

DNA-replikationen hos encystrande *Giardia lamblia*

Maria Rydell

Giardia lamblia är en encellig eukaryot, en protozo. Den lever som parasit i tunntarmen hos människor och andra däggdjur. Tarminfektionen orsakad av *Giardia* kallas giardiasis och orsakar diarré, magont, feber och trötthet. Ungefär 250 miljoner människor blir infekterade av *Giardia* varje år. *Giardia* är speciell på många sätt, bland annat för att den har två cellkärnor.

Parasiten har två olika stadier i sin livscykel. Trofozoiten är en vegetativ form då parasiten befinner sig i tunntarmen på sin värd, och cystan är ett vilostadium, det stadium parasiten har för att klara miljön utanför sitt värd. Varje steg i *Giardias* livscykel är en respons på miljön utanför cellen. Man har lyckats efterlikna de förhållanden som parasiten lever i under sin livscykel och på så sätt kan man odla den i laboratorier, *in vitro*. Parasitens smittsamma form är då den befinner sig i cyststadiet. När cystan når tunntarmen på sin värd, där pHt är högre, genomgår parasiten en förändring som kallas excystrering, från cysta till trofozoit. Samtidigt delar sig cellen och från varje cysta med fyra kärnor bildas två trofozoiter med två kärnor. Detta sker utan att parasiten måste göra nya kopior av sitt DNA eftersom cystan laddats med totalt 16 fullständiga kopior av parasitens genom. Även trofozoiterna förökar sig genom delning. Encystreringen, där trofozoiterna övergår till cystform, induceras av det höga pHt och den ökade halten av gallsalter längre ner i tarmen hos värden. Under encystreringen delas båda kärnorna och parasitens DNA replikeras. Detta leder till en cysta med 4 kärnor (16 kromosomkopior). Cystorna kan sedan utsöndras och spridas vidare via avföringen. Man vet inte så mycket om DNA replikationen hos *Giardia* så det har varit fokus i den här studien, speciellt replikationen under encystreringen.

Ett nytt protokoll för att encystrera *Giardia in vitro* utvecklades, och det har visat sig vara det bästa för att odla fram mogna cystor. Det protokollet har sedan använts i samtliga efterkommande försök. Två ämnen (aphidicolin och nocodazole) som påverkar cellcykeln och två ämnen som används vid behandling av giardiasis (flagyl och albendazole) användes för att se vilken effekt dessa hade på DNA replikationen, celldelningen och utvecklingen av cystor. Nocodazole stör utvecklingen av cystor genom att hindra celldelningen av *Giardia* trofozoiterna, men parasiten kan fortfarande kopiera sitt DNA. Tillsats av detta ämne ledde till utveckling av celler med totalt 32 kopior av parasitens genom. Albendazole visade sig ha en liknande effekt som nocodazole. Till skillnad från vad som hände när nocodazole och albendazole tillsattes cellkulturerna så replikerade inte trofozoiterna sitt DNA om de behandlades med aphidicolin vid initieringen av encystreringen och dess 12 första timmar. Resultatet blev då att inga mogna cystor utvecklades. Det är dock osäkert om cellerna bildade cystor rent morfologiskt, detta skulle behövas undersökas närmare med mikroskopingsstudier. Flagyl hade ingen synlig effekt på DNA replikationen och encystreringen i försöken utförda i dessa studier.

Examensarbete i biologi, 20 p, Vt 2008

Institutionen för biologisk grundutbildning och institutionen för cell och molekylärbiologi, Uppsala Universitet.

Handledare: Staffan Svärd och Karin Troell