

Ελένη Δ. Παξιμάδη

ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΑ ΣΤΕΛΕΧΗ ΠΟΛΙΟΪΩΝ- ΘΕΣΕΙΣ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΟΥ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Π. ΜΑΡΚΟΥΛΑΤΟΣ (ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ): Αναπληρωτής Καθηγητής Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας με έμφαση στη Βιοτεχνολογία, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Ζ. ΜΑΜΟΥΡΗΣ: Καθηγητής Γενετικής Ζωικών Πληθυσμών, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Κ. ΣΤΑΘΟΠΟΥΛΟΣ: Επίκουρος Καθηγητής Βιοχημείας με έμφαση στη μεταβολική ρύθμιση, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

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

Δ. ΚΟΥΡΕΤΑΣ: Καθηγητής Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Ζ. ΜΑΜΟΥΡΗΣ: Καθηγητής Γενετικής Ζωικών Πληθυσμών, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Π. ΜΑΡΚΟΥΛΑΤΟΣ: Αναπληρωτής Καθηγητής Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας με έμφαση στη Βιοτεχνολογία, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Κ. ΣΤΑΘΟΠΟΥΛΟΣ: Επίκουρος Καθηγητής Βιοχημείας με έμφαση στη μεταβολική ρύθμιση, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Δ. ΚΟΜΙΩΤΗΣ: Επίκουρος Καθηγητής Οργανικής Χημείας με έμφαση στη σύνθεση βιοδραστικών μορίων, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Α. ΖΙΦΑ: Επίκουρος Καθηγήτρια Βιολογίας (Νευροβιολογίας), Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Περίληψη

Στη παρούσα διατριβή αναλύονται ανασυνδυασμένα στελέχη πολιοϊών τα οποία απομονώθηκαν από κλινικά και περιβαλλοντικά δείγματα.

Αρχικά αναζητήθηκαν οι πιθανές θέσεις ανασυνδυασμών στο γένωμα των πολιοϊών καλύπτοντας την γενωμική περιοχή από τη 2C έως τη 3D με σκοπό τον εντοπισμό όλων των πιθανών σημείων ανασυνδυασμού.

Πέντε κλινικά στελέχη προερχόμενα από υγιείς εμβολιασμένους και ασθενείς με VAPP εξετάστηκαν για τον εντοπισμό θέσεων ανασυνδυασμού. Κατόπιν ανάλυσης RT-PCR, RFLP και αλληλούχισης, σε τρεις γενωμικές περιοχές (5'UTR, 2C και 3C-D) τα πέντε δείγματα εμφάνισαν θέσεις ανασυνδυασμού. Τα ανασυνδυασμένα δείγματα στη συνέχεια αλληλουχήθηκαν από τη 2C έως τη 3'UTR. Τα στελέχη EP6 και EP12 παρουσίασαν τον τύπο ανασυνδυασμού S2/S1 στη 3D γενωμική περιοχή, ενώ τα στελέχη EP16 και EP23 τους τύπους S3/S2 και S3/S1 αντίστοιχα στη 2C περιοχή. Το στέλεχος EP9 βρέθηκε ανασυνδυασμένο στη 3A περιοχή ως S2/S1, γενωμική περιοχή όπου οι ανασυνδυασμοί σπανίζουν. Άξιο λόγου είναι το γεγονός πως οι θέσεις των ανασυνδυασμών στα στελέχη EP12 και EP16 είναι όμοιες με αυτές που βρέθηκαν σε προηγούμενη μελέτη. Επίσης παρατηρήθηκαν σημειακές μεταλλαγές στα ανασυνδυασμένα δείγματα EP6, EP9 και EP12.

Πέντε στελέχη Sabin εμφάνισαν ιδιαίτερο ενδιαφέρον καθώς ευρέθηκαν διπλά ανασυνδυασμένα. Ανάλυθηκαν και πάλι με RT-PCR, RFLP και αλληλούχιση. Τα πέντε δείγματα εμφάνισαν δύο θέσεις ανασυνδυασμού: η πρώτη στη 2C περιοχή και η δεύτερη στη 3D. Στα δείγματα EPA, EPB και EPC το 5' τμήμα του γονιδιώματος ήταν Sabin τύπου 3, το ενδιάμεσο Sabin τύπου 2 και το τμήμα 3' Sabin τύπου 3 (S3/S2/S3). Ο πρώτος ανασυνδυασμός και για τα τρία στελέχη βρισκόταν στη 2C περιοχή και ο δεύτερος ήταν επίσης και για τα τρία στελέχη στη 3C-D περιοχή.

Για τα στελέχη EDP11 και EDP12 το 5' τμήμα του γονιδιώματος ήταν Sabin τύπου 3, το ενδιάμεσο τμήμα τύπου 2 και το 3' τμήμα τύπου 1 (S3/S2/S1), τα μοτίβα και οι θέσεις των ανασυνδυασμών ήταν κοινά. Όσον αφορά το στέλεχος EDP11 αυτό παρουσίασε ένα ενδιαφέρον χαρακτηριστικό, μία αλληλουχία 120 περίπου νουκλεοτιδίων η οποία φαίνεται να προκύπτει από μέλος της ομάδας των εντεροϊών C (CAV18 ή CAV21). Το εύρημα αυτό είναι σημαντικό, καθώς το στέλεχος

EDP11 απομονώθηκε από περιοχή που τη δεδομένη χρονική περίοδο, καμία επιδημία από ιούς Coxsackie A ή πολιοϊούς δε συνέβαινε.

Στελέχη πολιοϊών απομονώθηκαν επίσης από λύματα στη Μεταμόρφωση Αττικής, Μάιος- Οκτώβριος 1996 και στη Λεμεσό και Λευκωσία Μάιος -Δεκέμβριος 2003 για τον εντοπισμό ανασυνδυασμών. Τρία στελέχη πολιοϊών βρέθηκαν διπλά ανασυνδυασμένα (LK3, LK 6, LK 10) ως S3/S2/S1 στη 2C γενωμική περιοχή του ιού, με τη πρώτη θέση ανασυνδυασμού S3/S2 προς το 5' άκρο της 2C και τη δεύτερη θέση ανασυνδυασμού προς το 3' άκρο της 2C. Ο εντοπισμός τέτοιου τριμερούς ανασυνδυασμένου στελέχους εντός της 2C είναι σπάνιο γεγονός. Τα δείγματα ENP 5, ENP 6 και ENP8 βρέθηκαν με μονό ανασυνδυασμό τύπου S2/S1 όπως και το στέλεχος ENP 7 με ανασυνδυασμό τύπου S2/S3. Οι θέσεις ανασυνδυασμού για τα στελέχη αυτά εντοπίστηκαν σε διαφορετικά σημεία της 3D γενωμικής περιοχής.

Το πολυανασυνδυασμένο στέλεχος I₃₄ (S2/S1/S2S1) απομονώθηκε από τα κόπρανα νεογέννητου πέντε μηνών, 20 περίπου ημέρες μετά τον εμβολιασμό με το OPV με κλινική εικόνα χαλαρής παραλυτικής πολιομυελίτιδας.

Στο στέλεχος πολιοϊού που απομονώθηκε μετά από αλληλούχιση εντοπίστηκαν δυο θέσεις ανασυνδυασμού στη 3D γενωμική περιοχή. Η πρώτη θέση ανασυνδυασμού ως S1/S2 και η δεύτερη ως S2/S1. Ο τρίτος ανασυνδυασμός εντοπίστηκε μέσω αλληλούχισης ολόκληρου του 3' τμήματος του γενώματος και ήταν ως αναμενόταν, τύπου S2/S1.

Συμπερασματικά, σε αυτή τη διατριβή συγκεκριμένοι τύποι και θέσεις ανασυνδυασμών και σημειακών μεταλλαγών αναλύθηκαν όσον αφορά την εξέλιξη των πολιοϊών. Μελετήθηκαν επίσης οι συγκεκριμένες θέσεις και τα μοτίβα αλληλουχιών πολιοϊών τα οποία εμπλέκονται σε γεγονότα ανασυνδυασμού με άλλους εντεροϊούς μη-πολιοϊούς όπως ο ιός Coxsackie A και οι οποίοι μπορεί να συμμετέχουν σε ανασυνδυασμούς. Ο εντοπισμός εξελιγμένων κυκλοφορούντων εμβολιακών στελεχών (c VDPVs) είναι σημαντικός καθώς εμπλέκονται σε γεγονότα ανασυνδυασμού. Εισαγωγή τέτοιων στελεχών (c VDPVs) σε ένα πληθυσμό θέτει σε κίνδυνο τη δημόσια υγεία για αυτό επιβάλλεται η περιβαλλοντική παρακολούθηση της κυκλοφορίας των πολιοϊών.