

Kokkuvõte

Neurotrofiinide perekonna ühe liikme, aju päritolu neurotroofse teguri (BDNF) ülesandeks kesknärvisüsteemis on moduleerida sünaptilist plastilisust ja dendriitide ning aksonite kasvu. BDNF-i kui tähtsat regulaatorit nii arenevas kui ka täiskasvanud organismis seostatakse mitmete neurodegeneratiivsete ja psühhiaatriliste haigustega (Autry & Monteggia, 2012; Binder & Scharfman, 2004). Asjaolu, et BDNF omab organismis elutähtsat rolli ja BDNF-i tasemete regulatsiooni häired on seotud raskete haigustega, teeb BDNF geeni uurimise oluliseks. BDNF-i geeni transkriptsiooni reguleerivaid promotoralasid on süvitsi uuritud, kuid vähem teatakse BDNF-i kaugematest regulatoorsetest aladest. Varasemalt on kirjeldatud üksikuid BDNF-i enhanseralasid (Brookes et al., 2021; Flavell et al., 2008; M. R. Lyons et al., 2012; Tuvikene et al., 2021; Annela Avarlaid et al., unpublished data), näiteks -4,8 kb BDNF geenist ülavoolu asuvat enhanserala (Flavell et al., 2008; M. R. Lyons et al., 2012). Varasemad uurimused on näidanud, et MEF2 transkriptsiooniteguritest sõltuv -4,8 kb enhanserala reguleerib neuronaalsest aktiivsusest sõltuvalt BDNF promootor I aktivatsiooni hipokampuse neuronites (Falkenberg, 2020; Flavell et al., 2008) aga mitte ajukoore neuronites (Falkenberg, 2020; M. R. Lyons et al., 2012). Käesoleva töö eesmärgiks oli uurida põhjalikumalt -4,8 kb asetsevat enhanserala, analüüsides varasemalt teostatud ATAC-seq-i andmeid (Carullo et al., 2020), mõõtes enhanser RNA-de transkriptsiooni -4,8 kb regioonist ning uurides MEF2 transkriptsioonitegurite rolli -4,8 kb enhanseri ja BDNF promootor I regulatsioonis.

Käesoleva töö tulemused näitasid, et ATAC-seq-i andmete põhjal on -4,8 kb enhanseralas kromatiin avatud nii KCl-ga töödeldud kui ka töötlemata hipokampaalsetes neuronites, aga mitte ajukoore ega striaatumi neuronites. Enhanser RNA-de mõõtmise tulemused näitasid, et aktiivne transkriptsioon nimetatud enhanseralalt toimub vaid KCl-töödeldud hipokampaalsetes neuronites aga mitte ajukoore neuronites. Meie tulemused näitasid ka seda, et heteroloogses kontekstis reguleerib -4,8 kb enhanserala BDNF promootor I aktiivsust nii KCl-ga töödeldud kui ka töötlemata hipokampaalsetes ja kortikaalsetes neuronites. Käesolevas töös mõõtsime ka MEF2 perekonna transkriptsioonitegurite mRNA-de ekspressioonitasemed roti primaarsetes hipokampaalsetes ja kortikaalsetes neuronitest ning leidsime, et ajukoore neuronites on peamistelt ekspresseeritud MEF2A ja MEF2C, kuid hipokampuse neuronites MEF2A ja MEF2D. -4,8 kb enhanserala uurimiseks valmistasime RNAi süsteemil põhinevad MEF2A, MEF2C ja MEF2D vaigistamise töövahendid, tootsime viirused ja testisime nende efektiivsust vaigistamisel. Viimaseks leidsime, et MEF2A, MEF2C ja MEF2D mahasurumine mõjutab BDNF-i promootor I aktiivsust -4,8 kb enhanseralast eraldiseisvalt nii roti hipokampaalsetes kui ka kortikaalsetes neuronites. Oma tulemustest saame järeldada, et -4,8 kb enhanserala käitub kui aktiivsusest sõltuv enhanser hipokampaalsetes neuronites. Edasine töö on vajalik selleks, et iseloomustada -4,8 kb enhanserala ja MEF2 transkriptsioonitegurite *in vivo* rolli BDNF geeni regulatsioonis.