



Matemaatika-loodusteaduskond

Geenitehnoloogia instituut

Molekulaarbioloogia õppetool

**RNA POLÜMERAAS II TRANSKRIPTSIOONILINE
INTERFERENTS INIMESE *NCAM1* GEENIS**

Magistritöö

Siiri Raudsepp

Juhendajad: Mart Speek, PhD, Molekulaarbioloogia õppetool,
vanemteadur

YAGM02/09 Geenitehnoloogia

Tallinn 2014

LÜHIKOKKUVÕTE

LINE-1 retrotransposooni ja teisi transposoone peeti pikka aega kasutuks DNA-ks ning intratsellulaarseteks parasiitideks. Kuid nüüdseks on teada, et transposoonid on mõjutanud genome kogu evolutsiooni jooksul. Mobiilsed elemendid moodustavad inimese genomist rohkem kui 40% ja ainuüksi L1 moodustab sellest juba ligikaudu 17%.

Tänu „kopeeri ja kleebi“ mehhanismile, mida L1 kasutab genoomis ringi liikumiseks, kasvab nende hulk iga uue insertiooniga. Kuna L1 retrotransposoon on olnud aktiivne juba miljonite aastate vältel, siis on see mõjutanud nii genoomi struktuuri kui ka selle funktsioone. Retrotransposoonide *de novo* insertioonid võivad anda inimeste vahelisi genoomseid variatsioone, muuta geenide ekspressiooni ja põhjustada erinevaid haigusi. Üks mehhanism, mille kaudu L1 võib mõjutada geeniekspressiooni, on transkriptsiooniline interferents. Just need faktid muudavad L1 elemendi uurimise oluliseks.

Transkriptsioonilist interferentsi (TI) kui molekulaarset protsessi, kus lähistikku paiknevad polümeraasid mõjutavad teineteise transkriptsiooni negatiivselt, on uuritud vaid mõnikümmend aastat. Kuid viimaste aastatega on transposoonide TI-alaste publikatsioonide arv jõudsalt kasvanud, mis näitab suhteliselt uudse teadussuuna aktuaalsust ja olulisust.

Käesoleva töö eesmärgiks oli analüüsida L1 retrotransposooni mõju inimese *NCAMI* geeni ekspressioonile nii bioinformaatiliselt kui eksperimentaalselt. Töö aluseks on hüpotees, mille kohaselt häirib introonne L1 element RNA polümeraas II (RNAPII) tööd ehk mõjutab geenide avaldumist TI kaudu.

Bioinformaatilise analüüsi käigus valiti välja üks geen, *NCAMI*, mille korral asub L1 intronis ning esineb kaks põhilist TI efekti: introni kaasamine ning

polüadenüleerimine. Eksperimentaalselt määrati KMnO_4 töötusega transkriptsiooniliselt aktiivsete RNAPII-dega seotud transkriptsioonimulli asukohad, mis on seotud RNAPII terminatsiooniga, *NCAMI* geeni 9. intronis L1-st 5' suunas. Seejärel analüüsiti RNAPII paiknemist ChIP meetodiga nii PCR-i kui ka qPCR-ga ning saadud tulemusi võrreldi omavahel. Mõlema meetodiga saadud tulemused korreleerusid omavahel hästi. Tulemused näitasid, et *NCAMI* geenis esineb RNAPII transkriptsiooni elongatsiooni terminatsioon teatavates kindlates piirkondades, mis on kooskõlas nii eksperimentaalselt määratud transkriptsioonimullide ja RNAPII paiknevusega.

Saadud bioinformaatiliste ning eksperimentaalsete tulemuste põhjal usume, et introonne L1 mõjutab RNAPII liikumist ning selle kaudu reguleerib geeniekspressiooni läbi „istuva pardi“, teetõkke mehhanismi või võib L1 käituda kui teetõkke aeglustades RNAPII elongatsiooni.