

Fejlődés specifikus mikroRNS-ek feltérképezése nyúl embriókban

Dévai Gréta

Mezőgazdasági biotechnológus mesterképzési szak, levelező munkarend

MATE, Genetika és Biotechnológia Intézet, Állatbiotechnológia Tanszék

Témavezetők:

Dr. Gócza Elen, tudományos tanácsadó, tanszékvezető, MATE, Szent István Campus, Genetika és Biotechnológia Intézet, Állatbiotechnológia Tanszék

Tokodyné Szabadi Nikolett, tudományos segédmunkatárs, MATE, Szent István Campus, Genetika és Biotechnológia Intézet, Állatbiotechnológia Tanszék

Az utóbbi évtizedekben jelentős fejlődésen mentek keresztül a humán asszisztált reprodukciós technológiák, azonban az *in vitro* fertilizáció és embriótranszfer (IVF-ET) kezelések összesített sikerességi rátája továbbra is csupán 30% körül mozog. A program eredménytelensége az esetek jelentős százalékában embrióbeágyazódási problémákra vezethető vissza, melyben (az anyai endometrium gyenge receptivitása mellett) az embrió elégtelen minősége és életképessége játszik döntő szerepet.

A korai embrionális fejlődés során számos mikroRNS (miRNS) van jelen az embrióon belül és annak közvetlen környezetében, melyek jelentős biológiai folyamatokban szerepet játszó gének expresszióját képesek poszt-transzkripcionálisan szabályozni, finomhangolni. Egyes fejlődésspecifikus miRNS-ek az embrió fejlettségi állapotától függően eltérő, jellegzetes expressziós mintázatokat mutatnak, s ez a molekuláris változás nem csak az embrióon belül, de az *in vitro* tenyésztett embriók tenyésztőműködésében is tetten érhetők.

Munkánk célja egyrészt egy olyan, finomabb RNS-detektálási protokoll kidolgozása, mely alkalmas lehet 4- és 6-napos nyúlembriók tenyésztőműködésében (illetve magukban az embriókban) igen kis mennyiségben jelen lévő miRNS-ek kimutatására, másrészt pedig hét humán fejlődésspecifikus miRNS esetén annak megállapítása, hogy azok alkalmasak lehetnek-e *in vitro* tenyésztett preimplantációs nyúlembriók életképességének noninvazív megítélésére.

Munkánk során, a megfelelő miRNS-detektálási eljárás kidolgozásához egyrészt két különböző RNS-izoláló kit hatékonyságát vetettük össze abból a szempontból, hogy melyik alkalmasabb olyan mennyiségű és tisztaságú RNS-izolátum egyetlen lizált embrióból történő előállítására, melyből a cDNS-írási és RT-qPCR lépéseket követően értékelhető miRNS-expressziós adatokhoz juthatunk. A megfelelő kit használata mellett pedig az is fontos része volt az új protokoll kidolgozásának, hogy a tenyésztőmédium-minták esetén az RNS-izolálás lépését kihagytuk, ilyen módon ugyanis a folyamat végén a médium-mintákból is elegendő mennyiségben jutottunk hozzá a vizsgálandó miRNS-ekhez.

A hét humán miRNS-primer tesztelése során azt láttuk, hogy nem mindegyik alkalmas miRNS-ek detektálására nyúlembriók és azok tenyésztőmédiuma esetében, az öt működő primer segítségével azonban olyan miRNS-kifejeződési mintázatokat kaptunk eredményül, melyek alkalmasak voltak az embriók fejlettségi állapot és minőség alapján történő közelítő osztályozására.

A preimplantációs embriók tenyésztőmédiumában található fejlődésspecifikus miRNS-ek vizsgálata olyan mértékű betekintést nyújthat az embriók aktuális állapotába, mely reményeink szerint a jövőben a humán IVF-ET során is segítséget nyújthat a legéletképesebb embriók transzferre történő kiválasztásához, s ezen keresztül nagyban megnövelheti a sikeres beágyazódás és az egészséges terhesség létrejöttének és megtartásának esélyét.