

Ελένη Ψόχιου

**ΜΟΡΙΑΚΗ ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΚΥΡΙΩΝ
ΠΡΩΤΕΑΣΩΝ ΤΗΣ ΣΕΡΙΝΗΣ ΤΟΥ ΕΥΡΥΑΛΟΥ ΤΕΛΕΟΣΤΕΟΥ *SPARUS AURATA* :
ΑΛΑΤΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΟΡΜΟΝΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΚΑΙ ΕΝΖΥΜΙΚΗΣ
ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ**

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Z. ΜΑΜΟΥΡΗΣ (ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ)

Αναπληρωτής Καθηγητής Γενετικής Ζωικών Πληθυσμών
Τμήμα Βιοχημείας-Βιοτεχνολογίας Π.Θ.

Δ. ΚΟΥΡΕΤΑΣ

Αναπληρωτής Καθηγητής Φυσιολογίας Ζώων
Τμήμα Βιοχημείας-Βιοτεχνολογίας Π.Θ.

A. ΜΟΥΤΟΥ

Επίκουρος Καθηγήτρια Βιολογίας Σπονδυλωτών
Τμήμα Βιοχημείας-Βιοτεχνολογίας Π.Θ.

Στα πλαίσια της παρούσας διδακτορικής διατριβής, οι πλήρεις αλληλουχίες δύο κλώνων, που κωδικοποιούν για το χυμοθρυψινογόνο I (CHTRI: 1022bp, 261aa) και για το χυμοθρυψινογόνο II (CHTRII: 909bp, 277aa), καθώς και ενός κλώνου, που κωδικοποιεί για το θρυψινογόνο II (TRPII: 848bp, 241aa), απομονώθηκαν από cDNA βιβλιοθήκη ήπατος τσιπούρας (*Sparus aurata*). Οι αμινοξικές αλληλουχίες των ζυμογόνων που απομονώθηκαν, περιέχουν όλα τα απαραίτητα αμινοξέα για την καταλυτική δράση και τη διατήρηση της τρισδιάστατης διαμόρφωσης των πρωτεασών της σερίνης. Η ανάλυση *in silico* που ακολούθησε, ανέδειξε μια έντονα συντηρημένη γονιδιακή οργάνωση ενώ το ιστοειδικό πρότυπο έκφρασης των ζυμογόνων ταυτίζεται με το πρότυπο κατανομής του παγκρεατικού ιστού.

Στη συνέχεια, μελετήθηκε η απόκριση των πεπτικών πρωτεασών, στην αιφνίδια μεταβολή της αλατότητας, από 33‰ σε 21‰ σε νεαρά άτομα τσιπούρας. Η μείωση της αλατότητας δεν επηρέασε σημαντικά τη δραστηριότητα των ολικών όξινων και αλκαλικών πρωτεασών κατά μήκος του πεπτικού σωλήνα, ούτε τις δραστηριότητες της θρυψίνης και της χυμοθρυψίνης, ενισχύοντας την υπόθεση ότι ο ευρύαλος χαρακτήρας του *S. aurata* συγκροτείται από φυσιολογικές διαδικασίες, συμπεριλαμβανομένου του κύριου πεπτικού μηχανισμού, ανθεκτικές σε αιφνίδιες μεταβολές της αλατότητας. Όπως αναμενόταν, η πτώση της αλατότητας οδήγησε σε σημαντικές μεταβολές στη δραστηριότητα δευτερευουσών πρωτεασών, της ελαστάσης και των καρβοξυπεπτιδασών A και B, που δρουν σε υψηλό pH και υψηλές

συγκεντρώσεις διοθενών ιόντων, και οι μεταβολές αυτές εντοπίστηκαν σε τμήματα του πεπτικού σωλήνα με αναγνωρισμένο οσφωρυθμιστικό ρόλο.

Προκειμένου να διερευνηθεί η επίδραση της αυξητικής ορμόνης στην έκφραση των ζυμογόνων και την ενζυμική δραστηριότητα των κυριότερων πεπτικών πρωτεασών, διαφορετικές δόσεις οvineGH χορηγήθηκαν σε νεαρά άτομα τσιπούρας. Η αυξητική ορμόνη είχε σημαντική επίδραση στα επίπεδα έκφρασης των CHTRI και TRPII στο ήπαρ, όχι όμως και στα πυλωρικά τυφλά, ενώ επηρέασε τη δραστηριότητα των ολικών όξινων πρωτεασών στο στομάχι και των ολικών αλκαλικών πρωτεασών στην περιοχή των πυλωρικών τυφλών και του οπίσθιου εντέρου, όπου επίσης είχε σημαντική επίδραση στη δραστηριότητα χυμοθρυψίνης. Τα παρόντα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η πέψη των πρωτεϊνών μπορεί να τελεί υπό κεντρική ορμονική ρύθμιση καθώς και την ύπαρξη μηχανισμών διαφορικής ρύθμισης της έκφρασης των ζυμογόνων στους ιστούς που φιλοξενούν διάχυτα παγκρεατικά κύτταρα.