

**INIMISE FOLLIKULAARVEDELIKUST ERALDATUD RAKUVÄLISTE
VESIIKULITE ALAMPOPULATSIOONIDE ERALDAMINE JA
ISELOOMUSTAMINE**

Bakalaureusetöö

Üliõpilane: Katariina Johanna Saretok
Juhendajad: Agne Velthut-Meikas, keemia ja biotehnoloogia instituut, dotsent
Inge Varik, keemia ja biotehnoloogia instituut, doktorant-nooremteadur
Õppekava: LAAB17/20, rakenduskeemia ja geenitehnoloogia

Lühikokkuvõte

Kõik teadaolevad rakutüübid vabastavad ümbritsevasse keskkonda rakuväliseid vesiikuleid ehk EV-sid, mis on lipiidse kaksikkihiga nanomõõtmetes osakesed. EV-d jagunevad vastavalt oma tekkeviisile kolmeks põhirühmaks: eksosoomid, mikrovesiikulid ja apoptootilised kehad. EV-sid leidub erinevates kehavedelikes: näiteks veres, uriinis ja follikulaarvedelikus. Nad osalevad rakkudevahelises suhtluses, transportides bioaktiivseid molekule, nagu valke, lipiide ja nukleiinhappeid, mis omakorda põhjustavad rakusiseseid muutusi.

Inimese follikulaarvedelikku sekreteeritud EV-d osalevad munarakkude arengu, küpsemise, ovulatsiooni, viljastumise ning varase embrüonaalse arengu protsessides. EV alampopulatsioonide füüsikaliste omaduste ja funktsioonide uurimine võimaldab tulevikus potentsiaalselt suurendada viljatusravi efektiivsust ja arendada reproduktiivsüsteemi haiguste ennetamist võimaldavaid diagnostilisi lahendusi.

Antud töö eesmärkideks oli:

1. Optimeerida inimese follikulaarvedelikust EV-de alampopulatsioonide eraldamise tehnikaid.
2. Uurida eraldatud EV-de alampopulatsioonide füüsikalisi omadusi, nagu suurus ja kontsentratsioon.
3. Tuvastada ja võrrelda EV-de alampopulatsioonidel esinevaid valgulisi markereid Western blot meetodil.

Töö käigus optimeeriti follikulaarvedelikust pärit EV-de puhastamise ja alampopulatsioonideks jaotamise protokolle, kasutades suuruseralduskromatograafiat, tangensiaalvoolufiltratsiooni ja ultrafiltrereerimise meetodeid. Tulemusena saadi ~100 nm läbimõõduga väikeste EV-de alampopulatsioon ning ~250 nm läbimõõduga suurte EV-de alampopulatsioon. Valguliste markerite analüüsimisel tuvastati eraldatud osakestel EV-dele omaseid pinnamarkereid ning kontrolliti eraldatud EV-de puhtust albumiini ja lipoproteiinide suhtes.

Saadud tulemused võimaldavad follikulaarvedelikust isoleerida erineva suurusega EV-sid, mille abil saab tulevikus läbi viia funktsionaalseid katseid, et uurida EV-de alampopulatsioonide mõju folliikuli rakutüüpide paljunemisele, elulemusele, steroidogeneesile ja metabolismile, mis omakorda võimaldab paremini mõista nende rolli naise reproduktiivsüsteemis. Kuigi EV-de eraldamise tehnikad ei ole seni veel standardiseeritud, on teadmised EV-de alampopulatsioonidele iseloomulikest omadustest eri kehavedelikes jõudsalt arenemas.