

Ευάγγελος Δεδεψίδης

**ΕΜΒΟΛΙΑΚΑ ΣΤΕΛΕΧΗ ΠΟΛΙΟΪΩΝ - ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΩΝ ΜΕ
ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΕΙΣ RNA ΔΟΜΕΣ**

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Π. ΜΑΡΚΟΥΛΑΤΟΣ (ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ): Αναπληρωτής Καθηγητής Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας με έμφαση στη Βιοτεχνολογία, Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Π.Θ.

Ζ. ΜΑΜΟΥΡΗΣ: Καθηγητής Γενετικής Ζωικών Πληθυσμών, Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Π.Θ.

Κ. ΣΤΑΘΟΠΟΥΛΟΣ: Επίκουρος Καθηγητής Βιοχημείας με έμφαση στη μεταβολική ρύθμιση, Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Π.Θ.

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Ζ. ΜΑΜΟΥΡΗΣ: Καθηγητής Γενετικής Ζωικών Πληθυσμών, Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Π.Θ.

Δ. ΚΟΥΡΕΤΑΣ: Καθηγητής Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Π.Θ.

Ν. ΚΑΤΗΣ: Καθηγητής Ιολογίας Φυτών, Γεωπονική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Μ. ΑΡΣΕΝΑΚΗΣ: Καθηγητής Μικροβιολογίας εκτός Ιατρικής Μικροβιολογίας Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Π. ΜΑΡΚΟΥΛΑΤΟΣ: Αναπληρωτής Καθηγητής Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας με έμφαση στη Βιοτεχνολογία, Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Π.Θ.

Κ. ΣΤΑΘΟΠΟΥΛΟΣ: Επίκουρος Καθηγητής Βιοχημείας με έμφαση στη μεταβολική ρύθμιση, Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Π.Θ.

Δ. ΚΟΜΙΩΤΗΣ: Επίκουρος Καθηγητής Οργανικής Χημείας με έμφαση στη σύνθεση Βιοδραστικών Μορίων, Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Π.Θ.

Περίληψη

Αρχικά, στα πλαίσια της συγκεκριμένης διατριβής, επιχειρήθηκε η ανίχνευση

μεταλλάξεων και ανασυνδυασμών στη VP1 γενωμική περιοχή, εμβολιακής προέλευσης, στελεχών πολιοϊών. Συμπερασματικά, κάποια στελέχη από αυτά που μελετήθηκαν, παρουσίασαν διαφορετικό πρότυπο εξέλιξης στην VP1 περιοχή, από το αναμενόμενο. Στα συγκεκριμένα στελέχη φαίνεται να προτιμούνται οι μη συνώνυμες μεταλλάξεις, οι οποίες θα οδηγήσουν σε αμινοξικές αλλαγές σε δομικά στοιχεία της VP1 (αντιγονικές θέσεις, αύλακα), καθώς και μεταλλάξεις που οδηγούν σε αύξηση της νευρομολυσματικότητας των συγκεκριμένων στελεχών, έναντι των συνώνυμων οι οποίες δεν οδηγούν σε αύξηση της αρμοστικότητας. Το συγκεκριμένο πρότυπο μεταλλάξεων επιτρέπει στον ιό να πολλαπλασιάζεται και να εξελίσσεται για περισσότερο χρόνο, αποφεύγοντας την άνοση απόκριση του ξενιστή.

Παράλληλα, ολοκληρώθηκε η αλληλούχιση του γενώματος δύο ανασυνδυασμένων στελεχών που παρουσίαζαν ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Το πρώτο στέλεχος, 7/b/97, ταυτοποιήθηκε ως cVDPV τύπου 1 και ήταν προϊόν ανασυνδιασμού μεταξύ εμβολιακού στελέχους Sabin 1 και εντεροϊού που ανήκει στην ομάδα C. Το συγκεκριμένο στέλεχος παρουσίασε απόκλιση (1,87%) από το πρότυπο εμβολιακό στην VP1 καψιδιακή περιοχή, γεγονός που μαρτυρά ότι το συγκεκριμένο στέλεχος κυκλοφορούσε σε περιοχή ελεύθερη από πολιοϊούς για περίπου 2 χρόνια. Παρόμοια στελέχη στο παρελθόν ευθύνονταν για αρκετές επιδημίες εξαιτίας της νευρομολυσματικότητάς τους και της αυξημένης ικανότητάς τους για μετάδοση μεταξύ ξενιστών.

Το δεύτερο στέλεχος που αλληλουχήθηκε σε όλο το γονιδίωμά του (K/2002), παρουσίασε ανασυνδυασμό τύπου S3/S2 στην καψιδιακή περιοχή VP1, γεγονός πολύ σπάνιο, καθώς είναι μόλις το τρίτο στέλεχος που απομονώνεται. Το ιδιαίτερο στην δική μας περίπτωση ήταν ότι η ηλικία του ιικού στελέχους K/2002 ήταν μεγαλύτερη από την ηλικία του ασθενή από τον οποίο απομονώθηκε. Συγκεκριμένα το ιικό στέλεχος ήταν 11 μηνών, ενώ ο ασθενής μόλις 4 μηνών. Αυτό το γεγονός καταδεικνύει ότι το συγκεκριμένο στέλεχος έχει κυκλοφορήσει στον πληθυσμό και εγείρονται ερωτήματα για την ασφάλεια του εμβολίου OPV.

Προκειμένου να καθοριστεί η σχέση που μπορεί να συνδέει την αυξημένη συχνότητα εμφάνισης ανασυνδυασμών τύπων Sabin 3/ Sabin x (x : Sabin 2 ή Sabin 1) και Sabin 2/Sabin x (x : Sabin 1 ή Sabin 3) στις 2C και 3D περιοχές αντίστοιχα, επιχειρήθηκε η κατασκευή των μοντέλων των δευτεροταγών δομών των περιοχών 2C και 3D των θετικής και αρνητικής πολικότητας κλώνων και των τριών προτύπων εμβολιακών στελεχών, Sabin 1, Sabin 2 και Sabin 3. Ακολούθησε παράθεση των σημείων

ανασυνδυασμού, τα οποία ανιχνεύθηκαν σε κλινικά δείγματα τόσο της συγκεκριμένης διατριβής όσο και σε κλινικά δείγματα προηγούμενων εργασιών, στα μοντέλα των δευτεροταγών RNA δομών. Στη συνέχεια, δημιουργήθηκε ένα *in vitro* μοντέλο παραγωγής ανασυνδυασμένων εμβολιακών στελεχών πολιοϊών με σκοπό τη σύγκριση των αποτελεσμάτων που θα προέκυπταν από αυτό, τα οποία σχετίζονταν με την σχέση ανασυνδυασμών και δευτεροταγών RNA δομών, με τα αντίστοιχα αποτελέσματα που θα προέκυπταν από τα κλινικά στελεχη.

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα του *in vitro* μοντέλου, βρίσκονται σε πλήρη συμφωνία με τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τη συσχέτιση δευτεροταγών RNA δομών και ανασυνδυασμών στα κλινικά δείγματα. Έτσι στη μεγάλη πλειοψηφία τους, τα σημεία ανασυνδυασμού σχετίζονται με RNA δομικά στοιχεία, τα οποία είναι όμοια μεταξύ των εκάστοτε προτύπων στελεχών και εκτός αυτού, τα ζευγαρώματα βάσεων τα οποία οδηγούν στη δημιουργία των δομικών αυτών στοιχείων παρουσιάζουν από υψηλές μέχρι πολύ υψηλές πιθανότητες. Επίσης, αρκετά από αυτά τα δομικά στοιχεία, εκτός από την υψηλή πιθανότητα που παρουσιάζουν, συμπεριλαμβάνονται και στη δομή με τη χαμηλότερη ελεύθερη ενέργεια, με αποτέλεσμα η θετική προγνωστική αξία των στοιχείων δευτεροταγών δομών, στα οποία εδράζονται οι ανασυνδυασμοί, να είναι αρκετά υψηλή. Επομένως, η κατανομή των ανασυνδυασμών στα εμβολιακά στελέχη πολιοϊών δεν είναι τυχαία και συνάδει με στοιχεία παρόμοιας δευτεροταγής διαμόρφωσης μεταξύ των δύο συμβαλλόμενων μορίων.