

TALLINNA TEHNIKA ÜLIKOOL
Matemaatika-Loodus teaduskond
Geenitehnoloogia instituut

**G VALKUDE SIGNAALIRAJA KOMPONENTIDE *VAV1*, *CXCR4*, *RGS1* TESTIMINE
POTENTIAALSETE UUTE BIOMARKERITENA *SCLEROSIS MULTIPLEX*’i
PATSIENTIDEL**

Bakalaurusetöö

Ksenia Kuznetsova

JUHENDAJA: Sirje Rüütel Boudinot, PhD
dotsent, TTÜ Molekulaardiagnostika õppetool

KAASJUHENDAJA: Jaanus Suurväli, MSc
nooremteadur, TTÜ Molekulaardiagnostika õppetool

Tallinn
2014

Resümees

Sclerosis Multiplex (SM) ehk hulgiskleroos on põletikuline multisümptomaatiline autoimmuunhaigus, mida põdevad enamasti noored (20-30 aastastel on see tavaliselt esmakordselt registreeritud). 2009. aasta seisuga Eestis oli umbes 1,500 haiget, see tähendab 100 diagnoositud inimest 100,000 elaniku kohta. Kokku maailmas 2013. aasta seisuga on 2.3 mln SM haiget ning naised haigestub kaks korda rohkem, kui mehed. SM ravi on siiani ainult sümptomaatiline võimaldades remissiooni aega pikendada ning haigudhoogude ägenemise kordade arvu vähendada. Haiguse kulgu ning sümptomid on väga individuaalsed iga patsiendi puhul, kuna sõltuvad demüelinatsiooni ala asukohast kesknärvi süsteemis. Seega uute biomarkerite väljaselgitamine ning testimine lähendab meid haiguse ilmumise põhjuste, kulu ja progresseerumise paremale arusaamisele ning tervistavate agentide leidmisele.

Hiljutine uuring meie laboris näitas, et G valkude signaalraja komponendi *RGS16* mRNA ekspressioonitase võiks olla potentsiaalselt kasutatav varase *Sclerosis Multiplex* i diagnosteerimisel. See tõstis huvi vastava signaalraja ja SM i vahelise seose edasise uurimise vastu. Kirjanduse läbivaatamise tulemusel valiti edasiseks uurimiseks samadest patsientidest kolm G valkude raja komponenti: VAV1, RGS1 ning CXCR4, mis on kõik juba ka varasemates töödes seostatud SM i-ga. Nende uurimine oli eriti huvitav kahel põhjusel. Ühelt poolt neid ei olnud kunagi vaadatud Eesti populatsioonis. Teiselt poolt nad osalevad G valkude signaalirajas erineval viisil: nende hulgas on G valkude seoseline kemokiini retseptor CXCR4, G valkude signaaliülekanne regulaator – GTPaasi aktiveeriv valk RGS1 ning guaniini vahetuse faktor Rho VAV1.

Käesoleva töö põhieesmärk oli välja selgitada nende kolme geeni potentsiaal biomarkeritena. Selle saavutamiseks olid mononukleaarsed rakud eraldatud patsientide ja tervete vereproovidest Ficoll-gradiendi abil. Seejärel RNA isoleeriti fenool-kloroformi meetodiga ning komplementaarne DNA (cDNA) sünteesiti kõikidest RNA proovidest pöördtranskriptaasi abil. mRNA ekspressiooni mõõdeti kvantitatiivse PCR (qPCR) abil. Analüüsiks olid patsiendid jagatud rühmadeks vastavalt ravimi valikule (Copaxone (n=12), IFN-beeta (n=34) ning patsiendid, kes ravimit ei saanud (n=6)), neid võrreldi nii omavahel, kui ka tervetega. Saadud tulemustest järeldub, et enamikel juhtudel IFN-β ravimitel ja kopaksoonil on geenidele erinev mõju. Kõige enam pakuvad edasiseks uurimiseks huvi need patsiendid, kes ravimit pole veel saanud: nimelt võrreldes neid

tervetega saaks uuritavat geeni identifitseerida tüüp 0 biomarkerina, võrreldes neid aga patsientidega, kes on saanud kas kopaksooni või IFN- β , saab geeni identifitseerida tüüp I biomarkerina.