

Semen ve spermdeki yüksek RNA kalitesi: Klinik testlerdeki izolasyon, analiz ve potansiyel uygulama

Georgiadis AP, Kishore A, Zorrilla M, et al.
J Urol. 2015 Jan; 193(1): 352-9.

Erkek infertilitesi kompleks bir sağlık sorunudur. Dünya genelindeki erkeklerin %7 kadarını ilgilendirmektedir. İn-fertilite tanımı rutin hücre analizi, sperm sayısı, morfoloji ve motiliteye göre yapılmaktadır. Sperm anormaliteleri infertil erkeklerde yaygın olsa da, genetik faktörlerle ilişkili idiopatik infertilite hastaların %50'sinde gözlenmektedir.

Toplam RNA, semen RNA profili elde etmek için 3 yöntemle analiz edilmektedir.

1) rRNA numunede bozulma tespit etmek için biyoanalizer tarafından analiz edilmektedir.

2) mRNA somatik ve germ hücre RNA belirteçleri için nicel revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PC ile göreceli transkript miktarı eldesi için analiz edilmektedir).

3) tükenen RNA'daki rRNA, olgun spermdeki tam ifade profilini tanımlamak için RNA-seq aracılığı ile kullanılır.

Bilindiği kadarıyla erkek infertilitesinin moleküler belirteci yoktur. Sperm RNA'sı sperm anormalitesini ve infertilite kliniklerindeki canlılığı saptamak için, potansiyel bir belirteçtir. Yine de RNA kullanımı, tutarsız miktar, kalite, çoklu hücre semen türleri ve yoğunlaştırılmış sperm yapısı nedeniyle engellenmektedir.

Bu çalışmada, semenden ve matür spermde izole edilen yüksek RNA kalitesinin yararlılığı araştırılmak istenmiştir. Bu yöntemle 37°C'de semen ve protokol bileşenleri korunarak, işlem süresini azaltarak RNA degradasyonunun azalması sağlanmaktadır. Çalışmada tüm semen örneklerinin 83'ünden RNA izole edilmiş, 18 motil sperm örneği

swim-up protokolüne uyularak, 18 sperm örneği ise standart Percoll gradyant metoduna göre hazırlanmıştır.

RNA'nın elektroforetik ve spektral analizi sayesinde, 83 semen örneğinin 71'inde (%86) ve 18 matür sperm swim-up örneğinin 15'inde (%83) 18 S ve 28 S rRNA yüksek kalitede elde edilmiştir. Percoll gradyant metodundaki 18 sperm örneğinin sadece 7'sinden (%39) yüksek kalitede RNA elde edilebilmiş. Dört somatik ve 10 germ hücre belirtecinin nicel revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu analizi göstermiştir ki bütün semenler ve swim-up sperm örnekleri benzer RNA profiline sahiptir. RNA sıralaması göstermektedir ki kodlanan proteinler matür sperm fonksiyonu, DNA replikasyon, transkripsiyon, translasyon regülasyonu, hücre döngüsü ve embriyo gelişimini açığa çıkarmaktadırlar.

Sonuç olarak semen ve sperm spesifik RNA lar, germ hücre evreleri ve somatik hücre desteği için yüksek düzeyde bilgi veren belirteçlerdir. Bu nedenle bu RNA lar sperm canlılığı, fertilizasyon ve erken embriyogenezin değerli tanısal indikatörleridir. Bu sayede de in vitro fertilizasyon prognozunu öngörmede değerli bir prediktör olarak hizmet görebilirler.

Çeviri

Prof. Dr. Halil Başar, Dr. İsmail Selvi
Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Üroloji Kliniği