



TALLINNA TEHNIKAÜLIKOOL  
TALLINN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

Loodusteaduskond  
Keemia ja biotehnoloogia instituut  
Geenitehnoloogia osakond

# **ALZHEIMERI AMÜLOID- $\beta$ PEPTIIDIDE TOKSILISUS IGF-1 DIFERENTSEERITUD INIMESE NEUROBLASTOOMI RAKKUDELE**

**Bakalaureusetöö**

**Sebastian Keinast**

Juhendaja: Olga Bragina, PhD

Vello Tõugu, PhD

Genoomika ja  
proteoomika õppetool

## Kokkuvõte

Alzheimeri tõbi on ajapikku süvenev neurodegeneratiivne tõbi, mis on maailma juhtiv nõdrameelsuse põhjustaja. Tõvele on iseloomulikud ajus esinevad ekstratsellulaarsed amüloidsed naastud ning intratsellulaarsed neurofibrillaarsed kämbud. Alzheimeri tõvel eristatakse kahte vormi, mis on haiguse kliinilise kulu mõttes praktiliselt identsed, kuid erinevad tekkepõhjuste poolest. Alzheimer'i tõve perekondlik vorm, olles vastutav kõigest >5% haigusjuhtude eest, on tõestatud geneetilise tagapõhjaga ning võib avalduda aastakümneid varem kui tavaline, keskkonnateguritest tingitud tõve vorm.

Alzheimeri tõve uurimiseks on kasutusel mitmeid in vitro ning in vivo mudeleid. Levinuimaks loomamudeliks on amüloidi eellasvalgu APP ning selle metaboliseerimisega seotud ensüümide  $\beta$ - ja  $\gamma$ -sekretaaside geenmutatsioonidega hiired, lisaks teistele transgeensetele loomamudelitele. Nende peal on hea uurida tõve perekondlikku vormi, kuid nad on puudulikud mitte-perekondliku versiooni uurimiseks. In vitro uuringuteks on kasutatud erinevaid rakuliine nagu näiteks piiramatu jagunemisvõimega inimese neuroblastoomi rakuliini SH-SY5Y. Need rakuliinid aga ei ekspresseeri küpsetele neuronitele omaseid morfoloogilisi ega neuroloogilisi tunnuseid. Lahenduseks on pakutud erinevate diferentseerumist esilekutsuvate agentide kasutamist, mille tulemusel saavutavad rakud neuronilaadsed tunnused, olles seega adekvaatsemaks mudeliks haiguse uurimisel.

Töö eesmärgiks oli uurida amüloid-beeta peptiidide A $\beta$ 40 ja A $\beta$ 42 mõju diferentseeritud neuroblastoomi SH-SY5Y rakkudele. Diferentseerumiseks kasutati insuliinilaadset kasvufaktorit IGF-1, mille optimaalse kontsentratsiooni leidmiseks katsetati erinevaid lahjendusi 4- päevasel diferentseerumisperioodil. Varasemalt on kasutatud diferentseerumisagente nagu retinoolhape ning BDNF, kuid IGF-1 sobivust mudelina pole põhjalikult uuritud. IGF-1-ga diferentseeritud rakud sarnanesid morfoloogiliselt küpsetele neuronitele ning ekspresseerisid ka neuron-spetsiifilist markerit TUJ-1 ning sünapsides esinevat valku sünaptofüsiin.

Peptiidide toksilisust mõõdeti rakkude elulevuse testiga WST-1 ning surnud rakkude loendamiseks PI ning Sytox-Green teste. Huvitaval kombel osutusid IGF-1 diferentseeritud autofluorestseeruma, takistades PI testi efektiivsust. Taolist autofluorestsentsi pole teiste diferentsiatsiooniagentidega täheldatud. Peptiididest osutus ülimalt toksiliselt A $\beta$ 42, kelle toksilisuse näitajad kasvasid kontsentratsiooni tõusuga, viidates doos-sõltuvalle seosele. See eest A $\beta$ 40 toksilisuse näitajad sarnanesid peptiidivaba puhvri omadele, mistõttu võis A $\beta$ 40 peptiidi lugeda mitte-toksiliseks.