

TALLINNA TEHNIKAÜLIKOOL
Matemaatika-loodusteaduskond
Geenitehnoloogia instituut

Inimese granuloosa rakuliinide KGN ja COV434 geeniekspressiooni profiili võrdlus
primaarsete luteiniseerunud granuloosa rakkudega

Bakalaureusetöö

Ilmatar Rooda

Juhendajad: Agne Velthut-Meikas, MSc, TTÜ Integreeritud
Süsteemide Bioloogia Keskus
Anu Aaspõllu, PhD, TTÜ Integreeritud Süsteemide
Bioloogia Keskus
Prof. Andres Salumets, PhD, TÜ Arstiteaduskond

Geenitehnoloogia

2014

Lühikokkuvõte

Follikulogenees on kompleksne protsess, mis lõpeb küpse munaraku ovulatsiooniga. Munarakk vajab arenguks tuge teda ümbritsevalt folliiklilt ning somaatilistelt rakkudelt. Ovulatsioonieelne ehk antraalne folliikul koosneb kahte tüüpi granuloosa rakkudest: muraalne granuloosa ja kumuluse granuloosa rakud. Kumuluse granuloosa rakud ümbritsevad munarakku moodustades kumulus-munarakk kompleksi ning muraalse granuloosa rakud moodustavad folliikli basaalmembraani sisemust vooderdava kihi. Kuna munaraku areng on tihedalt seotud teda ümbritsevate somaatiliste rakkudega, oleks üheks võimaluseks hinnata munaraku arengupotentsiaali folliiklis sisalduvate granuloosa rakkude järgi. Granuloosa rakkude geeniekspressiooni analüüs võimaldaks teoreetiliselt emakasse siirdamiseks välja valida kõige parema arengupotentsiaaliga embrüoid.

Folliikuli koosseisu kuuluvaid granuloosa rakke võib IVF protseduuri käigus saada ning seega uuringuteks kasutada. Samas on eelnevalt vaja rohkem teada nende rakkude rollist ja olulisusest munaraku küpsemisel. Kuna primaarsete rakkudega katsete läbiviimine on keeruline, siis saaks appi võtta rakuliinid. Ent rakuliinid ei käitu sageli täpselt samuti kui primaarsed rakud, mistõttu on oluline selgitada välja nende sarnasused ja erinevused ning seeläbi otsustada, kas ja millisteks katseteks saab rakuliine primaarsete rakkude mudelina kasutada.

Granuloosa rakkude geeniekspressiooni ja regulatsiooni uurimine nii mRNA kui miRNA tasemel võib anda palju uut ja vajalikku informatsiooni nende rakkude kohta, läbi mille paremini mõista kogu follikulogeneesi protsessi. Samuti saaks ekspresseeruvaid mRNA või miRNA molekule kasutada kui markereid munaraku arengupotentsiaali hindamiseks.

Antud töö eesmärkideks oli:

1. Teostada follikulogeneesi protsessides osalevate olulisemate geenide ekspressiooni võrdlus rakuliinides KGN ja COV434 ning primaarsetes muraalse granuloosa rakkudes.
2. Leida tingimused *FSHR* ja *CYP19A1* mRNA ekspressiooni mõjutamiseks granuloosa rakuliinides koekultuuri tingimustes.

3. Testida miRNAde hsa-miR-548ba ja hsa-miR-7973 ekspressiooni rakuliinides ning tõestada nende ekspressiooni sõltuvus vastavalt *FSHR* ja *CYP19A1* geenide avaldumisest, kuna need miRNA-d asuvad vastavate geenide intronites.

Töö tulemustest selgus, et olulisemate follikulogeneesiga seotud geenide võrdlusel rakuliinid erinevad geeniekspressiooni taseme poolest muraalse granuloosa rakkudest olulisel määral. Suuremat osa kontrollitud geenidest ekspresseeritakse rakuliinides madalamal tasemel kui muraalse granuloosa rakkudes. FSH retseptori geeni ning aromataasi geeni mRNA ekspressiooni mõjutamiseks rakuliinides KGN ja COV434 koekultuuri tingimustes kasutati kemikaale: DMSO, FSK, BPA ja TCDD ning kõikide kemikaalide mõju rakkudele hinnati kahes ajapunktis (5 ja 24 tundi). Saadud tulemuste alusel olid mõlema rakuliini korral kemikaalide mõjud geeniekspressioonile suuremad 24 h ajapunktis, võrreldes 5 h omaga. Ent aromataasi geeniekspressioon suurenes kemikaalide mõjul, kontrolliga võrreldes, peaaegu kõikides tingimustes. Seevastu *FSHR* geeni ekspressioon KGN rakuliinides vähenes ning COV434 rakkudes oli ekspressioonitase nii madal, et paljudes katsetes ei ületanud see tuvastuspiiri. miRNA-de testimine näitas, et nende ekspressioonitase oli nii madal, et ei ületanud tuvastuspiiri. Sellest saab ühe võimalusena järeldada, et FSH retseptori geeni ja aromataasi geeni ekspressiooni muutmine, mille intronites uuritud miRNA-d paiknevad, ei mõjutanud antud tingimustel nende ekspressiooni.