

ELÄINMALLIN GENEETTISEN TAUSTAN VAIKUTUS ILMIASUUN: ESIMERKKINÄ USF1 JA SEN ROOLI HIIREN ITURADAN KANTASOLUSÄÄTELYSSÄ

Turun yliopisto
Lääketieteellinen tiedekunta
Biolääketieteen laitos
Syventävien opintojen opinnäyte

Laatija:
Sini Laasanen

16.9.2025
Turku

Turun yliopiston laatu järjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

Syventävien opintojen opinnäyte

Tutkinto-ohjelma, oppiaine: lääketieteen lisensiaatti

Tekijä: Sini Laasanen

Otsikko: Eläinmallin geneettisen taustan vaikutus ilmiasuun: Esimerkkinä USF1 ja sen rooli hiiren ituradan kantasolusäätelyssä

Ohjaaja: Dosentti Juho-Antti Mäkelä

Sivumäärä: 13 sivua

Päivämäärä: 16.9.2025

Miesten hedelmättömyys on yhtenä tai ainoana selittävänä tekijänä puolessa lapsettomuustapauksista. Uusien hedelmättömyyttä aiheuttavien geneettisten muutosten ja sairauksien tutkimiseksi käytetään usein eläinmalleja. Tyypillisesti malliorganismina käytetään hiirtä, sillä hiirten sukusolujen kehittyminen eli spermatogeneesi vastaa pääpiirteiltään ihmisen spermatogeneesiä. Hiirimalleja käytettäessä on kuitenkin huomioitava, että hiirten geneettisen taustan tiedetään vaikuttavan niiden ilmiasuun, eikä yhdellä kannalla tehtyjä tuloksia voida yleistää koskemaan kaikkia hiirikantoja ja edelleen ihmistä.

Tässä tutkimuksessa selvitettiin transkriptiotekijä USF1:n vaikutusta hedelmällisyyteen vertailemalla *Usf1*-geenin suhteen poistogeenisiä hiiriä villityypin hiiriin. USF1:n tutkiminen on tärkeää, sillä geenin on aiemmin havaittu liittyvän muun muassa kohonneeseen sydän- ja verisuonisairauksien riskiin. Lisäksi on raportoitu, että USF1:n poistaminen aiheuttaa ikääntyvillä C57BL/6-hiirikannan hiirillä siementiehyiden surkastumista, mikä viittaa sen mahdolliseen vaikutukseen siittiötuotannossa. Tämän vuoksi USF1:n rooli hedelmällisyydessä on syytä selvittää tarkemmin, erityisesti ennen sen mahdollisia sovelluksia esimerkiksi lääkekehityksessä. Tutkimuksemme tavoitteena oli vahvistaa ja laajentaa aiempia havaintoja tarkastelemalla poistogeenisyyden vaikutuksia toisessa geneettisessä taustassa, DBA/2J-hiirikannassa. Tätä varten analysoimme hiirten yleisiä ominaisuuksia, kuten painoa, sekä hedelmällisyyttä kuvaavia tekijöitä: kivesten painoa, siittiöiden määrää ja siementiehyiden histologista rakennetta. Tavoitteena oli arvioida, toistuuko poistogeenisyyden aiheuttama siementiehyiden surkastuminen ja muut hedelmällisyyteen liittyvät muutokset myös DBA/2J-hiirikannassa, vai liittyvätkö aiemmat havainnot nimenomaan C57BL/6-kannan geneettiseen taustaan.

Poistogeenisyys aiheutti siittiötuotannon heikentymiseen viittaavia muutoksia erityisesti ikääntyneissä hiirissä. Poistogeeniset hiiret olivat villityypin hiiriä pienempiä, niiden kivesten massa oli pienempi ja niiden siittiömäärät verrokkejaan alhaisempia. Histologisissa näytteissä havaittiin ikääntyvien hiirten siementiehyissä surkastumista, joskin surkastuminen oli niin vähäistä, että siittiömäärät pysyivät hedelmällisyyden säilyttävällä tasolla. Erot poistogeenisten ja villityypin hiirten välillä olivat kuitenkin pienempiä ja ilmaantuivat myöhemmin, kuin C57/BL6-kannalla tehdyissä tutkimuksissa. Tämän tutkimuksen perusteella voidaan todeta, että USF1:n puuttuminen vaikuttaa hiirten spermatogeneesiin heikentävästi, mutta vaikutusten voimakkuus riippuu käytetystä hiirikannasta.

Avainsanat: hedelmättömyys, USF1, eläinmallit

Sisällysluettelo

JOHDANTO	3
AINEISTO JA MENETELMÄT	4
Hiiret	4
Genotyyppaus.....	4
Paino.....	5
Dissektio ja kudosten fiksointi	5
Immunofluoresenssivärjäykset	5
Siittömäärä	6
TULOKSET	6
Paino.....	7
Kivesten paino	7
Siittömäärä ja siementiehyiden epiteelin degeneraatio	9
POHDINTA	11
VIITTEET	13

JOHDANTO

Miehen sukusolut eli siittiöt muodostuvat ituradan kantasoluista spermatogeneesiksi kutsutussa tapahtumasarjassa kiveksen siementiehyissä¹. Toimiva ja riittävän aktiivinen spermatogeneesi on edellytys miehen koko aikuisiän kestäväälle hedelmällisyydelle. Ihmisen spermatogeneesiä mallinnetaan usein hiirellä, koska siittiöiden tuotanto ja sen säätely hiiressä muistuttaa merkittävältä osin vastaavia tapahtumia ihmisessä. Spermatogeneesistä vastuussa olevat ituradan kantasolut, joita hiiressä kutsutaan A-single -spermatogonioiksi, voivat jakautuessaan monistaa itseään tai muodostaa hieman erilaistuneempia kahden solun spermatogonioketjuja (A-paired -spermatogoniot), joissa soluja yhdistää solulimasilta. A-paired -spermatogoniot jakautuvat edelleen muodostaen neljän, kahdeksan ja kuudentoista solun ketjuja. Soluketjut erilaistuvat retinoidihapon vaikutuksesta tyyppin A1 erilaistuviksi spermatogonioiksi. Varsinainen spermatogeneesi koostuu kolmesta (1-3) vaiheesta, joista ensimmäisessä erilaistuvat A1-spermatogoniot jakautuvat mitoottisesti (1) muodostaen tyyppin A2-A4-, välimuotoisia ja lopulta tyyppin B-spermatogonioita.² Mitoottisten jakautumisten jälkeen muodostuu spermatosyyttejä, jotka käyvät läpi meiosisin (2), jonka seurauksena syntyy haploideja spermatidejä. Lopullisen muotonsa ja toimintakykynsä erilaistuvat koiraan sukusolut saavuttavat spermiogeneesissä (3), jossa spermatidien tuma tiivistyy muodostaen siittiön pään, sytoplasman tilavuus vähenee merkittävästi, ja niille kasvaa liikkumisen mahdollistava häntä.

Spermatogeneesin eteneminen siementiehyissä on tarkasti säädeltyä. Vaihespesifisten säätelytekijöiden ilmentyminen saa aikaan sekä sukusolujen erilaistumisen että ylläpitää riittävää kantasolupopulaatiota. Monet keskeisistä säätelytekijöistä, kuten FSH:n (follikkeleita stimuloiva hormoni) säätelemä GDNF (glial cell line-derived neurotrophic factor), erittyvät kiveksen somaattisista soluista, ml. Sertolin solut. Lisäksi sekä Sertolin soluissa että ituradan soluissa ilmentyvät transkriptiotekijät vaikuttavat spermatogeneesin ylläpitoon ja säätelyyn. Näiden säätelytekijöiden puuttuminen tai vähentynyt ilmentyminen voivat johtaa siittiötuotannon häiriöihin ja miehen tai koiraan hedelmättömyyteen. Miehen hedelmättömyys onkin yhtenä tai ainoana selittävänä tekijänä noin 50 prosentissa lapsettomuustapauksista, mikä tekee spermatogeneesistä ja siihen vaikuttavista tekijöistä mielenkiintoisia tutkimuskohteita. Arviolta 10-15% pariskunnista kärsii lapsettomuudesta³.

Tutkimusryhmämme on aiemmin osoittanut, että Sertolin soluissa ja spermatogonioissa ilmentyvän USF1-transkriptiotekijän (Upstream stimulatory factor 1) poistaminen heikentää hiiren

siittiötuotantoa⁴. Siittiötuotanto väheni hiirten ikääntyessä, mikä osoittaa USF1:n välttämättömyyden kantasolujen uusiutumisen. Lisäksi poistogeenisten hiirten huomattiin olevan verrattain pienikokoisia. Spermatogeneesivaikutuksen lisäksi USF1:n tiedetäänkin osallistuvan useiden eri elinjärjestelmien biologisiin prosesseihin muun muassa säätelemällä glukoosi- ja lipidiaineenvaihduntaa, ja sen onkin osoitettu olevan keskeisessä roolissa erilaisten sydän- ja verisuonisairauksien, kuten familiaalisen kombinoitun hyperlipidemian ja sepelvaltimotaudin patogeenisissä, tehden siitä potentiaalisen kohdemolekyylin lääkeaineille^{5,6}. Ennen mahdollista lääkekehitystä olisi kuitenkin tutkittava tarkemmin USF1:n vaikutusta hedelmällisyyteen.

Tämän syventävien opintojen tutkimuksen tarkoituksena on selvittää *Usf1*-geenin poistamisen vaikutuksia DBA/2J-hiirikannassa ja vertailla tuloksia C57/BL6-kannalla tehtyyn tutkimukseen⁴, jotta aiemmassa tutkimuksessa havaittujen erojen voidaan todeta johtuvan *Usf1*-geenin poistamisesta ja olevan riippumattomia käytetystä hiirikannasta. Poistogeenisyyden vaikutuksia tutkitaan vertailemalla hiirten painoa, kivesten painoa, siittiöiden määrää sekä kivesten histologiaa.

AINEISTO JA MENETELMÄT

Hiiret

Tutkimuksessa käytettiin DBA/2J-kannan hiiriä (Envigo, Venray, Hollanti, eläinkoelupa KEK/2009-1206-Kotaja). Tutkittavat *Usf1*-poistogeeniset (*Usf1* KO) hiiret luotiin risteyttämällä DBA/2J-kannan villityypin naaraita C57/BL6J-kantaa olevien *Usf1* KO -linjan poistogeenisten koiraiden kanssa (Faisal ym. 2019) vähintään kahden sukupolven ajan niin, että C57/BL6J -geneettisen taustan osuus tutkittavissa hiirissä oli enintään 25 prosenttia.

Genotyypaus

Hiirten genotyypaus tehtiin korva- tai häntäpaloista eristetystä DNA:sta. DNA-eristyksessä kudospaloja inkuboitii 75 mikrolitrassa lyysauspuskuriin (25 mM NaOH, 0,2 mM EDTA dH₂O:ssa, pH 12) 30 minuuttia +95°C:ssa ravistajassa, mitä seurasi 5 minuutin inkubaatio +4°C-asteessa. Inkubaatioiden jälkeen näytteisiin lisättiin 75 mikrolitraa Tris-HCl:aa (40nM, pH 5) ja näytteitä sentrifugoitiin 3 minuuttia, 6000 rpm, RT. Sentrifugoinnin jälkeen näytteistä siirrettiin puhtaaseen Eppendorf-putkeen 100 mikrolitraa supernatanttia, joka sisälsi eristetyn DNA:n. PCR:n 25 mikrolitran reaktiivilavuus koostui 1 mikrolitrasta DNA-näytettä, 17,3 µl:aa steriilivettä, 2,5 µl:aa 10x Dream Taq Green -puskuriin (Thermo Scientific™, EP0714), 0,25 µl:aa dNTP-100µM, 2 µl:aa *Usf1* A-aluketta, 1 µl:aa sekä *Usf1* B- että *Usf1* C-aluketta ja 0,125 µl:aa Dream Taq DNA-polymeraasia

(Thermo Scientific™, EP0702). PCR-reaktio koostui 30 sekunnin denaturaatiosta 94°C:ssa, 15 sekunnin annealing-vaiheesta 68°C-asteessa ja 60 sekunnin elongaatiovaiheesta 72°C-asteessa. Sykliä toistettiin 38 kertaa. Genotyypauksen lisäksi tutkittujen hiirten kivesleikkeille tehtiin immunofluoresenssivärjäykset USF1- (USF1, ab180718, 1:500) ja WT1-vasta-aineilla (WT1, sc-15421, 1:100) genotyypin varmistamiseksi.

Usf1 primer A	GCGCAGTGGTACTGGAGAGGA
Usf1 primer B	TGACGCGCCGCTGTAAAGTGTTA
Usf1 primer C	ACCCCAAACCCAGGCGGCA

Taulukko 1. Genotyypauksessa käytettyjen alukkeiden sekvenssit.

Paino

Hiiret punnittiin 7 ja 35 vuorokauden, sekä 2, 4, 6 ja 9-12 kuukauden ja 1-2 vuoden ikäisinä. Lisäksi hiirten kivekset punnittiin, ja niistä merkittiin ylös sekä yhteispaino että kummankin kiveksen paino erikseen.

Dissektio ja kudosten fiksointi

Hiiret tainnutettiin hiilidioksidilla ja lopetettiin katkaisemalla niiden kaularanka. Lopettamisen jälkeen hiiret punnittiin. Vatsanahka sekä vatsakalvo leikattiin auki, minkä jälkeen kivekset ja lisäkivekset irrotettiin ja puhdistettiin rasvakudoksesta. Lisäkiveksen cauda-osat dissekoitiin ja siirrettiin PBS:ään siittiömäärän laskentaa varten. Kivekset punnittiin, minkä jälkeen toinen kiveksistä fiksoitiin 4 %:ssa PFA:ssa (paraformaldehydi) ja toinen Bouin-liuoksessa 24 tunnin ajan. Sen jälkeen Bouin-liuoksessa fiksoidut kivekset siirrettiin näytekasettiin parafiinivalua varten ja niitä pestiin usean tunnin ajan juoksevilla hanavedellä. Pesun jälkeen Bouin-fiksoidut kivekset siirrettiin 50% etanoliin vuorokaudeksi, minkä jälkeen näytteet siirrettiin 70% etanoliin. PFA-fiksoidut näytteet siirrettiin 24 tunnin PFA-inkubaation jälkeen 70% etanoliin. Lopuksi näytteet valettiin parafiiniin.

Immunofluoresenssivärjäykset

Kivesten histologian tarkastelemiseksi leikattiin mikrotomilla 5 mikrometrin paksuisia parafiiniin valettuja kivesleikkeitä. Ennen värjäystä parafiini poistettiin inkuboimalla leikkeitä ksyleenissä (3 x 5 minuuttia) ja etanolissa (laskeva sarja, 2x10 minuuttia per pitoisuus). Antigeenipaljastuksessa käytettiin sitraattipuskuria (pH 6,00, pitoisuus 10 mM) 120°C:ssa, 20 minuuttia. Epäspesifinen sitoutuminen estettiin inkuboimalla näytteitä blokkauksliuoksessa (10 % BSA (vasikan seerumin

albumiini; bovine serum albumin) 0,1 % PBS-Triton X-100:ssa) 1 tunti, RT. Ensiövasta-aineet (USF1, ab180718, 1:500 ja WT1, sc-15421, 1:100, SOX9 AB5535, 1:400, PNA RL-1072, 1:200, SCP3 ab150292, 1:200) laimennettiin blokkauслиuokseen ja inkuboitii yon yli +4°C-asteessa. Myös toisiovasta-aineet (Alexa Fluor donkey-anti-goat-488 A10040, Alexa Fluor donkey-anti-rabbit-546 A11055, 1:500) laimennettiin blokkauслиuokseen ja näytteitä inkuboitii 1 tunti, RT. Sekundaarivasta-aineinkubaation jälkeen näytteet värjättii DAPI:lla (4',6-diamidino-2-fenyylindoli, tumavasta-aine), joka laimennettiin PBS:ään (1:10 000) ja inkuboitii 10 minuuttia, RT. Näytteet päällystettiin peittäusaineella (Invitrogen™, ProLong™ Diamond Antifade Mountant with DAPI, P36962) ja niitä kuivatettiin vuorokausi +20°C:ssa, minkä jälkeen näytteitä säilytettiin valolta suojattuna +4°C:ssa. Näytteet kuvattiin Panoramic Midi Fluorescence Slide -skannerilla (3D Histech, 40X).

Siittiömäärä

Hiirten siittiömäärät laskettiin 2-, 4-, 6- sekä 9–12-kuukauden iässä. Lisäkiveksen cauda-osa irrotettiin ja siirrettiin 2 millilitraan PBS:ää petrimaljalle. Caudaan tehtiin soluviljelymaljalla 4 poikittaista ja 1 pitkittäinen viilto, minkä jälkeen se siirrettiin 30 minuutiksi +37°C-asteeseen. Inkubaation jälkeen näytettä pipetoitiin edestakaisin sen homogenisoimiseksi ja siittiöt laskettiin Bürker-laskentakammion avulla.

Tilastolliset menetelmät

Ryhmien välisiä eroja arvioitiin vertaamalla villityypin ja poistogeenisten hiirten tuloksia eri aikapisteissä. Aineiston jakaumia tarkasteltiin visuaalisesti sekä Q-Q -plottien ja box-plot -kuvioden avulla, ja muuttujien havaittiin olevan likimain normaalisti jakautuneita. Tämän perusteella ryhmävertailuissa käytettiin paritonta Studentin t-testiä.

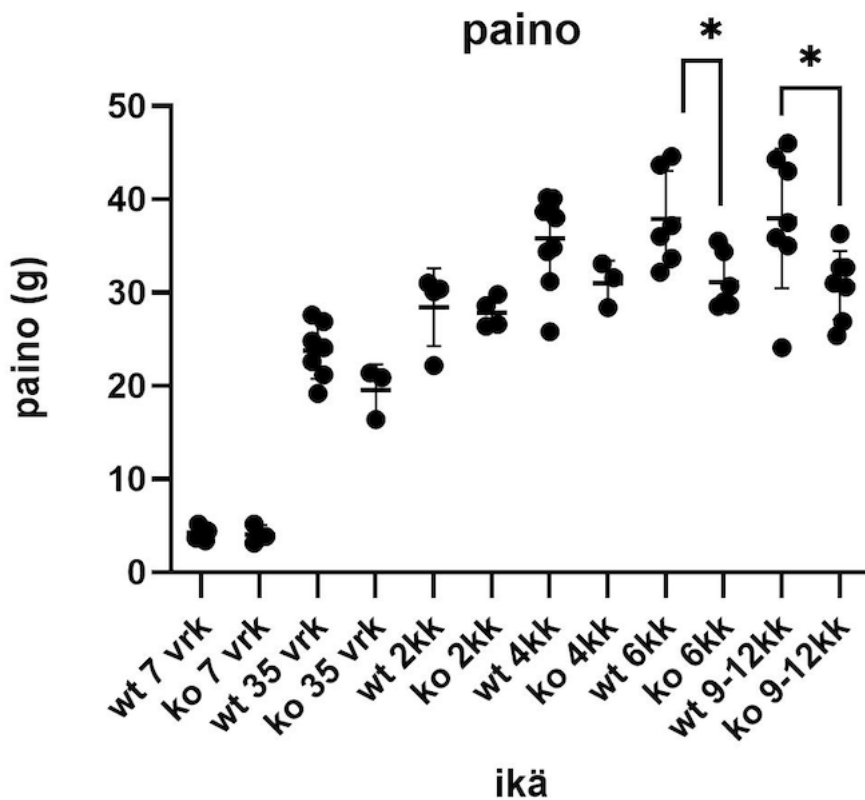
Tilastollisen merkitsevyyden rajana pidettiin $p < 0,05$. Kaikki analyysit suoritettiin käyttäen GraphPad Prism -ohjelmistoa.

TULOKSET

Tutkimuksessa käytettiin 77 hiirtä, joista 34 (44,2 %) oli poistogeenisiä ja 43 (55,8 %) kontrolleja eli normaaleja verrokkeja *Usf1*-geenin suhteen. Jokaisessa aikapisteessä tarkasteltiin vähintään kolmea hiirtä kummastakin ryhmästä.

Paino

Hiiret punnittiin 7 ja 35 vuorokauden, sekä 2, 4, 6 ja 9-12 kuukauden ikäisinä. Painodata oli likimain normaalisti jakautunutta (visuaalinen havainnointi, Q-Q-plot, box-plot) molemmissa ryhmissä. Lukuun ottamatta 7 vuorokauden aikapistettä, poistogeeniset hiiret olivat keskimäärin pienempiä kuin villityypin verrokkihiiret. Erot villityypin ja poistogeenisten hiirten välillä olivat tilastollisesti merkitseviä (pariton t-testi) 6 kuukauden, ($p=0,0201$) ja 9-12 kuukauden ($p=0,0421$) (Kuva 1).

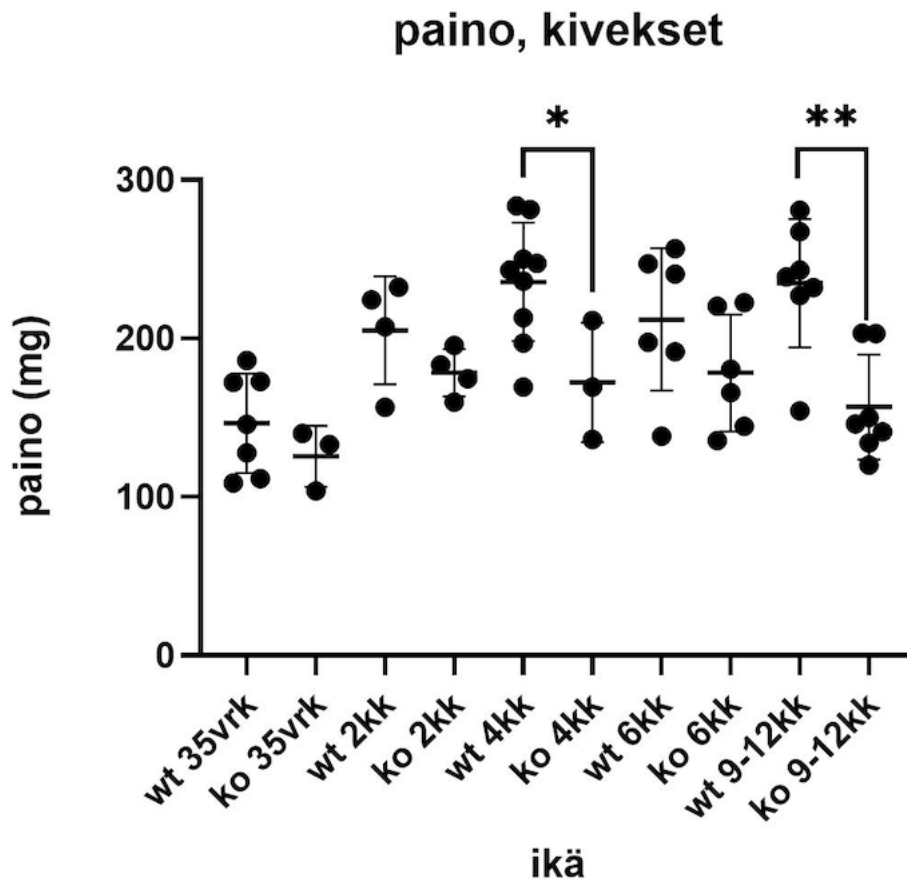


Kuva 1. Poistogeeniset hiiret olivat villityyppiin verrattuna pienikokoisempia. Erot painossa havaittiin 35 vuorokauden aikapisteestä eteenpäin, tilastollisesti merkitsevä ero painoissa havaittiin myöhäisissä aikapisteissä. * $p<0,05$; $n=3-9$

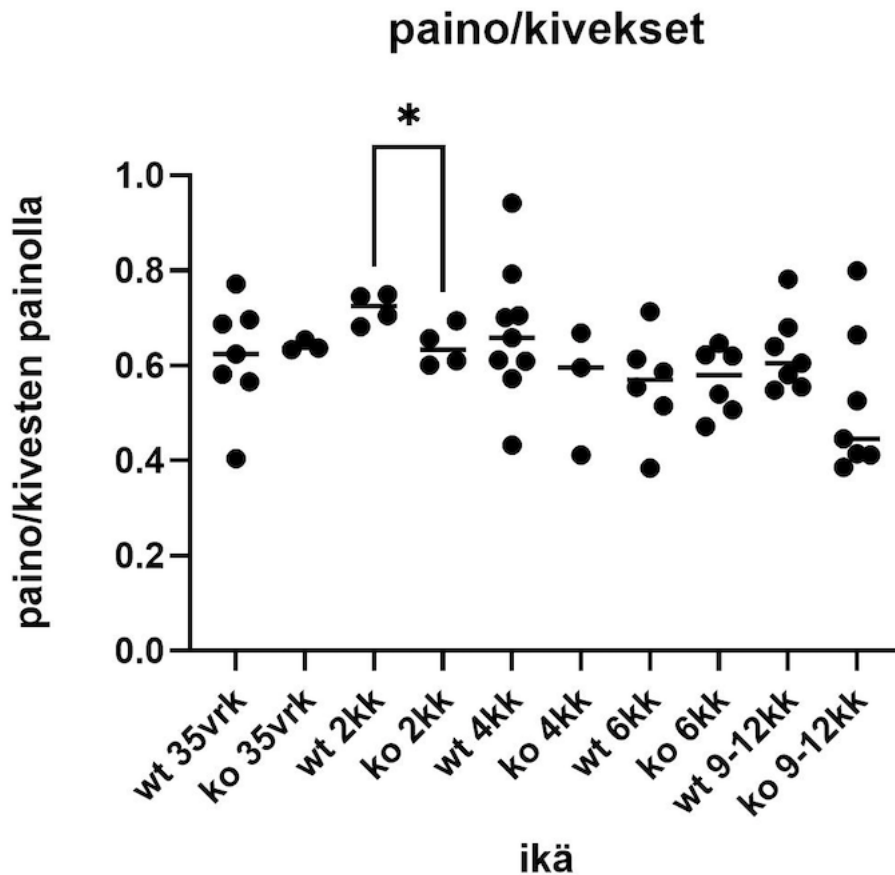
Kivesten paino

Kivesten painoja tarkasteltiin 35 vuorokauden sekä 2, 4, 6 ja 9-12 kuukauden aikapisteissä. Kivesten painodata oli likimain normaalisti jakautunutta (visuaalinen havainnointi, Q-Q-plot, box-plot) molemmissa ryhmissä. Havaitut erot kivesten painossa olivat tilastollisesti merkitseviä

(pariton t-testi) 4 kuukauden ($p=0,0294$) ja 9-12 kuukauden ($p=0,0019$) ikäisillä hiirillä, minkä lisäksi jokaisen aikapisteen pienimmät kivekset havaittiin poistogeenisten hiirten ryhmässä (Kuva 2). Tutkituista hiiristä laskettiin myös niin sanottu gonadosomaattinen indeksi (GSI), joka havainnollistaa sukurauhasten suhteellista kokoa verrattuna hiiren painoon. Korkea GSI viittaa aktiiviseen sukusolutuotantoon, matala epäaktiiviseen tuotantoon. Merkitsevä ero gonadosomaattisissa indekseissä havaittiin kahden kuukauden aikapisteessä.



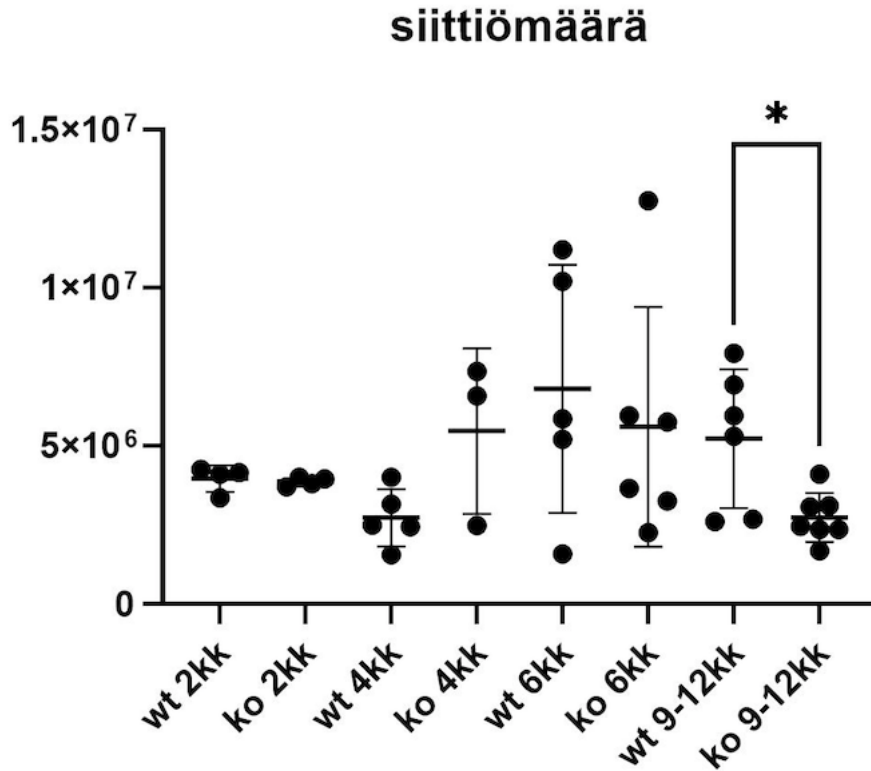
Kuva 2. Kiveksen painot eri aikapisteissä. Kivekset punnittiin sukukypsiltä hiiriltä. Poistogeenisten hiirten kivekset olivat villityypin kiveksiä pienempiä kaikissa aikapisteissä silmämääräisesti arvioituna, tilastollisesti merkitsevä ero havaittiin 4 ja 9-12 kuukauden aikapisteissä. * $p<0,05$; ** $p<0,01$; $n=3-9$



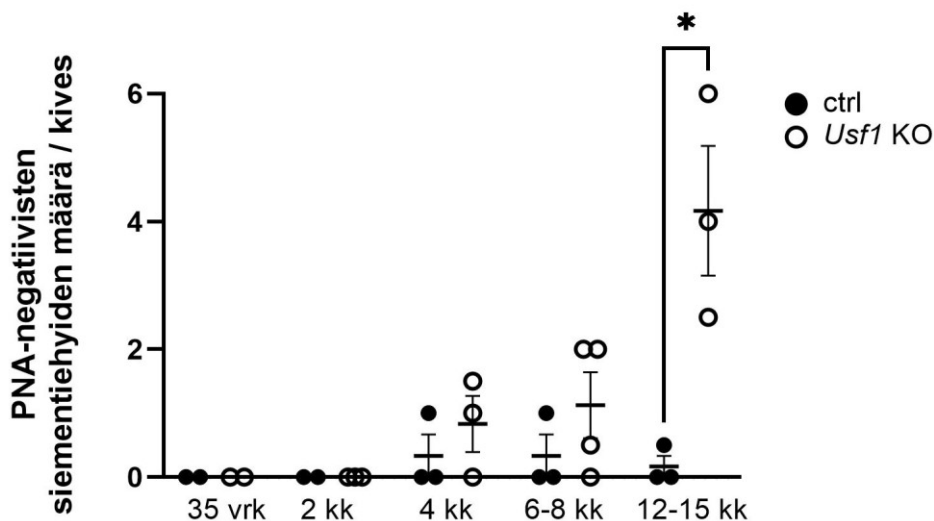
Kuva 3. Kivesten suhteellinen paino hiiren kokonaispainosta, niin sanottu gonadosomaattinen indeksi. * $p < 0,05$; $n = 3-9$

Siittiömäärä ja siementiehyiden epiteelin degeneraatio

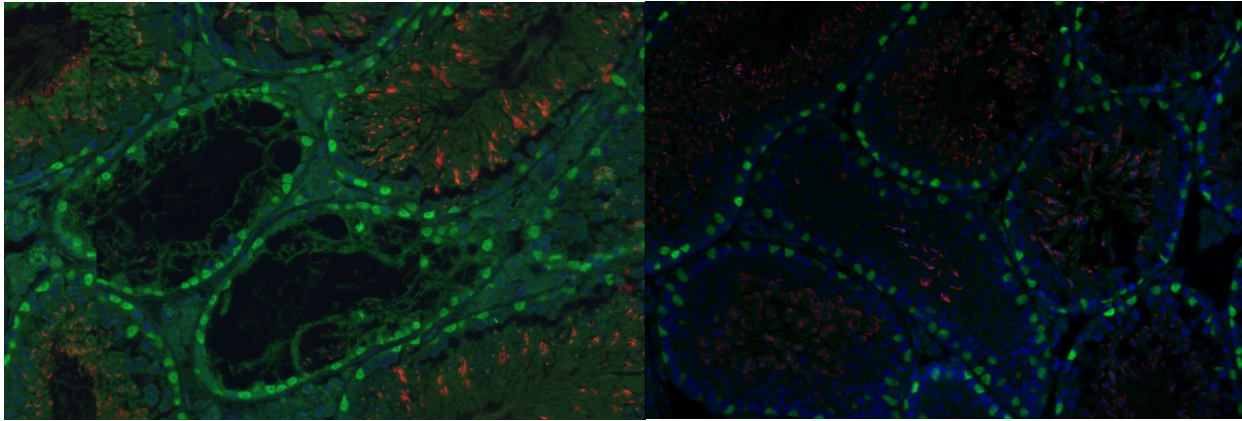
Siittiömäärät laskettiin 2, 4, 6 ja 9-12 kuukauden ikäisiltä hiiriltä. Erot siittiömäärissä olivat tilastollisesti merkitseviä (pariton t-testi) vain 9-12 kuukauden aikapisteessä ($p = 0,0163$). Histologian perusteella spermatogeneesi kuitenkin päättyy osassa poistogeenisten hiirten siementiehyitä jo aiemmin, vaikka merkitseviä eroja siittiömäärissä ei havaittukaan. Spermatogeneesihäiriön tarkemman luonteen selvittämiseksi tulee tarkastella, missä spermatogeneesin vaiheessa, ja mihin solutyyppeihin häiriö vaikuttaa. Kivesleikkeille tehtiin värjäyksiä SOX9-, SCP3- ja PNA-vasta-aineilla. SOX9 on Sertolin solu -markkeri, SCP3 sitoutuu meiosisissa osaksi synaptoneemalista kompleksia ja PNA sitoutuu spermatidien akrosomiin. Poistogeenisten hiirten siemenepiteelissä havaittiin iän mukana lisääntyvää surkastumista (SCP3- ja PNA-negatiivisia siementiehyitä), jossa yksi tai useampi solukerros puuttuu (Kuva 5-6).



Kuva 4. Spermatogeneesiaktiivisuuden mittaamiseksi laskettiin lisäkivespreparaateista vapautuneiden siittiöiden määrä. Poistogeenisten hiirten siittiömäärät olivat matalampia ja erot kasvavat hiirten ikääntyessä, tilastollisesti merkittävä ero havaittiin 9-12 kuukauden aikapisteessä. * $p < 0,05$; $n = 3-7$



Kuva 5. Normaalisti toimivissa siementiehyissä tiehyen lumen värjäytyy PNA:lla, joka sitoutuu spermatoosyyttien akrosomiin. PNA-negatiiviset siementiehyet havainnollistavat solukerrostien puuttumista ja spermatogeneesin hiljentymistä poistogeenisten hiirten siementiehyissä. PNA-negatiivisten tiehyiden osuus oli suurempi poistogeenisillä hiirillä. Spermatogeneesi toimii kuitenkin normaalisti suurimmassa osassa kivistä myös poistogeenisillä hiirillä, mikä takaa siittiömäärä pysyy hedelmällisyyden mahdollistavalla tasolla. * $p < 0,05$; $n = 2-4$



Kuva 6. PNA-negatiivisia siementiehyitä *Usf1*-poistogeenisen hiiren kiveksessä (vasen). Oikealla nähdään villityypin hiiren kiveshistologiaa samassa aikapisteessä. Värjäyksessä PNA-signaali on punainen.

POHDINTA

Tässä tutkimuksessa selvitettiin *Usf1*-poistogeenisyyden vaikutuksia hiirten hedelmällisyyteen DBA/2J-hiirikannassa. Aiemmassa tutkimuksessamme *Usf1*-geenin koodaaman USF1-transkriptiotekijän puuttumisen havaittiin vähentävän C57Bl/6J-taustaa olevien hiirten siittiötuotantoa (Faisal ym. 2019). Siittiötuotannon heikentymistä havaittiin 12 viikon aikapisteestä alkaen, ja se heikkeni entisestään hiirten ikääntyessä. Havaintoja tuki sekä siittiömäärän lasku että kiveshistologia. Poistogeenisten hiirten kivesleikkeitä analysoidessa havaittiin merkittävää surkastumista siementiehytepiteelissä. Surkastumisen taustan selvittämiseksi tarkasteltiin kahta solutyypin: Sertolin soluja ja spermatogonioita, joissa USF1 normaalisti ilmentyy ja jotka ovat olennaisessa roolissa spermatogeneesissä. Poistogeenisyys ei vaikuttanut Sertolin solujen lukumäärään tai kypsymiseen. Spermatogoniovaikutuksen selvittämiseksi tutkittiin erilaistuvien spermatogonioiden määrää ja havaittiin niiden vähentyvän poistogeenisissä hiirissä. Tarkka mekanismi, jolla USF1 vaikuttaa kantasolujen määrän vähenemiseen, on vielä selvittämättä, mutta USF1:n tiedetään olevan kasvua rajoittavien geenien säätelijä, jolloin USF1:n puuttuminen johtaisi hallitsemattomaan jakautumiseen ja lopulta kantasolujen loppumiseen. Kantasoluvaikutuksen lisäksi poistogeenisyyden havaittiin vaikuttavan negatiivisesti hiirten ja kivesten kasvuun (Faisal ym. 2019).

Tässä tutkimuksessa *Usf1*-geenin poistamisen vaikutuksia tutkittiin DBA/2J-kannassa ja havaittiin vastaavia muutoksia kuin aiemmassa tutkimuksessamme, jossa käytettiin C57Bl/6J-kantaa, joskin

ilmiasu oli lievempi. Tämä osoittaa, että yksittäisen geenin poistamisen vaikutusten penetranssi riippuu käytetystä hiirikannasta eli hiirten geneettisestä taustasta. Tämä ilmiö on havaittu useasti eri tutkimuksissa. Geneettisen taustan vaikutus voi aiheuttaa saman geenin suhteen poistogeenisissä kannoissa voi aiheuttaa eroja ilmiasun penetranssissa tai eroja fenotyypin voimakkuudessa tai jopa täysin erilaiset fenotyypit.⁷ Esimerkiksi kystisen fibroosin tutkimiseksi tuotettujen poistogeenisten hiirimallien välillä on suuria eroja sairausfenotyypin ilmentymisessä. Tämän tutkimuksen tulosten perusteella voidaan päätellä, että geneettisellä taustalla on merkitystä siinä, minkä ikäisissä hiirissä spermatogeneesihäiriöt ja siementiehyiden muutokset ilmenevät silloin, kun *Usf1*-geeni on poistettu. C57Bl/6J -kannassa muutokset olivat selkeitä jo 12 viikon aikapisteessä ja erot suurempia kuin DBA/2J-kannassa. Erilaiset fenotyypit hiirikantojen välillä voivat selittyä esimerkiksi erilaisten säätelygeenien avulla. On mahdollista, että DBA/2J-kannassa jokin geeni lisää esimerkiksi USF2-transkriptiotekijän ilmentymistä. USF2:n biologisten vaikutusten on osoitettu olevan osittain päällekkäisiä USF1:n kanssa. Tämä lisääntynyt ilmentyminen tai toisaalta USF2:n kyky muodostaa ja toimia homodimeerinä voisi osaltaan kompensoida USF1:n puuttumista ja ylläpitää normaalia spermatogeneesiä poistogeenisissä hiirissä pidempään C57/BL6-kantaan verrattuna.⁸

USF1:n vaikutusmekanismit ja kohdesolut spermatogeneesissä ovat vielä epävarmoja. Nykyiset tutkimukset kuitenkin osoittavat, että USF1:llä on keskeinen rooli kantasolujen jakautumisen säätelyssä ja että säätelyn häiriintyessä kantasolureservin lähentyminen johtaa spermatogeneesin loppumiseen osassa siementiehyistä käytetystä hiirikannasta riippumatta. Tarkan vaikutusmekanismin selvittäminen on tärkeää erityisesti lääkekehityksessä, jotta mahdolliset vaikutukset miehen hedelmällisyyteen osataan ottaa huomioon.

VIITTEET

1. De Kretser, D. M., Loveland, K. L., Meinhardt, A., Simorangkir, D. & Wreford, N. Spermatogenesis. *Human Reproduction* **13**, 1–8 (1998).
2. All You Wanted to Know About Spermatogonia but Were Afraid to Ask. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/j.1939-4640.2000.tb03408.x>.
3. Tüttelmann, F., Ruckert, C. & Röpke, A. Disorders of spermatogenesis: Perspectives for novel genetic diagnostics after 20 years of unchanged routine. *Medizinische Genetik* **30**, 12 (2018).
4. Faisal, I. *et al.* Transcription Factor USF1 Is Required for Maintenance of Germline Stem Cells in Male Mice. *Endocrinology* **160**, 1119–1136 (2019).
5. Shoulders, C. C. & Naoumova, R. P. USF1 implicated in the aetiology of familial combined hyperlipidaemia and the metabolic syndrome. *Trends Mol Med* **10**, 362–365 (2004).
6. Laurila, P. P. *et al.* USF1 deficiency activates brown adipose tissue and improves cardiometabolic health. *Sci Transl Med* **8**, (2016).
7. Doetschman, T. Influence of Genetic Background on Genetically Engineered Mouse Phenotypes. *Methods Mol Biol* **530**, 423 (2009).
8. Hermann, B. P., Hornbaker, K., Rice, D. A., Sawadogo, M. & Heckert, L. L. In Vivo Regulation of Follicle-Stimulating Hormone Receptor by the Transcription Factors Upstream Stimulatory Factor 1 and Upstream Stimulatory Factor 2 Is Cell Specific. *Endocrinology* **149**, 5297–5306 (2008).