

UNIVERSITETI I PRISHTINËS” HASAN PRISHTINA”
FAKULTETI I BUJQËSISË DHE VETERINARISË
DEPARTAMENTI BIOTEKNOLOGJI NË ZOOTEKNIK



“Matja e ekspresionit të disa mikroARN-ve përmes qReal-Time PCR gjatë fazës së hershme të barrshmërisë në trupin e verdhë te gjedhi”

(Punim Diplome në Master)

Mentori-a:

Prof. Ass. Rreze Gecaj

Kandidati:

Agron Sllamniku

Prishtinë, 2022

Absrakti

Corpus luteum (CL) është një gjëndër kalimtare që prodhon hormonin e progesteronit, te gjedhi formohet nga qelizat e mbetura theke dhe granuloze, pas pelcites së folikules së Grafit. Ky hormon rregullon kohëzgjatjen e ciklit estral, por gjatë barrshmërisë mbështet mirëmbajtjen e saj, duke i siguruar embrionit kushte adekuate për zhvillim. Në rregullimin e funksionit të CL, siç është raportuar kohëve të fundit janë të implikuara edhe një grup i ARNve të shkurtra jokoduese të njohura si mikroARN (miARN).

Te gjedhi, gjatë barrshmërisë profilizimi i miARN-ve është bërë në plazmë duke mostruar atë nga dita e 8-të, 16-të dhe 24-të e barrshmërisë. Derisa niveli i ulët i miARNve në ekzome të gjedheve, të mbarësuar përmes transferimit të embrionve të klonuara është raportuar të jetë i asocuar me ndërprerje të herëshme të barrshmërisë. Përveç plazmës, te gjedhi miARN-të janë profilizuar edhe në CL nga dita e 17-të e barrshmërisë pas inseminimit artificial (IA). Kryesisht profilizimi i tyre është realizuar përmes sekuencimit të transkriptomes (ARNSeq) dhe pastaj validimin e mikroARN-ve me rregullim diferencial përmes qRT-PCR.

Për të validuar volumin e të dhënave të transkriptimit të krijuara nga sekuencimi i ARN-së (RNAseq), rezultatet analizohen më tej me qRT-PCR. Megjithëse disa studime kanë treguar se ekziston një korrelacion i shkëlqyer midis rezultateve të ARNseq dhe të dhënave të qRT-PCR, ka pak studime që tregojnë vlefshmërinë e këtij korelacioni në inde shumë dinamike siç është trupi i verdhë. Kështu, ky studim synon të vërtetojë disa nga transkriptet e zgjedhura të mikroARN-ve (miRNA) të rregulluara në mënyrë diferenciale në CL të barrshmërisë në krahasim me CL në regresion në mostra të tjera nga ato të përdorura për RNASeq.

Sipas rezultateve të nxjerra, tri miARNte e analizuar bta-miR-222-3p, bta-miR-29c-3p dhe bta-miR-2411 tregojnë të njëjtin trend të rregullimit me të dhënat e sekuencimit. Nga keto, bta-miR-222-3p tregon një rregullim signifikant me vlerë $p=0.016$ dhe është mbishprehur gjatë regresionit krahasuar me fazën e barrshmerisë, derisa bta-miR-29c-3p dhe bta-miR-2411 nuk janë të rregulluara në mënyrë signifikante.

Pas analizimit të rrugëve metabolike të pasuruar me gjene të targetuara nga bta-miR-222-3p, bta-miR-29c-3p dhe bta-miR-2411 është e evidente se disa nga rrugët metabolike të njohura për rëndësinë e etablimit të barrshmerisë në fazën e hershme si: rruga sinjalizuese e hormonit gonadotropik çlirues, rruga sinjalizuese e inteleukinës si dhe rruga sinjalizuese e faktorit të rritjes

që rrjedh nga trombocitet (PDGF) te cilat luajne një rol kritik në proliferimin dhe zhvillimin qelizor, kanë numrin me të lartë të gjeneve te targetuara nga këto miARN.

Gjithashtu bazuar në të dhenat nga ontologjia gjenike, rezulton se 83% e klaseve të proteinave që jan te implikuara, veprojne si rregullatorë transkriptues specifik për gjenet e targetuara nga miARN-të e analizuara.

Fjalët kyçe: Vezoret, Trupi i Verdhë, Barrshmëria, MikroARN-të, qRT-PCR.