

# Kortikal Plastisitenin Aday Biyobelirteçleri: Fare korteksinde miRNA-hedef etkileşimleri



O. Batuhan Erkat

Bilkent Üniversitesi, Nörobilim Lisansüstü Programı  
Ayşel Sabıncu Beyin Araştırmaları Merkezi

## GİRİŞ VE METOTLAR

miRNA'lar, hücrelerin fonksiyonel çıktısını etkileyen küçük kodlamayan RNA'lardır. Birçok çalışmada monoküler deprivasyon paradigmasıyla yapılan çalışmalarda, talamokortikal yolağın ve görsel korteksin kısa ve uzun vadede bazı değişikliklere uğradığı gösterilir. Kısa vadede ışık girdisi kesilen gözün alıcı bölgelerinde bu göze bağlı devrelerin elimine edildiği, uzun vadede ise girdi alan gözün devrelerinin güçlendiği ve ipsilateral bölgede yeni bağlantılar oluştuğu bilinmektedir. Bu yeniden yapılanma sürecinde inaktif bölgeler aktif devrelere tahsis edilmektedir (Şekil 1).

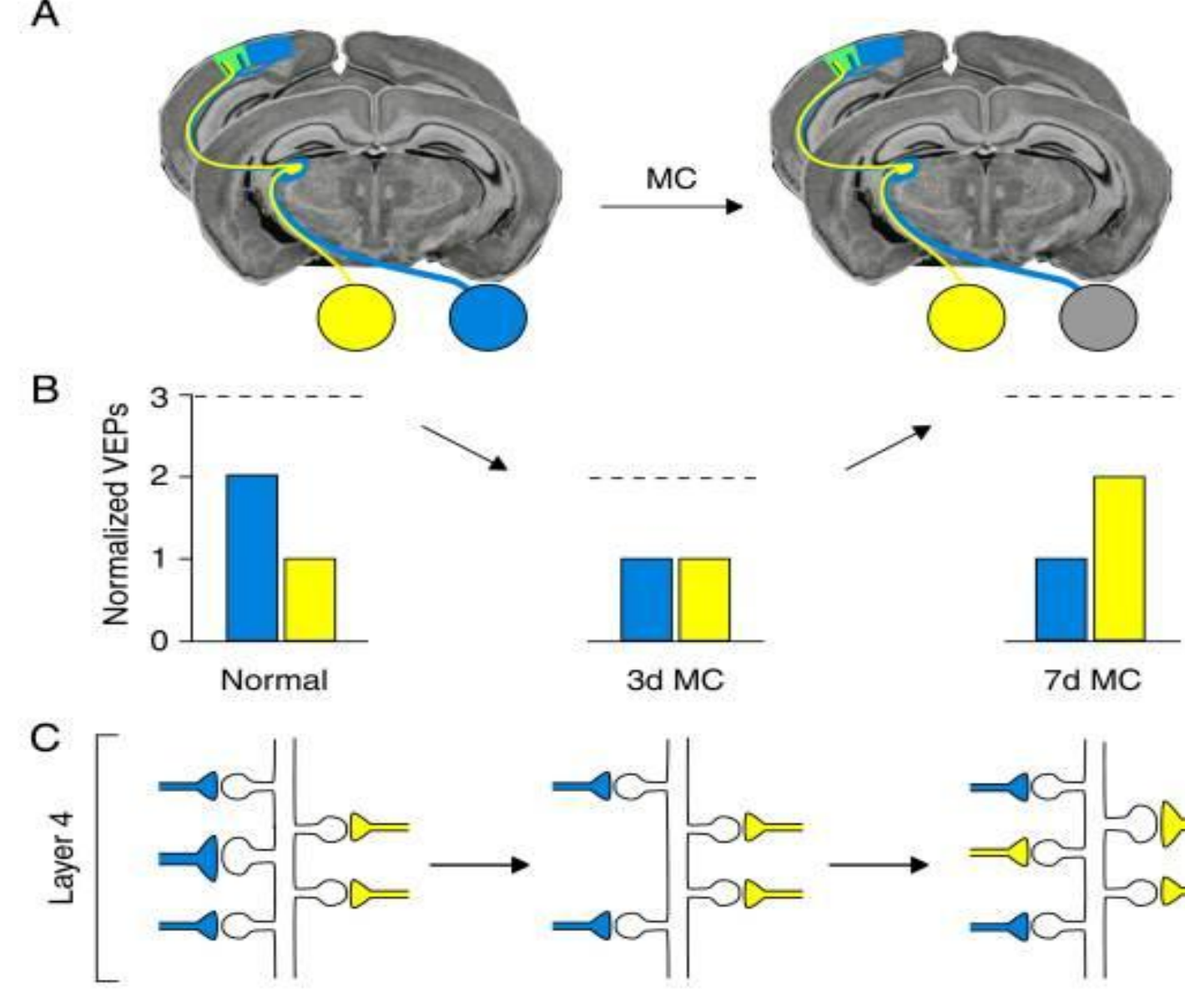
### Veri Setleri

GEO GSE4537 (Tropea vd, 2006):

- Affymetrix platformu, normalize edilmiş seri matrisleri
- P27'de alınmış 3 normal yetişen (NR), 3 tamamen karanlık ortamda yetişmiş (DR), 6 tek gözü kapalı (MD) koşulunda yetişen fare örneği

GEO GSE31536 (Mellios vd, 2011)

- Agilent platformu, normalize edilmiş seri matrisleri
- P28'de alınmış 3 NR, 3 DR, 3 MD koşulunda yetişen fare örneği

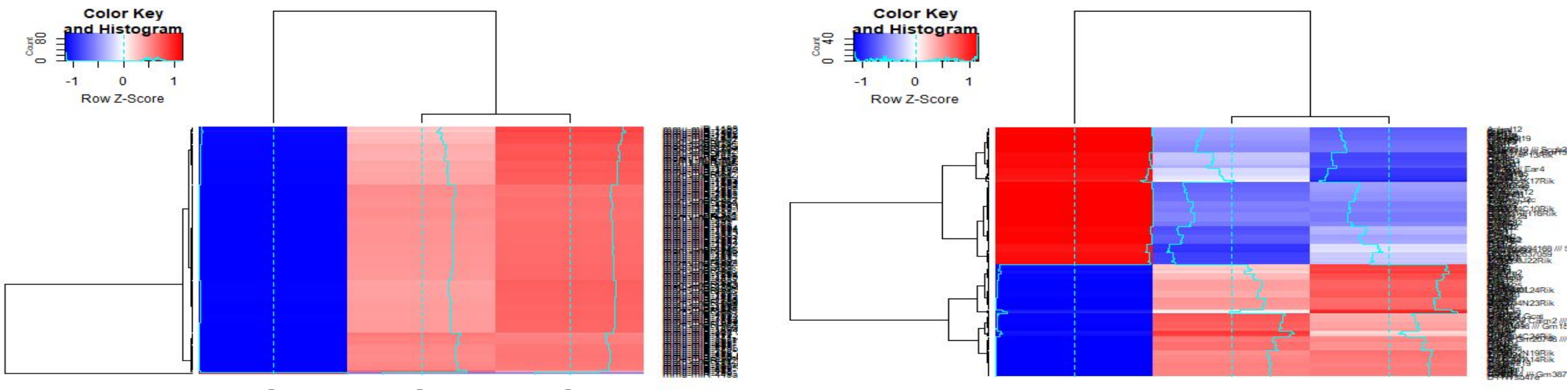


Şekil 1. Monoküler yoksunluk sırasında talamokortikal yollarda beklenen değişiklikler (Coleman vd., 2010)

### Analizler

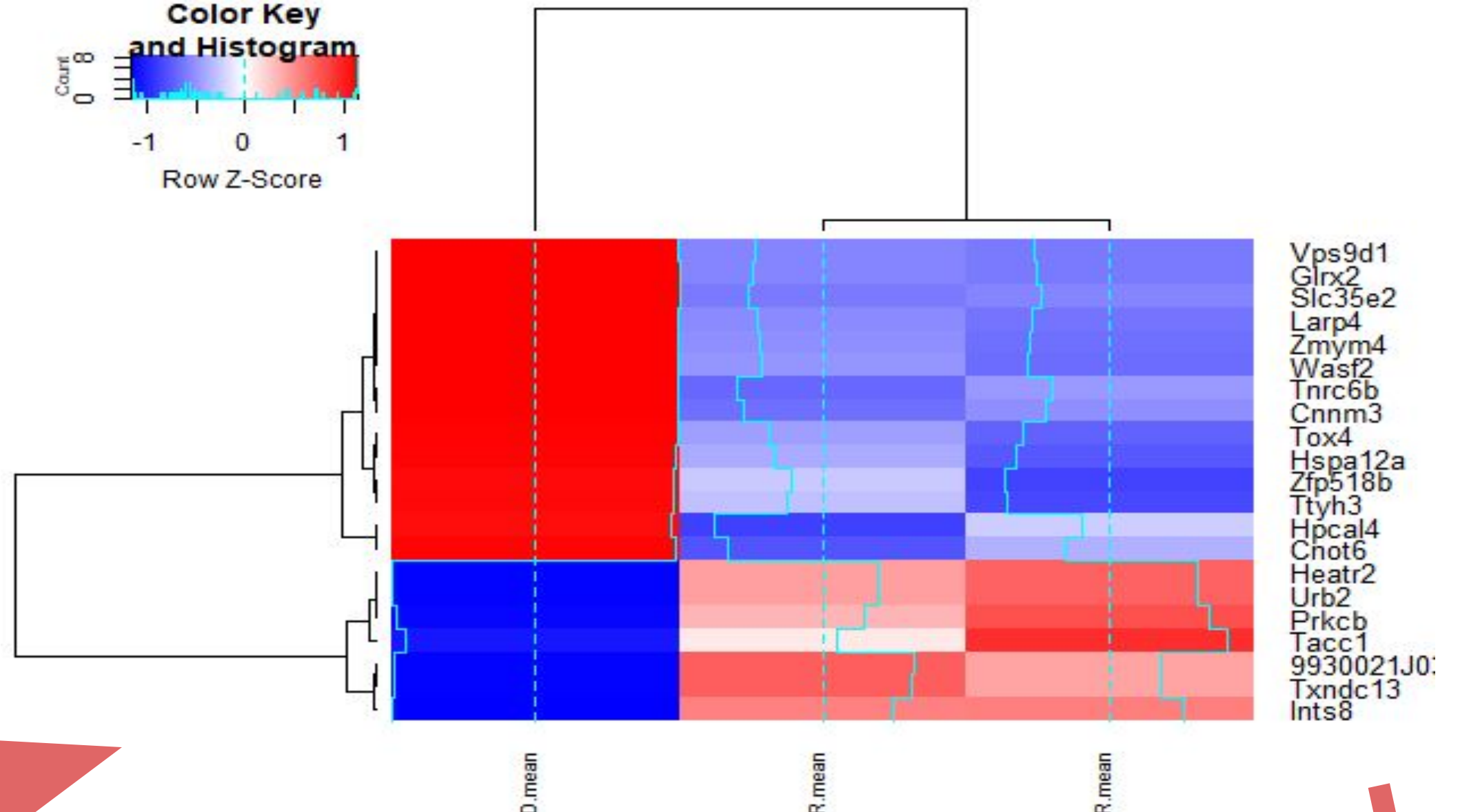
- Normalize edilmiş gen ve miRNA değerlerine R'da Bioconductor'un Limma paketiyle lineer ve eBayes modelleri oturtuldu. Kontrast matrisi: MD-DR, MD-NR ve DR-NR.
- P-değeri filtrelemesiyle grupların ortalama ifade değerleriyle ısı haritaları oluşturuldu (Şekil 2 ve 3).
- 145 miRNA liste halinde mirNet'e girildi. miRNA-hedef etkileşimleri ağı ile mümkün olan tüm etkileşimler incelendi, limma ile bulunan genlerden ağda tekrar edenler seçildi.
- Ağ genlerinin ısı haritası oluşturuldu ve üzerlerinde KEGG, GO BP ve Reactome ile fonksiyonel notlandırmalar yapıldı.

## BULGULAR VE SONUÇLAR

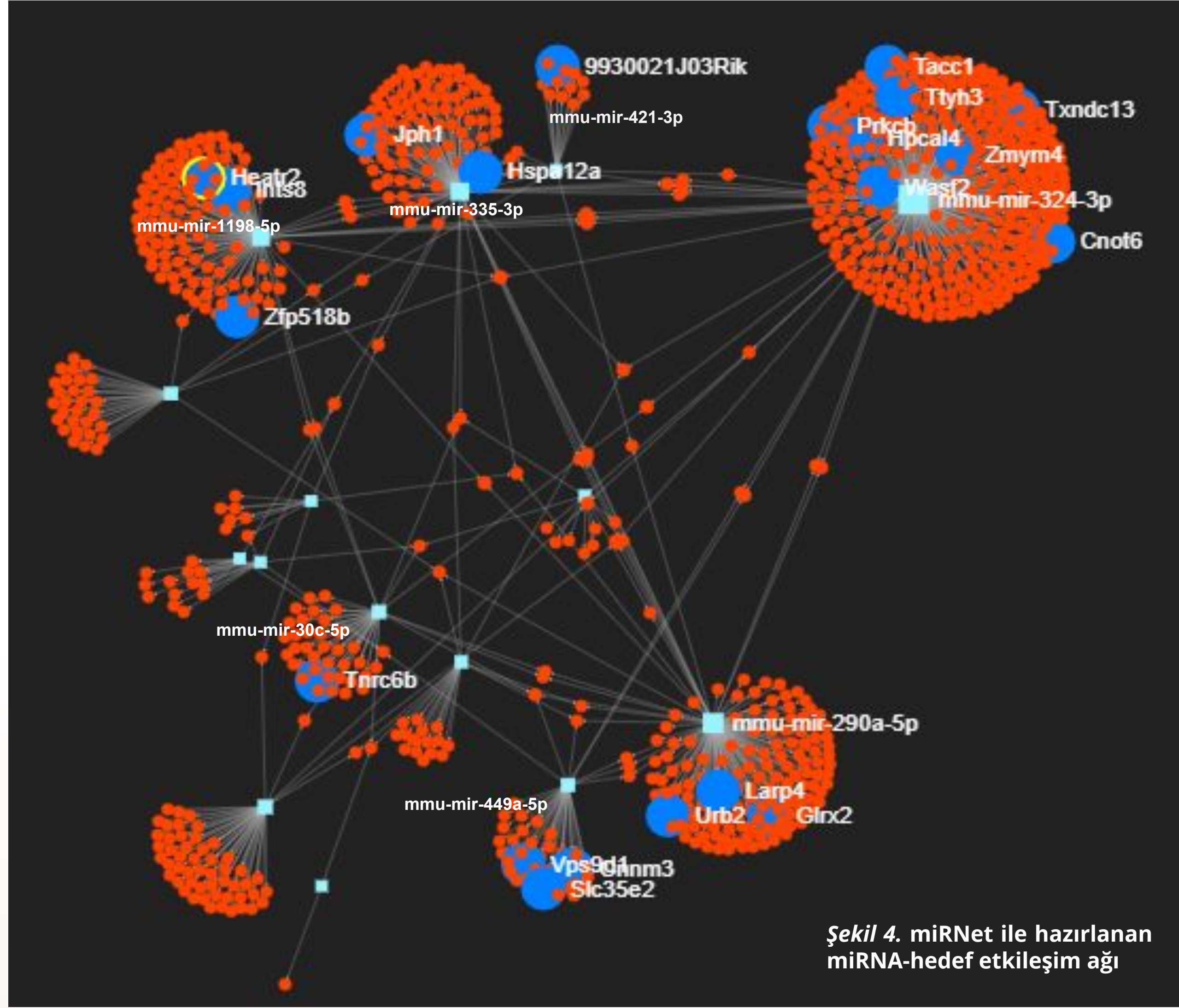


Şekil 3. 145 miRNA'nın monoküler yoksunluk grubunda farklılaşan ortalama ifadeleri (düzeltilmiş  $p < 0.05$ ).

Şekil 2. 213 genin monoküler yoksunluk grubunda farklılaşan ortalama ifadeleri ( $p < 0.05$ ).



Şekil 5. miRNet ağında tekrar eden monoküler deprivasyon grubunda farklılaşan genlerin ifade ortalamaları



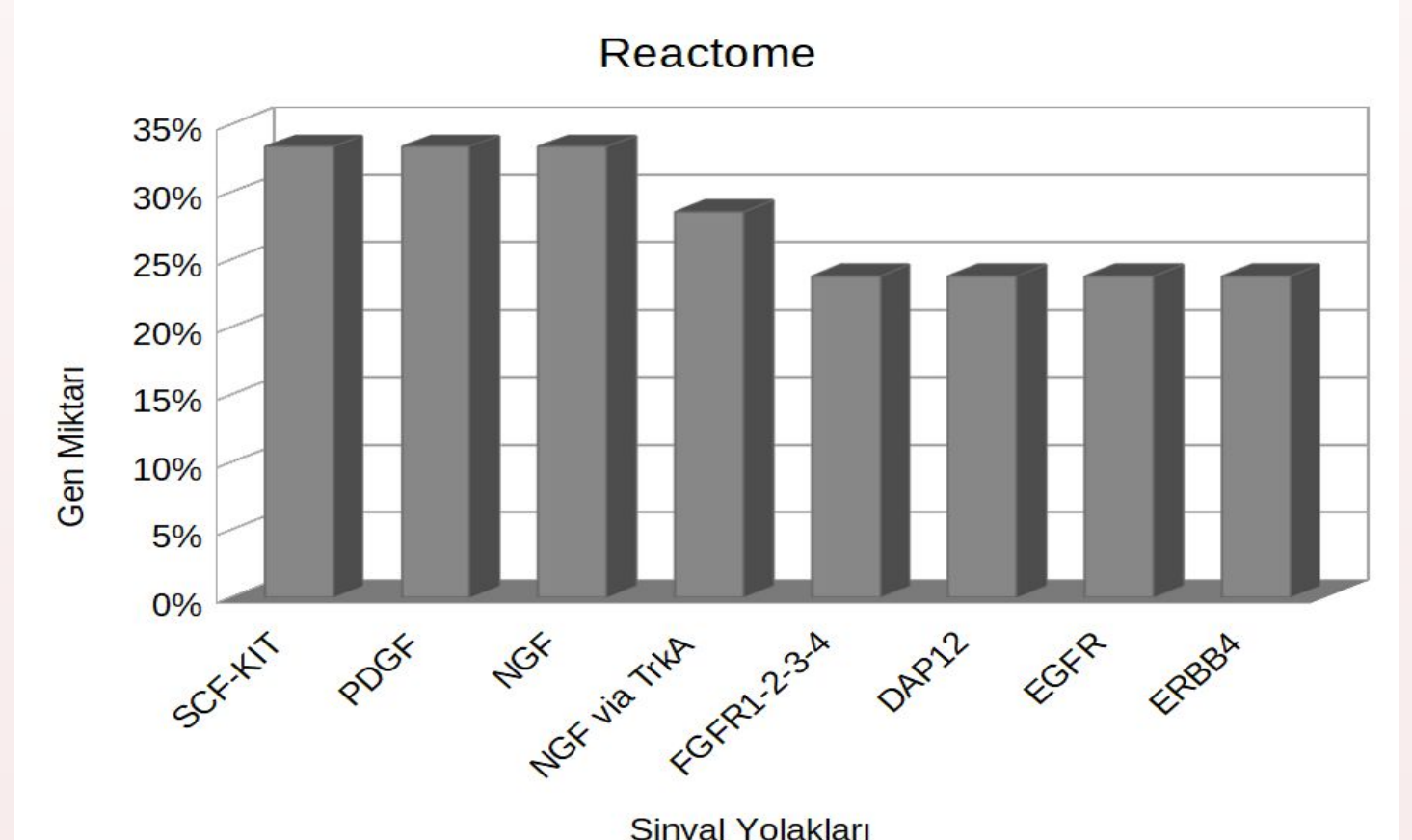
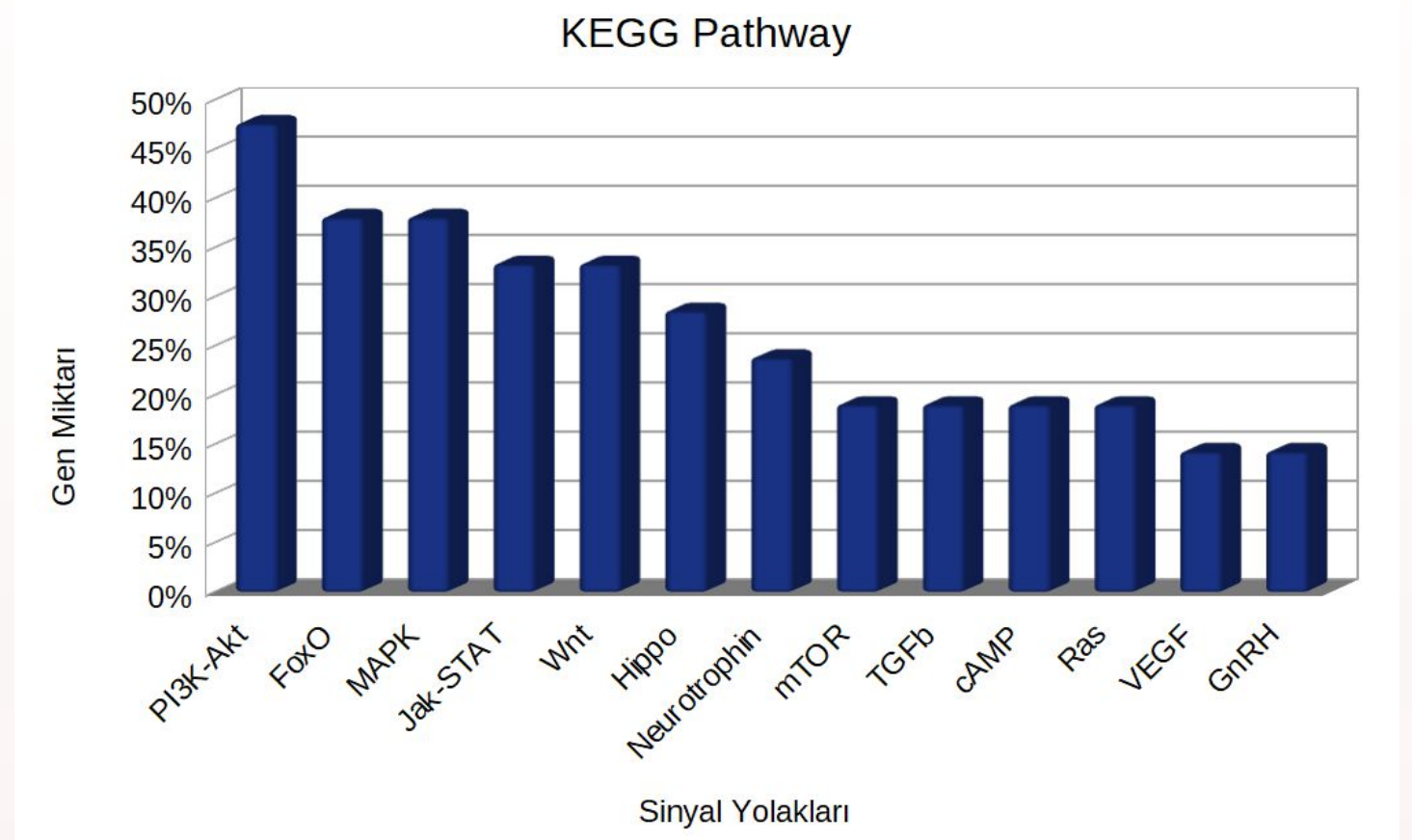
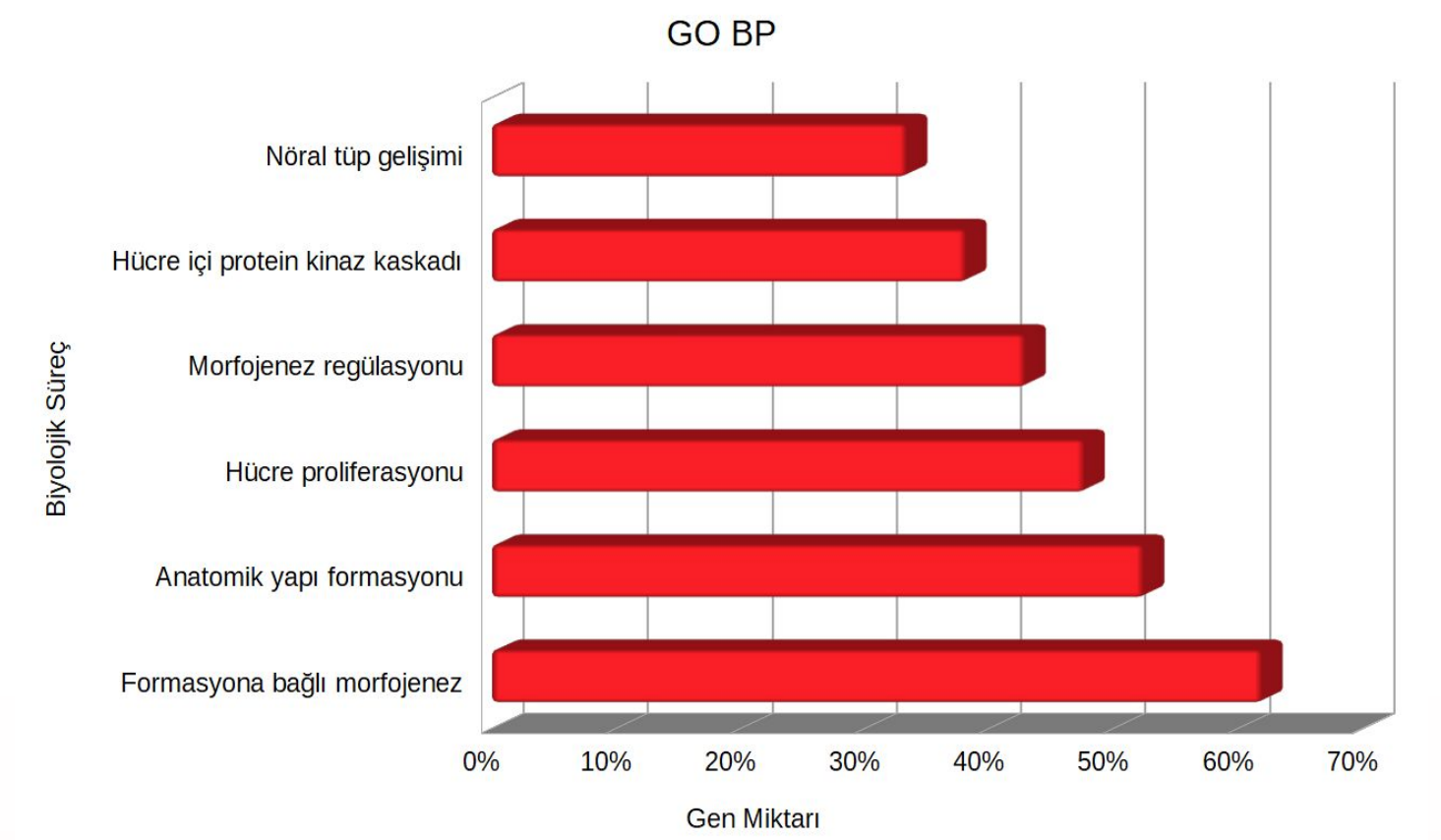
Şekil 4. miRNet ile hazırlanan miRNA-hedef etkileşim ağı

### Sonuçlar

- miRNet ağ haritası 20 miRNA ve 1068 hedefin etkileştiğini göstermektedir (Şekil 4). Hedef genlerin 21'i MD grubunda farklılık göstermiştir (Şekil 5).
- Bu 21 gene KEGG Pathway, Reactome ve GO BP ile işlevsel notlandırma yapılmıştır (Tablo 1, 2 ve 3). Bulunan sinyal yolları ve biyolojik süreçler monoküler yoksunluk paradigması altında beklenen plastisite süreçleri ile bağlantılıdır.
- Pinaud ve Arckens'in (2006) plastisitede gen ifadesi ile ilgili bölümlerinde cAMP, MAPK/ERK ve TrkA yolları ve bazı çözünür faktörler plastisiteyle ilişkilendirilmiştir. Bu yollar ve akson kılavuzluğunda rol alan Wnt ile ilişkili genler bulunmuştur.

### Bulunan miRNA'lar

- mir-324-3p**  
İskemi sonrasında iyileşme sırasında azaldığı ve arc üretimini inhibe ettiği gözlemlenmiştir (Felling vd, 2015).
- mir-421-3p**  
Nöral farklılaşma düzenleyicisi olduğu bulunmuş ve BMP sinyal yolağı ile rekabet ettiği gösterilmiştir (Hadjimichael vd, 2016).
- mir-335-3p**  
Proliferasyonu etkileyen bir faktör olarak kabul edilmiştir (Meyer vd, 2015).
- mir-290a-5p**  
Embriyonik kök hücre pluripotensi ve hücre döngüsü regülasyonu ile farklılaşma süreçleriyle ilişkili olduğu gösterildi (Lichner vd, 2011).
- mir-449a-5p**  
Siliogenez ile ilişkili olduğu gösterildi. Ablasyon uygulandığında hücre döngüsü çıkışını engellediği gösterilmiştir (Otto vd, 2017).
- mir-30c-5p**  
Subventriküler bölgeler yoluyla erişkin nörojenez ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Sun vd, 2016).
- mir-1198-5p**  
Üzerinde deneysel bir araştırma yok ama ifadesinin erken gelişim sırasında arttığı görülmüştür (Zheng vd, 2011).



Tablo 1, 2 ve 3. Monoküler yoksunluk sırasında belirlenen 21 genin işlevsel notlandırmaları

### Referanslar

- Coleman JE, Nahmani M, Gavornik JP, Haslinger R, Heynen AJ, Erisir A, Bear MF (2010) Rapid structural remodeling of thalamocortical synapses parallels experience-dependent functional plasticity in mouse primary visual cortex. *Journal of Neuroscience*, 30, 9670-9682.
- Daw N-W (2014). *Visual Development*. NY: Springer.
- Felling R, Song H (2015). Epigenetic mechanisms of neuroplasticity and the implications for stroke recovery. *Experimental Neurology*, 268, 37-45.
- Hadjimichael C, Nikolaou C, Papamatheakis J, Kretsovani A (2016). MicroRNAs for fine-tuning of mouse embryonic stem cell fate decision through regulation of TGF- $\beta$  signaling. *Stem Cell Reports*, 6(2), 232-241.
- Lichner Z, Pali E, Kerekes A, Pallinger E, Maraghechi P, Bosze Z, Gocza E (2011). The miR-290-295 cluster promotes pluripotency maintenance by regulating cell cycle phase distribution in mouse embryonic stem cells. *Differentiation*, 81(1), 11-24.
- Mellios N, Sogitara H, Castro J, Banerjee A, Le C, Kumar A, Crawford D, Strahlmann J, Tropea D, Levine S, Edbauer D, & Sur M (2011). mir-132, an experience-dependent microRNA, is essential for visual cortex plasticity. *Nature Neuroscience*, 14(10), 1240-1242.
- Meyer S U, Sasa S, Mueller N, S. Krebs S, Bauersachs S, Kaiser S, Blum H, Thirion C, Krause S, Theis F, J., Pfaffl M, W. (2015). Integrative analysis of microRNA and mRNA data reveals an orchestrated function of microRNAs in skeletal myocyte differentiation in response to TNF- $\alpha$  or IGF1. *PLoS One*, 10(8).
- Otto T, Candido S V, Pilartz M S, Sicińska E, Bronson R T, Bowden M, Lachowicz I A, Mulry K, Fassi A, Han R, C. Jerois, E. S. Scinski, P. (2017). Cell cycle-targeting microRNAs promote differentiation by enforcing cell-cycle exit. *PNAS*, 114(40), 10660-10665.
- Pinaud R, Tremere L A, & Weerdt P D (2006). *Plasticity in the Visual System: From Genes to Circuits*. USA: Springer.
- Sun T, Li T, Davies H, Li W, Yang J, Li S, Ling S (2016). Altered morphologies and functions of the olfactory bulb and hippocampus induced by mir-30c. *Frontiers in Neuroscience*, 10(207).
- Tropea D, Krejman G, Lyckman A, Mukherjee S, Yu H, Horng S & Sur M. (2006). Gene expression changes and molecular pathways mediating activity-dependent plasticity in visual cortex. *Nature Neuroscience*, 9(5), 660-668.
- Zheng G, X. Y., Ravi, A., Gould, G. M., Burge, C. B., Sharp, P. A. (2011). Genome-wide impact of a recently expanded microRNA cluster in mouse. *PNAS*, 108(38), 15804-15809.

### Teşekkür

Bu çalışma MBG 513 - Bioinformatics dersinin final projesi için yapılmıştır. Dersti veren Doç. Özlen Konu ve asistanı Ayşe Gökçe Keşküşe bu projeye katkıları ve süpervizyonları için çok teşekkür ederim.

