

Motiveeritud esildis ja kandidaadi sobivuse põhjendus

Eesti Teaduste Akadeemia akadeemiku kandidaat biomeditsiini alal loodusteaduskonna keemia ja biotehnoloogia instituudi *professor* Tõnis Timmusk

Tõnis Timmusk on lõpetanud Tartu Ülikooli bioloogia-geograafiateaduskonna geneetik-tsütoloogi erialal 1982. a., omandanud filosoofiadoktori (PhD) kraadi Karolinska Instituudis Rootsis molekulaarse neurobioloogia erialal 1994 ja seejärel olnud ka järel doktorantuuris Karolinska Instituudis. 1996-1999 oli ta Rootsi Meditsiiniuuringute Fondi abiprofessor Uppsala Ülikoolis Rootsis ja 1999-2003 vanemteadur Helsingi Ülikooli Biotehnoloogia Instituudis. Oluline on märkida, et juba 1996-2003 Uppsala ja Helsingi Ülikoolides töötades oli ta iseseisev teadlane, grupijuht, ja et oma projektide finantseerimiseks olid tal mitmeid teadusgrante meditsiiniuuringuid toetavatest organisatsioonidest/fondidest (Lars Hierta Fond, Ake Wibergi Fond ja Tore Nilssoni Meditsiiniuuringute Fond Rootsis, Rootsi Meditsiiniuuringute Fond, Soome Akadeemia meditsiiniuuringute nõukogu (Research Council for Health), Sigrid Juseliuse Fond). Helsingi Ülikoolis sai ta 2000. a. neurobioloogia dotsendiks. 2003. a. omistati talle mainekas Wellcome Trust'i grant Eestisse repatrieerumiseks ja oma uurimistöö jätkamiseks Eestis. 2002 aastast alates on Tõnis Timmusk molekulaarbioloogia professor Tallinna Tehnikaülikoolis, 2002-2016 Geenitehnoloogia Instituudis ja 2017 kuni tänaseni Keemia ja biotehnoloogia instituudis. 2013-2015 aastateks valiti Tõnis Timmusk Eesti Teaduste Akadeemia poolt rahastatavaks uurija-professoriks, 2013 oli ta külalisedlaseks Waseda Ülikoolis Jaapanis ja 2019. a. külalisprofessoriks Weizmanni Instituudis Iisraelis. Tallinna Tehnikaülikoolis on ta regulaarselt läbi viinud auditoorse õppetöö kursuseid neurobioloogia, molekulaarbioloogia ja rakubioloogia alal. Tema juhendamisel on kaitstud 14 doktoritööd ja 42 magistratööd. Tallinna Tehnikaülikoolis on prof. Tõnis Timmusk üles ehitanud tugeva ja eduka neurobioloogia uurimisgrupi ja organiseerinud ka palju rahvusvahelisi seminare ja konverentse. Ta on olnud edukas teadusgrantide taotlemisel nii Eestist (ETF, sihtfinantseerimine, IUT, PRG., EAS, tervishoiutehnoloogiate ja biotehnoloogia riiklikud programmid, tippkeskuste programm) kui ka välismaalt (Wellcome Trust, Pitt Hopkins Research Foundation, University of Pennsylvania Orphan Disease Center, Horizon 2020). Ta on retsenseerinud paljude Euroopa riikide teadust rahastavate organisatsioonide granditaotlusi ja enam kui 20 erinevasse rahvusvahelisse teadusajakirja avaldamiseks saadetud käsikirju. 2015-2021. a. oli ta Euroopa Teadusfondi (European Research Council) ekspertpaneeli liige stardigrantide paneelis "Neurosciences and Neural Disorders (LS5)". Kõige sellega on prof. Tõnis Timmusk kaasa aidanud Eesti kui arenenud ja teadussõbraliku riigi maine propageerimises maailmas. Prof. Tõnis Timmusk on aktiivselt osalenud teadusorganisatsioonilises tegevuses ka Eestis. Näiteks on ta korduvalt olnud Eesti Teadusagentuuri hindamisnõukogu liige (2012-2018 ja 2022 kuni tänaseni). Prof. Tõnis Timmusk on saanud ka mitmeid teaduspreemiaid ja tunnustusi: 2007 a. Tartu Ülikooli Arstiteaduskonna medali, 2008 a. Eesti Vabariigi teaduspreemia arstiteaduse valdkonnas ja 2020 a. Eesti Vabariigi teaduspreemia keemia ja molekulaarbioloogia valdkonnas ning 2009 a. Eesti Vabariigi teenetemärgi, Valgetähe IV klassi teenetemärgi.

Kandidaadi sobivuse põhjendus

Prof. Tõnis Timmusk on rahvusvaheliselt kõrgelt tunnustatud teadlane, kes on närvisüsteemi, k.a. selle haiguste, molekulaarsete uuringutega tegelenud rohkem kui 30 aastat ja avaldanud rohkem kui 100 publikatsiooni rahvusvahelistes teadusajakirjades, k.a. tippajakirjades *Nature*, *Nature Genetics*, *Science*, *Neuron* jt. Prof. Tõnis Timmusk kuulub enim tsiteeritud Eestis elavate ja töötavate bioloogia ja meditsiini ala teadlaste hulka: Web of Science andmetel on tema kaasautorusega avaldatud 120 publikatsiooni, mida on tsiteeritud 26. septembri 2023 väljavõtte andmetel 10789 korda (h-index 46; ühe publikatsiooni keskmine tsiteeritavus ca 90 korda). Prof. Tõnis Timmuski senised teaduslikud saavutused on eelkõige seotud närvirakkude elu ja surma üle otsustavate valkude, neurotroofsete tegurite, uurimisega, k.a. neurodegeneratiivsetes haigustes Alzheimeri, Huntingtoni ja Parkinsoni tõbedes. Prof. Timmusk on tegelenud ka kognitiivsete häirete, skisofreenia ja vasakkäelisuse geneetiliste alustega ja närvisüsteemi regeneratsiooni molekulaarsete mehhanismidega. Lisaks akadeemilistele saavutustele on prof. Timmusk olnud aktiivne ka oma teadussaavutuste rakendamises. Ta on seitsme patenditaotluse perekonna kaasautoriks ja nendest kahe perekonna osas on väljastatud ka mitmed patendid erinevates maades, k.a. USA-s. Prof. Timmusk on ka kahe biotehnoloogiaettevõtte teaduslikuks kaasasutajaks. Neurotroofsed tegurid on kasvutegurid, mis organismi arengus reguleerivad närvirakkude täiskasvamist ja nende arvu. Täiskasvanud organismis aga edendavad nad neuriitide hargnemist ja rakkude koostööd. Neid on kolme liiki – neurotrofiinid, neurokiinid ja gliiarakkude toodetavad ained, mis kuuluvad nn GDNF perekonda. Neurotroofsed tegurid edastavad signaali läbi rakumembraaniga seotud retseptorite. Muutused neurotroofsete tegurite tasemetes ajus on seotud paljude patoloogiatega nagu mälu ja õppimisvõime halvenemine, epilepsia, neuropsühhiaatrilised haigused (nt bipolaarne häire, ärevushaigused, skisofreenia, depressioon), neurodegeneratiivsed haigused (nt Huntingtoni, Parkinsoni ja Alzheimeri tõbi) ja sõltuvushäired (nt narkomaania, ja alkoholism). Neurodegeneratiivsete haiguste puhul surevad närvisüsteemis kindlad neuronid. Näiteks Parkinsoni tõve puhul surevad dopamiini tootvad neuronid aju musttuumas, Huntingtoni tõve puhul GABA-ergilised neuronid aju juttkehas ja Alzheimeri iseloomustab eesaju kolinergiliste neuronite järkjärguline suremine. Kõik need haigused on progresseeruva iseloomuga ja hõlmavad kindlate neuronipopulatsioonide selektiivset hävimist. Praegu neurodegeneratiivsete haiguste ravis kasutusel olevad ravimid on piiratud efektiivsusega: nende abil on küll võimalik haiguse kulgu aeglustada, kuid mitte peatada. Seetõttu on vajadus uute tõhusamate ravimite järele suur. Üheks paljulubavaks strateegiaks on taastada tundliku neuronipopulatsiooni neurotroofne tugi. Neurotroofsete tegurite geenide ja valkude uurimine on toonud selgust paljude haiguste, sh neurodegeneratiivsete, tekkepõhjusele. Lisaks tuntakse neurotroofsete tegurite ja nende retseptorite vastu suurt huvi seetõttu, et nad on potentsiaalsed ravimid või arendatavate ravimite märklaud. Näiteks on hiljutised uuringud näidanud, et antidepressandid ja psühhodeelikumid seonduvad BDNFi retseptorile TRKB ja võimendavad selle aktivatsiooni BDNFi poolt, mis lubab oletada, et kõrge afiinsusega TRKB allosteerilised modulaatorid võiksid olla uued potentsiaalsed antidepressandid.

Prof. Timmuski olulisemad teaduslikud saavutused on järgmised.

(1) Prof. Timmusk näitas 1993. a. tippajakirjas *Neuron* avaldatud publikatsioonis, et neurotroofse teguri BDNFi geeni transkriptsiooni keeruline regulatsioon on vahendatud alternatiivsete promootoritega. Kogu maailmas oli see teedrajavaks publikatsiooniks neuuraalse aktiivsusega reguleeritud transkriptsiooni mehhanismide uurimisel närvisüsteemis ja laiemalt mõtlemise, mälu jt. kognitiivsete funktsioonide molekulaarsete mehhanismide uurimisel (Timmusk et al 1993a; tsiteeritud 741 korda). Oluline on märkida, et selle projekti esimesed avastused tegi ta 1990-1991 a. töötades Eestis, Keemilise ja Bioloogilise Füüsika Instituudis. Projekti viis ta lõpuni aga Helsingi Ülikoolis ja Karolinska Instituudis, kuna Eestis polnud piisavalt materiaalseid ressursse. Antud avastus on võimaldanud prof. Timmuskil koostöös mitmete teiste gruppidega uurida BDNF geeni regulatsiooni peenmehhanisme, k.a. regulatsiooni muutusi, ja ka neurotroofseid tegureid kui potentsiaalseid ravimeid **epilepsia, närvisüsteemi trauma, insuldi, valu ja Alzheimeri tõve** raku- ja loomamudelites. Selles valdkonnas on tal veel terve rida palju

tsiteeritud publikatsioone Rootsis Karolinska instituudis ja Uppsala Ülikoolis töötamise ajast (näiteks Funakoshi et al., 1993 ja 1998; Metsis et al., 1993; Kokaia et al., 1994; Timmusk et al., 1995; Shieh et al., 1998). Alates 2002. aastast on prof. Timmusk töötanud Tallinna Tehnikaülikoolis, kus ta on jätkanud seda uurimissuunda ja avaldanud olulisi publikatsioone (näiteks Aid et al., 2009; Pruunsild et al., 2007, 2011; Koppel et al., 2013, 2015, 2018; Tammiku-Taul et al., 2016; Tuvikene et al., 2016, 2020; Esvald et al., 2020, 2022, Avarlaid et al., 2023, Kumar et al., 2023) ja patenditaotlusi (Timmusk et al., 2009, 2016; Pruunsild et al., 2010) sellel alal. Mitmed neist publikatsioonidest on palju tsiteeritud, näiteks Aid et al. 2007, 757 korda ja Pruunsild et al., 2007, 537 korda. Äramärkimist väärrib ka äsja, 2023.a. septembris, tippajakirjas *Neuron* rahvusvahelise koostööna avaldatud publikatsioon BDNFi aktivatsiooni molekulaarsest mehhanismist vahelduvas paastumises, ja selle positiivsest rollist Alzheimeri tõves ja insuldias (Kumar et al., 2023).

(2) Prof. Timmusk on tegelenud **Huntingtoni tõve** molekulaarsete mehhanismide uurimisega, eriti BDNF geeni regulatsiooni uurimisega Huntingtoni tõves. Huntingtoni tõbi (HD) on pärilik autosomaalne dominantne neurodegeneratiivne haigus, mille põhjuseks on mutatsioon huntingtini (Htt) valku kodeerivas geenis. Mutantset alleeli kandvatel patsientidel hävivad järkjärgult ja selektiivselt juttkeha neuronid. Haiguse põhilisteks sümptomiteks on kognitiivsed, psühhiaatrilised ning koordinatsiooni häired. Need avalduvad tavaliselt keskeas ja progresseeruvad kuni surmani. Antud temaatikale pani aluse kaks prof Timmuski ja kolleegide uurimust, kus näidati et transkriptsioonifaktor NRSF reguleerib BDNF geeni (Palm et al., 1998, Timmusk et al., 1999). Hiljem, koostöös prof. Cattaneo laboriga Milano ülikoolist, näitas prof. Timmusk, et Huntingtoni tõves on neurotroofse teguri BDNFi tasemed vähenenud ja et see on põhjustatud NRSFi regulatsiooni häirest. Vastavad publikatsioonid on avaldatud maailma absoluutsetes tippajakirjades *Science* ja *Nature Genetics* 2001 ja 2003 aastal (Zuccato et al., 2001 ja 2003) ja neid on väga kõrgelt tsiteeritud (vastavalt ca 1015 ja 715 korda). 2015 näitas prof Timmuski uurimisgrupp koostöös mitmete teiste uurimisgruppidega, et kannabinoidi retseptor CB1 aktiveerib BDNF geeni transkriptsiooni ja et see on protektiivne Huntingtoni tõve loomamudelil (Blázquez et al., 2015). 2014. a. näitas prof. Timmuski uurimisgrupp, et transkriptsioonitguri FoxO3a (Kannike et al., 2014) ja 2021. a., et transkriptsioonitguri TCF4 regulatsioon on muutunud Huntingtoni tõves (Nurm et al., 2021).

(3) Prof. Timmusk on uurinud neurotroofsete tegurite osalust **Parkinsoni tõves** surevate neuronite elushoidmisel. Parkinsoni tõve korral surevad dopamiini tootvad närvirakud aju musttuumas. Dopamiin on virgatsaine, mis saadab signaale liikumist kontrollivatele aju osadele. Haiguse sümptomiteks on lihaste jäikus, värinad, liikumise aeglus. Nüüdsed ravimid vaid kergendavad haiguse sümptomeid, kuid ei ravi seda tõbe. Parkinsoni tõbi on eelkõige vanemate inimeste haigus, 90% haigeid on vanemad kui 60 aasta ja iga saja üle 70-aastaste inimese hulgas on üks haige.

Esiteks on prof. Timmusk teinud mitmeid avastusi GDNFi perekonna neurotroofsete tegurite ja nende retseptorite uurimisel, mis on vormistatud mitmete publikatsioonidena (Trupp et al., 1995, Lindahl et al., 2000 ja 2001). GDNFi ja tema perekonna valgud on võimelised Parkinsoni tõves surevaid neuroneid elus hoidma loomamudelites ja vähemalt GDNF ka inimeses. Oluliseks saavutuseks võib pidada GFRalpha4 avastamist, iseloomustamist ja meditsiiniliste rakendusvõimaluste patenteerimist (Saarma et al., 2000).

Teiseks, prof. Timmuski kõige olulisemaks saavutuseks Parkinsoni tõve uurimisel on uue neurotroofse teguri, CDNF, avastamine koostöös prof. Mart Saarmaga Helsingi Ülikoolist. Prof. Timmuski osalusel tehtud uurimus näitas, et CDNF on iseäranis mõjus dopaminergiliste neuronite ellujäämist toetav tegur. Oluline on ka see, et CDNF on senituntud neurotroofsetest teguritest erinev, kuna toimib põhiliselt vaid dopamiini tootvatele aju närvirakkudele ja võib potentsiaalselt seega olla kõrvaltoimeteta ravim või tulevikus arendatava ravimi märklaud. Uuringu tulemused avaldati maailma ühes juhtivamas teadusajakirjas *Nature* (Lindholm, 2007; tsiteeritud 367 korda) ja seda avastust refereeriti paljudes olulistest maailma uudisteportaalides, ajalehtedes ja ajakirjades. Prof. Tõnis Timmusk on kaasleiuajakas ka mitmetes patenditaotlustes ja ka USAs väljastatud patendis (Saarma et al., 2002 ja sellega seotud patenditaotlused ja patendid), mis on seotud CDNF

kui potentsiaalse ravimi arendusega seotud intellektuaalomandi kaitsega. CDNF-iga seotud arendustegevust viib läbi Soome ettevõtte Hermo Pharma Oy. Käesoleval ajal on CDNF edukalt läbinud kliiniliste katsetuste I/II faasi.

(4) Neurotroofne tegur BDNF reguleerib ajus mitmeid oluliseid geene. Üks neist on KCC2, mis kodeerib aju tähtsa inhibitoorse virgatsaine GABA retseptori tööd reguleerivat transmembraanset valku. Muutused GABA neurotransmitteri süsteemis võivad põhjustada mitmeid närvisüsteemi haiguseid, näiteks **epilepsiat, skisofreeniat ja ärevushäireid**. Koostöös prof. Matti Airaksineniga Helsingi Ülikoolist on prof. Tõnis Timmuski avastanud mitmeid uusi regulatsioonimehhanisme KCC2 geeni avaldumises. (Uvarov et al., 2005 ja 2007) ja koostöös prof. Dan Lindholmiga Helsingi Ülikoolist näitas ta, et transkriptsiooni koaktivaatori PGC-1 α signaaliülekanne suurendab hiirtel GABAergilist neurotransmissiooni ja ärevustaolist käitumist (Vanaveski et al., 2021),

(5) Prof. Timmusk on uurinud mitmete **skisofreeniaga** seotud geenide regulatsiooni.

Esiteks, koostöös paljude teiste maade teadusgruppidega tegi prof. Timmusk kindlaks, et geen LRRTM1, mis kodeerib transmembraanset retseptorit, määrab isaliini pidi ära inimese käelisuse, ja et see geen on seotud ka skisofreeniaga (Francks et al., 2007, tsiteeritud 245 korda). Inimese aju on nii anatoomiliselt kui funktsionaalselt asümmeetriline. Vasakukäeliste ja ka skisofreenikute ajus võib esineda asümmeetria vähenemist ja ka pöördumist. Antud projektis osales üle maailma 20 teaduslaborit. Selles töös leiti kindlad ühenukleotiidsed polümorfismid (SNPid) inimese teises kromosoomis, mis esinevad sagedamini vasakukäelistel ja skisofreenikutel. Samuti leiti, et LRRTM1 geen avaldub inimeses vaid isalt pärandunud geenikoopialt. Oluline on märkida, et LRRTM1 on esimene geen, mille polümorfism on seotud vasakäelisusega. Uuringutulemused avaldati rahvusvahelises tippteadusajakirjas *Molecular Psychiatry*, vastav avastus oli selle artikli avaldamise päeval BBC uudis No 1 ja seda refereeriti laialdaselt nii rahvusvahelises kui ka Eesti medias. Antud uuring oli jätkuks T.Timmuski varasemale uuringule Helsingi Ülikoolis töötades, kus ta koos Soome kolleegidega avastas ja iseloomustas LRRTM1 geeniperekonna (Laurén et al., 2003a). Hiljem avaldas prof. Timmuski uurimisgrupp veel ühe publikatsiooni LRRTM1 perekonna geenilookuste transkriptsiooni regulatsioonist ja selle potentsiaalsest tähtsusest skisofreenias (Kask et al., 2011).

Teiseks, Koostöös prof. Eero Vasaraga näitas ta, et IgLON perekonna transkriptsioonitegurite ekspressioon on muutunud skisofreeniat põdevate patsientide ajukoos (Karis et al., 2018).

Kolmandaks, prof. Timmuski uurimisrühm on teinud kindlaks ka skisofreeniaga seotud aluselise heeliks-ling-heeliks transkriptsioonifaktori TCF4 uudseid regulatsioonimehhanisme (Sepp et al., 2011, 2017; Sirp et al., 2022) ja näidanud, et TCF4 geeni mutatsioonid, mille tagajärjel tekib kognitiivsete funktsioonide häiretega haigus **Pitt-Hopkinsi sündroom**, põhjustavad selle geeni poolt kodeeritud TCF4 transkriptsioonifaktori funktsiooni erinevat nõrgenemist hüpomorfsetest dominantnegatiivsete efektideni imetaja rakkudes (Sepp et al., 2012; Sirp et al., 2021). Prof. Timmuski uurimisrühm on iseloomustanud ka TCF4 geeni regulatsiooni häireid **Fuchsi sarvkesta düstroofias**, mis on on üks enimlevinuid silmahaigusi, (Sirp et al., 2020) ja uurinud ka TCF4 homoloogi *daughterless* geeni regulatsiooni äädikakärbse Pitt-Hopkinsi sündroomi haigusmudelites (Tamberg et al., 2015, 2021).

(6) Täiskasvanud inimese kesknärvisüsteemi (peaaju ja seljaaju) neuronid, erinevalt piirdenärvisüsteemi neuronitest, ei ole võimelised taastuma pärast närvijätkete ja seega närvijuhteteede katkemise põhjustanud traumat. **Peaaju ja seljaaju traumad** on tänapäeval seetõttu ravimatud. Et arendada kesknärvisüsteemi regeneratsiooni soodustavaid ravimeid, uuritakse käesoleval ajal intensiivselt kesknärvisüsteemi neuronite aksonite kasvu (regeneratsiooni) pärssivaid või soodustavaid geene ja valke. Prof. Timmusk on avastanud kesknärvisüsteemi neuronite regeneratsiooni pidurdavate Nogo retseptorite perekonna geenid ja uurinud nende avaldumist ja regulatsiooni (Lauren et al., 2003b). Antud avastus võib tulevikus olla aluseks närvisüsteemi traumade uute ravimite arendamiseks.

Esildises viidatud prof. Tõnis Timmusk publikatsioonid.

Aid T., Kazantseva A., Piirsoo M., Palm K., **Timmusk T.** Mouse and rat BDNF gene structure and expression revisited. *J Neurosci Res*, 2007, 85, 525-535.

Avarlaid A., Esvald E.E., Koppel I., Parkman A., Zhuravskaya A., Makeyev E. V., Tuvikene J., **Timmusk T.** An 840 kb distant upstream enhancer is a crucial regulator of catecholamine-dependent expression of the *Bdnf* gene in astrocytes. *Glia*, 2023, Aug. 25. doi: 10.1002/glia.24463. Online ahead of print.

Blázquez C., Chiarlone A., Bellocchio L., Resel E., Pruunsild P., García-Rincón D., Sendtner M., **Timmusk T.**, Lutz B., Galve-Roperh I., Guzmán M. The CB₁ cannabinoid receptor signals striatal neuroprotection via a PI3K/Akt/mTORC1/BDNF pathway. *Cell Death Differ.*, 2015, 22,1618-1629.

Esvald E.E., Tuvikene J., Sirp A., Patil S., Bramham C. R., **Timmusk T.** CREB family transcription factors are major mediators of BDNF transcriptional autoregulation in cortical neurons. *J. Neurosci*, 2020, 40,1405-1426.

Esvald E.E., Tuvikene J., Moistus A., Rannaste K., Kõomägi S., **Timmusk T.** Differential regulation of the BDNF gene in cortical and hippocampal neurons. *J. Neurosci*, 2022, 42, 9110-9128.

Francks C, Maegawa S, Lauren J, Abrahams BS, Velayos-Baeza A, Medland SE, Colella S, Groszer M, McAuley EZ, Caffrey TM, **Timmusk T**, Pruunsild P, Koppel I, Lind PA, Matsumoto-Itaba N, Nicod J, Xiong L, Joobor R, Enard W, Krinsky B, Nanba E, Richardson AJ, Riley BP, Martin NG, Strittmatter SM, Moller HJ, Rujescu D, St Clair D, Muglia P, Roos JL, Fisher SE, Wade-Martins R, Rouleau GA, Stein JF, Karayiorgou M, Geschwind DH, Ragoussis J, Kendler KS, Airaksinen MS, Oshimura M, Delisi LE, Monaco AP. *LRRTM1* on chromosome 2p12 is a maternally suppressed gene that is associated paternally with handedness and schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 2007, 12, 1129-1139.

Funakoshi H., Frisen J., Barbany G., **Timmusk T.**, Zachrisson O., Verge V. M. K., Persson H. (1993). Differential expression of mRNAs for neurotrophins and their receptors following axotomy of the sciatic nerve. *J. Cell Biol.*, 1993, 123, 455-465.

Funakoshi H., Risling M., Carlstedt T., Lendahl U., **Timmusk T.**, Metsis M., Yamamoto Y., Ibáñez C.F. Targeted expression of a chimeric neurotrophin in the lesioned sciatic nerve accelerates regeneration of sensory and motor axons. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1998, 95, 5269-5274.

Kannike K., Sepp M., Zuccato C., Cattaneo E., **Timmusk T.** Forkhead transcription factor FOXO3a levels are increased in Huntington disease because of overactivated positive autofeedback loop. *J. Biol. Chem.*, 2014, 289, 32845-32857.

Karis K., Eskla K.L., Kaare M., Leidmaa E., Täht K., Tuusov J., Visnapuu T., Innos J., Jayaram M., **Timmusk T.**, Weickert CS, Väli M., Vasar E., Philips M.A. Altered expression profile of IgLON family of neural cell adhesion molecules in the dorsolateral prefrontal cortex of schizophrenic patients. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2018, 11:8.

Kask M., Pruunsild P., **Timmusk T.** Bidirectional transcription from human *LRRTM2/CTNNA1* and *LRRTM1/CTNNA2* gene loci leads to expression of N-terminally truncated CTNNA1 and CTNNA2 isoforms. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2011, 411, 56-61.

Kokaia Z., Metsis M., Kokaia M., Bengzon J., Elmér E., Smith M.-L., **Timmusk T.**, Siesjö B. K., Persson H., Lindvall O. Brain insults induce increased expression of the BDNF gene through differential usage of multiple promoters. *Eur. J. Neurosci.*, 1994, 6, 587-596.

Koppel I., **Timmusk T.** Differential regulation of *Bdnf* expression in cortical neurons by class-selective histone deacetylase inhibitors. *Neuropharmacology*, 2013, 75, 106-115.

Koppel I., Tuvikene J., Lekk I., **Timmusk T.** Efficient use of a translation start codon in BDNF exon I. *J. Neurochem.*, 2015, 134,1015-1025.

Koppel I., Jaanson K., Klasche A., Tuvikene J., Tiirik T., Pärn A., **Timmusk T.** Dopamine cross-reacts with adrenoreceptors in cortical astrocytes to induce BDNF expression, CREB signaling and morphological transformation. *Glia*, 2018, 66, 206-216.

Kumar A., Karuppagounder S. S., Chen Y., Corona C., Kawaguchi R., Cheng Y., Balkaya M., Sagdullaev B. T., Wen Z., Stuart C., Cho S., Ming G., Tuvikene J., **Timmusk T.**, Geschwind D. H., Ratan R. R. 2-Deoxyglucose drives plasticity via an adaptive ER stress-ATF4 pathway and elicits stroke recovery and Alzheimer's resilience. *Neuron*, 2023, Jul 11:S0896-6273(23)00472-5. doi: 10.1016/j.neuron.2023.06.013. Online ahead of print

Laurén, J., Airaksinen M. S., Saarma, M., **Timmusk T.** A novel gene family encoding leucine-rich repeat transmembrane proteins differentially expressed in the nervous system. *Genomics*, 2003, 81, 411-421.

Laurén, J., Airaksinen, M. S., Saarma, M., **Timmusk, T.** Two Novel Mammalian Nogo Receptor Homologs Differentially Expressed in the Central and Peripheral Nervous System. *Mol. Cell. Neurosci.* 2003,24, 581-594.

Lindahl, M., **Timmusk, T.**, Rossi, J., Saarma, M., Airaksinen, M. Expression and alternative splicing of mouse *Gfra4* suggests roles in endocrine cell development. *Mol. Cell. Neurosci.*, 2000,15, 522-533.

Lindahl, M. S., Poteryaev, D., Yu, L.-Y., Arumäe, U., **Timmusk, T.**, Bongarzone, I., Aiello, A., Pierotti, M. A., Airaksinen, M. S., Saarma, M. Human *GFRa4* is the receptor for persephin, and is selectively expressed in normal and malignant thyroid medullary cells. *J. Biol. Chem.*, 2001, 276, 9344-9351.

Lindholm P., Voutilainen M.H., Laurén J., Peränen J., Leppänen V.M., Andressoo J.O., Lindahl M., Janhunen S., Kalkkinen N., **Timmusk T.**, Tuominen R.K., Saarma M. Novel neurotrophic factor *CDNF* protects and rescues midbrain dopamine neurons *in vivo*. *Nature*, 2007, 448, 73- 77.

Metsis M., **Timmusk T.**, Arenas E., Persson H. Differential usage of multiple brain-derived neurotrophic factor promoters in the rat brain following neuronal activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, 90, 8802-8806.

Nurm K., Sepp M., Castany-Pladevall C; Creus-Muncunill J., Tuvikene J., Sirp A., Vihma H., Blake D.J., Perez-Navarro E., **Timmusk T.** Isoform-specific reduction of the basic helix-loop-helix transcription factor *TCF4* levels in Huntington's disease. *eNeuro*, 2021, 8(5) ENEURO.0197-21.2021.

Palm K., Belluardo N., Metsis M., **Timmusk T.** Neuronal expression of zinc finger transcription factor *REST/NRSF/XBR* gene. *J. Neurosci.*, 1998, 18, 1280-1296.

Pruunsild P, Kazantseva A, Aid T, Palm K, **Timmusk T.** Dissecting the human *BDNF* locus: bidirectional transcription, complex splicing and multiple promoters. *Genomics*, 2007, 90, 397-406.

Pruunsild P., Sepp M., Orav E., Koppel I., **Timmusk T.** Identification of *cis*-elements and transcription factors regulating neuronal activity-dependent transcription of human *BDNF* gene. *J. Neuroscience*, 2011, 31, 3295-3308.

Sepp M., Kannike K., Eesmaa A., Urb M., **Timmusk T.** Functional diversity of human basic helix-loop-helix transcription factor *TCF4* isoforms generated by alternative 5' exon usage and splicing. *PLoS ONE*, 2011, 6, e22138.

Sepp M., Pruunsild P., **Timmusk T.** Pitt-Hopkins Syndrome associated mutations in *TCF4* lead to variable impairment of the transcription factor function ranging from hypomorphic to dominant negative effects. *Hum. Mol. Genet.*, 2012, 21, 2873-2888.

Sepp M., Vihma H., Nurm K., Urb, M., Page S. C., Roots K., Hark A., Maher B. J., Pruunsild P., **Timmusk T.** The intellectual disability and schizophrenia associated transcription factor *TCF4* is regulated by neuronal activity and protein kinase A. *J. Neurosci.*, 2017, 37, 10516-10527.

Shieh P. B., Hu S.C., Bobb K., **Timmusk T.**, Ghosh A. Identification of a signaling pathway involved in calcium regulation of *BDNF* expression. *Neuron*, 1998, 20, 727-740.

Sirp A., Leite K., Tuvikene J., Nurm K., Sepp M., **Timmusk T.** The Fuchs corneal dystrophy associated CTG repeat expansion in the *TCF4* gene affects transcription from its alternative promoters. *Scientific Reports*, 2020, 10:18424.

Sirp A., Roots K., Nurm K., Tuvikene J., Sepp M. **Timmusk T.** Functional consequences of the basic helix-loop-helix transcription factor *TCF4* missense substitutions associated with Pitt-Hopkins syndrome, mild intellectual disability, and schizophrenia. *J. Biol. Chem.*, 2021, 297, 101381.

Sirp A., Shubina A., Tuvikene J., Tamberg L., Kiir C.S., Kranich L., **Timmusk T.** Expression of alternative transcription factor 4 mRNAs and protein isoforms in the developing and adult rodent and human tissues. *Front Mol Neurosci*, 2022, 15:1033224.

Tamberg L, Sepp M, **Timmusk T.**, Palgi M. Introducing Pitt-Hopkins syndrome-associated mutations of *TCF4* to *Drosophila daughterless*. *Biol. Open*, 2015, 4, 1762-1771.

Tamberg L., Jaago M., Säälk K., Sirp A., Tuvikene J., Shubina A., Kiir C. S., Nurm K., Sepp M., **Timmusk T.**, Palgi M. *Daughterless*, the *Drosophila* orthologue of *TCF4*, is required for associative learning and maintenance of the synaptic proteome. *Dis Model Mech*, 2020, 13: dmm042747.

Tammiku-Taul J., Park R., Jaanson K., Luberg K., Dobchev D. A., Kananovich D., Noole A., Mandel M., Kaasik A., Lopp M., **Timmusk T.**, Karelson M. Indole-like Trk receptor antagonists. *Eur. J. Med. Chem.*, 2016, 121, 541-552.

Timmusk T., Palm K., Metsis M., Reintam T., Paalme V., Saarma M., Persson H. Multiple promoters direct tissue-specific expression of the rat *BDNF* gene. *Neuron*, 1993a, 10, 475-489.

Timmusk T., Lendahl U., Funakoshi H., Arenas E., Persson H., Metsis M. Identification of *BDNF* promoter regions mediating tissue-specific, axotomy- and neuronal activity-induced expression in transgenic mice. *J. Cell Biol.*, 1995, 128, 185-199.

Timmusk T., Lendahl U., Funakoshi H., Arenas E., Persson H., Metsis M. Identification of BDNF promoter regions mediating tissue-specific, axotomy- and neuronal activity-induced expression in transgenic mice. *J. Cell Biol.*, 1995, 128, 185-199.

Timmusk T., Palm K., Lendahl U., Metsis M. Brain-derived neurotrophic factor expression in vivo is under the control of neuron-restrictive silencer element. *J. Biol. Chem.*, 1999, 274, 1078-1084.

Trupp M., Rydén M., Jörnvall H., Funakoshi H., **Timmusk T.**, Arenas E., Ibanez C.F. Peripheral expression and biological activities of GDNF, a new neurotrophic factor for avian and mammalian peripheral neurons. *J. Cell Biol.*, 1995, 130, 137-148.

Tuvikene J., Pruunsild P., Orav E., Esvald E.E., **Timmusk T.** AP-1 transcription factors mediate BDNF-positive feedback loop in cortical neurons. *Journal of Neuroscience*, 2016, 36, 1290-1305.

Tuvikene J., Esvald E.E., Rähni A., Uustalu K., Zhuravskaya A., Avarlaid A., Makeyev E. V. **Timmusk T.** Intronic enhancer region governs transcript-specific BDNF expression in neurons. *eLife*, 2021, 10:e65161.

Uvarov, P., Pruunsild, P., **Timmusk, T.**, Airaksinen M.S., KCC2 transgenes lacking neuron restrictive silencer element recapitulate CNS neuron-specific expression and developmental upregulation of endogenous KCC2 gene. *J. Neurochem.*, 2005, 95, 1144-1155.

Uvarov P., Ludwig A., Markkanen M., Pruunsild P., Kaila K., Delpire E., **Timmusk T.**, Rivera C., Airaksinen M.S. A Novel N-terminal Isoform of the Neuronal K⁺/Cl⁻ Cotransporter KCC2. *J. Biol. Chem.*, 2007, 282, 30570-30576.

Vanaveski T., Molchanova S., Pham D. D., Schäfer A., Pajanoja C., Narvik J., Srinivasan V., Urb M., Koivisto M., Vasar E., **Timmusk T.**, Minkeviciene R., Eriksson O., Lalowski M., Taira T., Korhonen L., Voikar V., Lindholm D. PGC-1 α signaling increases GABA(A) receptor subunit $\alpha 2$ expression, GABAergic neurotransmission and anxiety-like behavior in mice. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2021, 14: 588230.

Zuccato, C., Ciammola, A., Rigamonti, D., Leavitt, B. R., Goffredo, D., Conti, L., MacDonald, M. E., Friedlander, R. M., Silani, V., Hayden, M. R., **Timmusk, T.**, Sipione, S., Cattaneo, E. Loss of Huntingtin-Mediated BDNF gene transcription in Huntington's disease. *Science*, 2001, 293, 493-498.

Zuccato, C., Tartari, M., Crotti, A., Goffredo, D., Valenza, M., Conti, L., Cataudella, T., Leavitt, L., Hayden, M. R., **Timmusk, T.**, Rigamonti D., Cattaneo, E. Huntingtin interacts with REST/NRSF to modulate the transcription of NRSE-controlled neuronal genes. *Nature Genetics*, 2003, 35, 76-83.

Patentne leiutis: Compounds related to or derived from GFR α and their use; Autorid: Mart Saarma, **Tõnis Timmusk**, Matti Airaksinen, Dmitri Poteriaev, Maria Lindahl, Jari Rossi; Prioriteedinumber: FI20000000394; Prioriteedikuupäev: 21.02.2000

Patentne leiutis: Mammalian neuralized family transcriptional regulators and uses; Autorid: Kaia Palm, **Tõnis Timmusk**; Prioriteedinumber: US20010808387; Prioriteedikuupäev: 14.03.2001.

Patentne leiutis: Novel neurotrophic factor protein and uses thereof; Autorid: Mart Saarma, **Tõnis Timmusk**, Juha Lauren, Päivi Lindholm, Raimo Tuominen; Prioriteedinumber: US20020406927P; US20030648361; Prioriteedikuupäev: 30.08.2002

Patentne leiutis: Transgenic mouse and cell models and their uses for identification of drugs targeting brain-derived neurotrophic factor; Autorid: **Tõnis Timmusk**, Indrek Koppel, Mari Sepp, Kaur Jaanson, Tamara Aid, Priit Pruunsild, Kaia Palm; Prioriteedinumber: US61/168,319; Prioriteedikuupäev: 10.04.2009

Patentne leiutis: Cis- and trans-regulators of BDNF gene and their uses; Owner: Tallinn University of Technology ; Authors: Priit Pruunsild, Mari Sepp, Ester Orav, Indrek Koppel, **Tõnis Timmusk**; Priority number: US61/456,930; Priority date: 15.11.2010

Patentne leiutis: Indole-like TRK receptor antagonists; Omanikud: Tallinna Tehnikaülikool, Tartu Ülikool; Autorid: **Tõnis Timmusk**, Margus Lopp, Eero Vasar, Allen Kaasik, Mati Karelson; Prioriteedi number: US15/249,390; Prioriteedi kuupäev: 27.08.2016.