

Kokkuvõte

Viljatus mõjutab miljoneid paare üle maailma. Kuna IVF protseduuri teostamiseks vajalik embrüote hindamine toimub enamasti vaid morfoloogiliste näitajate alusel, siis on IVF efektiivsus vaid 30%. IVF efektiivsuse tõstmiseks on välja pakutud mitmeid erinevaid meetodeid, sealhulgas ka mitte-invasiivset embrüo kasvulahuse proteoomi analüüsi.

Selle meetodi peamiseks probleemiks on inimese seerumi albumiini (HSA) suur kontsentratsioon kasvulahuses, mis segab madalates kontsentratsioonides olevate biomarkerite tuvastamist. Käesolevas töös kasutati HSA eraldamiseks kasvulahuse proovidest MARS albumiin-spetsiifilist immuunafiinsus kolonni.

Kasvulahuse proovid sadestati, töödeldi MARS kolonniga, teostati *StageTip* valkude kontsentreerimise protokoll ja analüüsiti proove SDS-PAGE ja MALDI MS abil. Meetodite optimeerimisel kasutati kasvulahust Global Total (LifeGlobal) ja HSA proovi. Kasvulahuste valgulise koostise võrdlemiseks analüüsiti kommertsiaalseid kasvulahuseid Universal IVF Medium, ISM1, ORIGIO Sequential Series Fert, ORIGIO Sequential Series Blast (tootja Origio), ja kasvulahust Global Total (tootja LifeGlobal) ning võrdluseks HSA proovi.

Kokku tuvastati viiest erinevast kasvulahusest 52 m/z piiki, millest 24 olid leitavad ainult kasvulahuste proovidest ning puudusid HSA proovis, mis võib viidata sellele, et need on kasvulahusele omased valgud/peptiidid. Nimetatud m/z piikide identifitseerimiseks oleks vaja teostada kasvulahustele trüpsinolüüs ning LC-MS/MS eksperimendid.

Käesolevas töös tuvastati inimese IVF embrüo kasvulahustes mitmeid seni kirjeldamata m/z piike (2411, 2690, 2692, 3038, 3135, 3369, 3814, 4304, 4377, 4509, 4523, 4597, 4669, 4673, 4823, 5235, 5367, 5802, 6769, 7280, 8614, 9196, 23865 ja 99873), millest kaks m/z piiki – 3814 ja 9196 olid esindatud kõikides kasvulahustes ja puudusid HSA proovis. Lisaks kinnitati tulemust, et töös kasutatud 99% puhtusega kommertsiaalne HSA preparaat ei koosne ainult ühest valgust, kuna HSA proovist leitud 35-st m/z piigist vaid 9 kuuluvad HSA-le.