

TALLINNA TEHNIKAÜLIKOOL
MATEMAATIKA-LOODUSTEADUSKOND
GEENITEHNOLOOGIA INSTITUUT
MOLEKULAARBIOLOOGIA ÕPPETOOL

NTRK1 geeni promootori aktiivsuse analüüs hüpoksilistes tingimustes
neuraalsetes rakkudes

Bakalaureusetöö

Mihkel Näks

Juhendaja: Marko Piirsoo, PhD
Molekulaarbioloogia õppetool, dotsent

Geenitehnoloogia
Tallinn 2014

Lühikokkuvõte

Neurotrofiinid on väike perekond valke, kuid nende roll organismi arengus on märkimisväärne. Neurotrofiinide vahendusel aktiveeritakse neuronite kasvu ning arengut reguleerivad signaalirajad ning samas kontrollivad neurotrofiinid neuronite populatsioonide suurusi, vajadusel indutseerides apoptoosi. Oma mõju avaldavad neurotrofiinid peamiselt spetsiifiliste Trk retseptorite vahendusel. Häired neurotrofiinide ning nende retseptorite töös põhjustavad sageli erineva raskusastmega ajukasvajate teket. Selle tõttu esineb neurotrofiinide ning Trk retseptorite omavaheliste suhete uurimise ning nende mehhanismide vastu suur huvi.

Käesolev töö on suunatud spetsiifiliselt NGFi retseptori TrkA uurimisele, sest uuringud on näidanud NGFi ning TrkA rolli erinevates ajukasvajates ja NGFi omadusi vastsündinud aju kaitsmisel hapnikuvaegusest tingitud kahjustuste korral. Töö peamine eesmärk oli uurida, kuidas erinevad TrkA promootori konstruktid käituvad hüpoksilistes tingimustes ning kas seal toimub nende indutseerimist. Selleks võrreldi omavahel neuraalset rakuliini PC12, mitteneuraalset rakuliini HEK293 ning primaarseid neuroneid. Saadud andmete põhjal hinnati ka TrkA promootori neuraalspetsiifilisust. Lisaks uuriti TrkA promootorit bioinformaatiliselt, et saada selgust seal paiknevatest regulatoorsetest elementidest ning transkriptsioonifaktorite sidumissaitidest.

Bioinformaatilise töötamise tulemusena lisati TrkA promootori järjestusele vajaminevad regulatoorsed piirkonnad nagu cis-element ja Brn3a seondumissaidid. Lisaks identifitseeriti promootori järjestuselt mitmeid erinevaid HRE motiive, millele võib seonduda HIF kompleks. Viimase vahendusel toimubki hüpoksias geeniregulatsioon. Katselised tulemused andsid vastandlikke andmeid. PC12 rakuliinis pandi tähele loodud reporterkonstruktide aktiivsuse langust, kuid endogeensel tasemel TrkA mRNA taseme tõusu. Neuraalsetes rakkudes tehtud katsete tulemused jäid lahtiseks, sest erinevad katsete tingimused ning erinev teostamise kord avaldasid suurt mõju katsete tulemustele.

Siiski jätavad saadud tulemused vabaks ruumi arutlusele. Kuna meie vaatasime kindlat osa promootorist, mis ei andnud soovitud tulemust, siis kasutades teisi pikemaid fragmente ei ole välistatud, et õigetest tingimustel õiget konstrukti kasutades nähakse ära hüpoksias indutseerimise tõus. Paljuski olenevad hüpoksias teostatud katsete tulemused erinevatest tingimustest ning seega on valdkonna edasine uurimine äärmiselt paljulubav ning huvitav.