsessides. Kuna CREB, ATF-1 ja CREM seovad kõik samale CRE järjestusele (5'-TGACGTCA-3'), võivad nad vajadusel üksteist asendada. CREBi aktiivsust reguleeritakse posttranslatoorselt fosforüleerimise teel, näiteks fosforüleerivad CREBi proteiin kinaas A, MAPKd, kaseiini kinaas ning Ca²⁺/kalmoduliin-sõltuvad proteiinkinaasid. Fosforüleeritud CREB interakteerub koaktivaatoriga CBP, mis tugevdab CREBi võimet aktiveerida transkriptsiooni.

On teada, et neuraalse aktiivsuse poolt indutseeritud eksonit I ja eksonit IV sisaldavate BDNF transkriptide ekspressiooni vahendab CREB. Meie laboris on varem näidatud, et dominant-negatiivse CREB transkriptsioonifaktori üleekspressioon neuronites vähendab kõigi BDNF

transkriptide induktsiooni pärast BDNF-TrkB signalseerimist. Lisaks on ka teada, et BDNF-TrkB signalseerimine viib CREBi aktiveerimiseni. Eelmainitust tulenevalt uurisime käesolevas töös CREB transkriptsioonifaktori rolli BDNFi transkriptsioonilises autoregulatsioonis roti primaarsete neuronite kultuuris.

Käesolevas töös näitasime, et BDNFi transkriptsiooniline autoregulatsioon on suuresti valgusünteesist sõltuv ja cAMP signalseerimine indutseerib erinevate BDNF transkriptide induktsiooni sarnaselt BDNFi transkriptsioonilisele autoregulatsioonile. Samuti leidsime, et BDNF-TrkB signalseerimine viib ka meie mudelis CREBi fosforüleerimiseni. Järgnevalt näitasime, et CREB seondub BDNF promootorile IV CRE saidi kaudu. Meie tulemused viitavad, et CREB mõjutab teiste BDNF transkriptide induktsiooni pärast BDNF-TrkB signalseerimist kaudselt. Üllatuslikult avastasime, et CBP interaktsioon on vajalik kõikide BDNF transkriptide induktsiooniks. Viimasena näitasime, et CREBi ekspressiooni vaigistamine vähendab ekson IV ja ekson IXa sisaldavate BDNF transkriptide varajast induktsiooni pärast BDNF-TrkB signalseerimist. Edaspidi uurime ka teiste CREB perekonna transkriptsioonifaktorite võimalikke rolle BDNFi transkriptsioonilises autoregulatsioonis ja üritame määratleda BDNF geenist väljas asuvaid reguloorseid alasid, mis mõjutavad BDNF geeni transkriptsioonilist autoregulatsiooni.