

ცალკეული უჯრედების ბირთვების ტრანსკრიპტომის კვლევა წიწილებში
ვიზუალური იმპრინტინგის მეხსიერების პროცესში- გლუტამატერგულ
ნეირონებში იდენტიფიცირებული გრძელი არამაკოდირებელი რნმ
“ENSGAL000100007489”-ის რაოდენობრივი ცვლილებების შესწავლა

ბოკუჩავა თეიმურაზი

*სამაგისტრო ნაშრომი წარდგენილია ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტის
საბუნებისმეტყველო მეცნიერებებისა და მედიცინის ფაკულტეტზე აკადემიური
ხარისხის მინიჭების მოთხოვნის შესაბამისად*

სიცოცხლის შემსწავლელი მეცნიერებები: მოლეკულური ბიომეცნიერებები

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: რევაზ სოლომონია/პროფესორი, ბიოლოგიის
მეცნიერებათა დოქტორი

ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი

თბილისი, 2024 წელი

განაცხადი

როგორც წარდგენილი ნაშრომის ავტორი, ვაცხადებ, რომ ნაშრომი წარმოადგენს ჩემს ორიგინალურ ნამუშევარს და არ შეიცავს სხვა ავტორების მიერ აქამდე გამოქვეყნებულ, გამოსაქვეყნებლად მიღებულ ან დასაცავად წარდგენილ მასალებს, რომელიც ნაშრომში არ არის მოხსენიებული ან ციტირებული სათანადო წესების შესაბამისად.

„კვლევა განხორციელდა შოთა რუსთაველის საქართველოს ეროვნული სამეცნიერო ფონდის მხარდაჭერით (გრანტის ნომერი MR 23-494)“/ “This work was supporter by Shota Rustaveli National Science Foundation of Georgia (SRNSFG) (Grant Number- MR 23-494)”

ბოკუჩავა თეიმურაზი 15.06.2024

აბსტრაქტი

მხედველობითი შთაბეჭდვით დასწავლისას, ახლად გამოჩევილი წიწილები იმახსოვრებენ პირველად წარდგენილ ხილულსა და მოძრავ ობიექტს და შემდგომში ავლენენ ქცევით უპირატესობას ამ ობიექტის მიმართ. უპირატესობის მინიჭება ასევე განპირობებული უნდა იყოს გარკვეული პრედისპოზიციებით – წინასწარი განწყობით კონკრეტული ვიზუალური ნიშნების მიმართ, რაც ნაკლებად მიეკუთვნება დასწავლით მიღებულ გამოცდილებას. ექსპერიმენტულად დადასტურებულია, რომ წიწილების წინა ტვინში არსებული რეგიონი – ინტერმედიალური და მედიალური მეზოპალიუმი(იმმ), წარმოადგენს შთაბეჭდვითი სტიმულიდან ფორმირებული რეკოგნიციული მეხსიერების საცავსა და დასწავლის საიტს. იმმ-ში ბიოქიმიური ცვლილებების შესწავლა კრიტიკული მნიშვნელობისაა დასწავლისა და მეხსიერების მოლეკულური პრინციპების გასაგებად. ჩვენ მიერ ჩატარებული იქნა ცალკეული ბირთვების რნმ სექვენირება(Single nuclei RNA-seq), რითაც შესწავლილი იქნა გენის ექსპრესიის ცვლილებები კარგად დამსწავლელი და არატრენირებული წიწილების მარცხენა იმმ-ებს შორის, უჯრედული ტიპების მიხედვით. მნიშვნელოვანი ცვლილებებიდან ერთ-ერთია გრძელი არამაკოდირებელი რნმ(lncRNA) „ENSGAL000100007489“-ის ექსპრესია, რომელიც საგრძნობლად მომატებულია კარგად დამსწავლელ წიწილებში - სპეციფიკურად მარცხენა იმმ-ის გლუტამატერგული ნეირონების სუბტიპში. lncRNA-ები წარმოადგენს არამაკოდირებელი რნმ-ების ახალ კლასს, რომლებიც გამოირჩევიან ფუნქციური მრავალფეროვნებით, გენომური ინტერაქციითა და გენის ექსპრესიის რეგულირებით, როგორც ტრანსკრიფციულ, ასევე პოსტ ტრანსკრიფციულ დონეზე. ტრენირებიდან 24 საათის შემდეგ განხორციელდა კარგად და ცუდად დამსწავლელი, ასევე არატრენირებული წიწილების დეკაპიტაცია და თავის ტვინიდან ამოკვეთილი იქნა, როგორც მარჯვენა და მარცხენა იმმ, ასევე საკონტროლო რეგიონი- პოსტერიორ ნიდოპალიუმი(პნ). ამავე რეგიონებიდან ექსტრადირდა ტოტალური რნმ, რომელიც დაექვემდებარა შემდგომ უკუტრანსკრიფციას. კომპლემენტურ დნმ-ზე განხორციელდა პოლიმერაზა-ჯაჭვური რეაქცია(პ.ჯ.რ) რნმ ENSGAL000100007489-ის სპეციფიკური პრაიმერებით. ჩატარებული 10 პ.ჯ.რ-ის საერთო შედეგი სრულ შესაბამისობაშია snRNA-SEQ-ის შედეგებთან. მიღებული მონაცემების სტატისტიკური დამუშავებით გამოიკვეთა

სარწმუნო დადებითი კორელაცია დასწავლის სიძლიერესა და რნმ ENSGAL000100007489-ის ფარდობით სტანდარტიზებულ რაოდენობას შორის მარცხენა იმმ-ში ($r=0,64$, $p=0,03$). სარწმუნო კორელაცია არ იქნა ნანახი, როგორც მარჯვენა იმმ-სა ($r=0,35$ $p=0,29$), ასევე საკონტროლო რეგიონებში, მარცხენა პნ-სა ($r=-0,3$ $p=0,36$) და მარჯვენა პნ-ში ($r=-0,51$ $p=0,1$). სპეციალურად შემუშავებული კრიტერიუმების გათვალისწინებით, ნათელი ხდება, რომ ნანახი რაოდენობრივი ცვლილებები განპირობებული უნდა იყოს ტრენირების შედეგად საკუთრივ დასწავლით მიღებული გამოცდილებით და არ უნდა მიეკუთვნებოდეს წინასწარი განწყობით (პრედისპოზიციით) მიღებულ შედეგს.

ძირითადი საძიებო სიტყვები: იმპრინტინგი, გრძელი არამაკოდირებელი რნმ, ცალკეული ბირთვების რნმ-სექვენირება.

Abstract

With the learning process of visual imprinting, newly hatched chicks memorize first conspicuous moving object they encounter and subsequently show behavioral preference for that object. These preferences are also influenced by certain predispositions to specific visual cues, which are not attributable for learning related experience. The region in chick's forebrain - Intermediate and Medial Mesopallium (IMM) is experimentally proven to be storage for recognition memory of imprinting stimulus as well as learning site. Studying IMM is of a great importance for understanding molecular principles underlying learning and memory. We conducted single nuclei RNA-SEQ analysis, thus the changes in gene expression between good learner and untrained chick's left IMMs have been studied in different cell types. Among significant changes there is expression of Long non coding RNA(lncRNA)- "ENSGAL000100007489", which is highly up regulated in good learner chick, specifically in subtype of glutamatergic neurons of left IMM. Long non coding RNAs are emerging class of non coding RNAs, distinguished by functional variability, genomic interaction and gene expression regulation on transcriptional and post transcriptional levels. 24 hours after training, good and poor learner, as well as untrained chicks were sacrificed and 4 regions were extracted from the brain- left and right IMM and control region- Posterior Nidopallium(PN). Total RNA was extracted from these regions and subsequently was subjected to reverse transcription. Polymerase chain reaction (PCR) was conducted on cDNA using specific primers for ENSGAL00100007489. On the whole, 10 PCR was performed and overall result is in full compliance with single nuclei RNA-seq data. There is strong positive correlation between strength of learning and relative standardized amount of ENSGAL00100007489 in left IMM($r=0.64$ $p=0.03$). Correlation was not observed in right IMM($r=0.35$ $p=0.29$) and in both control regions- left PN($r=-0.3$ $p=0.36$) and right PN($r=-0.51$ $p=0.1$). Using specially designed criteria, it becomes clear that observed changes in amounts of ENSGAL00100007489 are specifically the result of learning related experience after training and is not attributable to predisposition.

Key words: visual imprinting, Long non coding RNA, single nuclei RNA-SEQ.