

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**BÖBREK TRANSPLANTASYONU YAPILAN HASTALARDA
POLYOMAVİRUS BK ALT TIPLERİNİN SAPTANMASI**

ÖZLEM GÜVEN

**DANIŞMAN
PROF. DR. OSMAN ŞADİ YENEN**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2013

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Programında Özlem Güven tarafından hazırlanan "Böbrek Transplantasyonu Yapılan Hastalarda Polyomavirus BK Altıplarının Saptanması" başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

25 / 07 / 2013

Tez Sınav Jürisi

- | <u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u> | <u>İmzası</u> |
|--|---|
| 1.Prof.Dr. Ali AĞAÇFİDAN (İstanbul Tıp Fak. Tıbbi Mikrobiyoloji AD.) |  |
| 2.Prof.Dr. Osman Şadi YENEN (Danışman) (İstanbul Tıp Fak. Tıbbi Mikrobiyoloji AD.) |  |
| 3.Prof.Dr. Selim BADUR (İzleme Komitesi Üyesi) (İstanbul Tıp Fak. Tıbbi Mikrobiyoloji AD.) |  |
| 4.Prof.Dr. Aydın TÜRKMEN (İzleme Komitesi Üyesi) (İstanbul Tıp Fak. İç Hastalıkları AD.) |  |
| 5.Prof.Dr. Önder ERGÖNÜL (Koç Üniv. Tıp Fak. Enf. Hast. ve Klinik Mikrobiyoloji AD.) |  |

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Özlem GÜVEN



TEŞEKKÜR

Doktora öğrenimim süresince, bilgi ve desteğini esirgemeyen Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı başkanı, değerli hocam Prof. Dr. Ali Ağaçfidan'a teşekkürlerimi sunarım.

Paylaştığı engin bilgi, deneyim ve yol gösterici yardımlarıyla akademisyen olma yolumda büyük emeği geçen ve bana örnek olan, öğrenim sürecimin her aşamasında desteğini sunan, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum değerli hocam Prof. Dr. Osman Şadi Yenen'e teşekkürlerimi sunarım.

Öğrenimim sırasında bilgi ve deneyimlerinden yararlanma fırsatı bulduğum değerli hocalarım Prof. Dr. Emel Bozkaya'ya, Prof. Dr. Bülent Gürler'e, Prof. Dr. Şengül Derbentli'ye, Prof. Dr. Yıldız Yeğenoğlu'na, Prof. Dr. Mine Anğ Küçükler'e, Prof. Dr. Nezahat Gürler'e, Prof. Dr. Çiğdem Kayacan'a, Prof. Dr. Betigül Öngen'e, Prof. Dr. Arif Kaygusuz'a, Prof. Dr. Y. Ali Öner'e, Prof. Dr. Zayre Erturan'a, Prof. Dr. Meltem Uzun'a, Prof. Dr. Derya Aydın'a, Prof. Dr. Özden Büyükbaba Boral'a, Doç. Dr. Zerrin Aktaş'a, Doç. Dr. Hasan Nazik'e, Doç. Dr. Dilek Şatana'ya ve Doç. Dr. Yaşar Nakipoğlu'na ayrı ayrı teşekkür ederim.

Tez projemi takip eden, yorum ve önerileriyle çalışmamı geliştirmemde katkıları olan, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım ve desteklerini her zaman hissettiğim değerli hocalarım Prof. Dr. Selim Badur'a ve Prof. Dr. Aydın Türkmen'e teşekkürlerimi sunarım.

Doktora öğrenim sürecimde ilgi duyduğum alanlarda sahip oldukları bilgi ve deneyimlerini paylaştıkları değerli hocalarım, Prof. Dr. Gülden Çelik'e ve Prof. Dr. Salih Türkoğlu'na teşekkür ederim.

Birlikte çalışmaktan keyif aldığım Moleküler Biyoloji Laboratuvarı çalışanları, Ph. D. Mustafa Önel'e, M. Sc. Mürvet Bozacı'ya, M. Sc. Derya Önel'e ve Sağ. Tek. Zeycan Çınar'a teşekkür ederim.

Doktora öğrenimimde “Yurt İçi Doktora Burs Programı” kapsamında beni destekleyen TÜBİTAK Bilim İnsanı Destekleme Daire'sine teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın filogenetik analiz bölümünde yardımcı olan İstanbul Teknik Üniversitesi MOBGAM Müdürü Y. Doç. Dr. Alper Tunga Akarsubaşı'na teşekkür ederim.

Değerli arkadaşlarım Ph. D. Defne Gümüş'e, Y. Doç. Dr. Seyda İğnak'a, Ph. D. Gonca Erköse Genç'e, M. Sc. Ilgın Kaya'ya, M. Sc. Mehmet İlkaç'a ve Uzm. Dr. Sevim Meşe'ye desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Desteklerinden dolayı S. M. M. M. Mustafa Baygın ve Osman Yılmaz'a teşekkür ederim.

Yaşamımda attığım her adımı destekleyen ve sonsuz sevgileriyle güç veren annem Nevin Güven ve babam İbrahim Güven'e teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 14064

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN	İİİ
TEŞEKKÜR.....	İV
İÇİNDEKİLER	Vİ
TABLolar LİSTESİ	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİ
ÖZET.....	Xİİ
ABSTRACT.....	Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Polyomavirusların Tarihçesi	3
2.2. Polyomavirusların Sınıflandırılması	5
2.3. BK Polyomavirus (BKPyV).....	14
2.3.1. Viriyon Yapısı	14
2.3.2. Genom	15
2.3.2.1. Erken Genler Bölgesi	16
2.3.2.2. Geç Genler Bölgesi	18
2.3.2.3. Kodlama Yapmayan Düzenleyici Bölge	21
2.4. BKPyV Genotipleri	22
2.5. BKPyV İnfeksiyonu.....	22
2.6. Transkripsiyon ve Replikasyon	25
2.7. İmmün Yanıt.....	27
2.8. Epidemiyoloji	28
2.9. BKPyV'nin Etken Olduğu Hastalıklar	29
2.9.1. Polyomavirus ile İlişkili Nefropati (PyVAN).....	29
2.9.2. Hemorajik Sistit	30
2.9.3. Kanser.....	30
2.9.4. Diğer Hastalıklar	31
2.10. Tanı	31

2.11. Tedavi.....	36
2.12. Modern İnsanın BKPyV İle Birlikte Göçü.....	37
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	40
3.1. Örnekler	40
3.2. Real-time PCR Testi.....	40
3.3. Virus DNA'sının Elde Edilmesi.....	41
3.4. BKPyV Alt Tiplendirme ve Alt Tip I Alt Gruplandırma Bölgesinin Amplifikasyonu.....	41
3.5. PCR Ürünlerinin Görüntülenmesi	42
3.6. DNA Dizileme İşlemi	42
3.7. DNA Dizi Analizi.....	42
3.8. Filogenetik Analiz	44
3.9. BKPyV Alt tip IV Suşlarının Alt Gruplandırması	46
3.10. BKPyV'nin Tüm Genom Dizileme İşlemi.....	47
3.11. BKPyV VP1 Dizi Analizi	48
3.12. BKPyV DNA PCR Testleri.....	50
4. BULGULAR.....	51
5. TARTIŞMA	87
KAYNAKLAR	101
HAM VERİLER.....	118
ETİK KURUL KARARI.....	133
ÖZGEÇMİŞ	135

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: <i>Polyomaviridae</i> ailesinin ICTV tarafından 2012 yılına ait sınıflandırması	7
Tablo 2-2: <i>Polyomaviridae</i> ailesinin ICTV'nin <i>Polyomaviridae</i> Çalışma Grubu tarafından hazırlanmış 2010 yılına ait sınıflandırma önerisi	10
Tablo 2-3: Aminoasit adları ve sembolleri	17
Tablo 2-4: İdrarın sitolojik incelemesinde etkenlere göre viral inklüzyonlar	32
Tablo 2-5: BKPyV alt tip I ve IV'e ait alt gruplar ile bu alt grupların en sık saptandığı toplumlar	39
Tablo 3-1: PCR karışımının bileşenleri ve konsantrasyonları	41
Tablo 3-2: BKPyV alt tiplerinde saptanmış tek nükleotid farklılıkları	43
Tablo 3-3: BKPyV alt tip I'in alt gruplarında saptanmış tek nükleotid farklılıkları	44
Tablo 3-4: BKPyV filogenetik analizinde kullanılan referans diziler	45
Tablo 3-5: BKPyV alt tip IV'ün alt gruplarında saptanmış tek nükleotid farklılıkları	46
Tablo 3-6: BKPyV genotiplendirme ve tüm genom dizileme primerleri	48
Tablo 3-7: BKPyV VP1 aminoasit dizisi	49
Tablo 3-8: Genetik kod	49
Tablo 3-9: VP1'de patogeneizde etkili olabileceği bildirilmiş aminoasit değişiklikleri, konumları ve hücre kültürü çalışmalarında gözlenen etkileri	50
Tablo 4-1: BKPyV VP1 geninin referans dizilerle hizalanmış, 1659-1956. (Dunlop suşu numaralandırması) nükleotid bölgesi dizileri	53
Tablo 4-2: BKPyV VP1 geninin 1659-1956. (Dunlop suşu numaralandırması) nükleotid bölgesinin dizilerine göre BKPyV suşlarının gruplandırılması	68
Tablo 4-3: Alt tip IV BKPyV VP1 genlerinin referans dizisiyle hizalanmış, 1540-2258. (TW-3 suşu numaralandırması) nükleotid bölgesi	72
Tablo 4-4: BKPyV genotipleri ve yüzde değerleri	82
Tablo 4-5: BKPyV VP1 proteininin 33-131. aminoasit (Dunlop suşu numaralandırması) bölgesinin referans suşlarla birlikte dizileri	83

Tablo 4-6: BKPyV suşlarında saptanan mutasyonların analiz verileri

84

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: ICTV'nin <i>Polyomaviridae</i> Çalışma Grubu tarafından tüm genom nükleotid dizi verilerine göre hazırlanmış, filogenetik ağaç	12
Şekil 2-2: VP1, VP2 ve LT aminoasit dizileri temel alınarak oluşturulmuş filogenetik ağaç	14
Şekil 2-3: Polyomavirusun viriyon yapısı	14
Şekil 2-4: BKPyV genomunun şematik yapısı	16
Şekil 2.5: BKPyV'de bloklardan oluşan ww-NCCR yapısının genomdaki konumu ve organizasyonu	22
Şekil 2.6: VP1'in reseptörle bağlantı kuran bölümleri	23
Şekil 2-7: BKPyV'nin T antijenlerinin uç birleştirme düzenlemesi	26
Şekil 4-1: BKPyV VP1 geninin çoğaltılan 327 bp'lik bölgesinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü ve analiz sonuçları	51
Şekil 4-2: BKPyV VP1 geni dizileriyle oluşturulmuş filogenetik ağaç	70
Şekil 4-3: BKPyV alt tip IV suşlarına ait VP1 geni dizileriyle oluşturulmuş filogenetik ağaç	81
Şekil 4-4: BKPyV VP2 geninin çoğaltılan 704 bp'lik bölgesinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü ve analiz sonuçları	86
Şekil:5-1: BKPyV alt tiplerinin dünyadaki dağılımı	96
Şekil:5-2: BKPyV alt tip I'in alt gruplarının dünyadaki dağılımı	97

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

BKPyV - *BK Polyomavirus*

PyVAN - Polyomavirus ile ilişkili nefropati (polyomavirus-associated nephropathy)

PyVHC - Polyomavirus ile ilişkili hemorajik sistit (polyomavirus-associated hemorrhagic cystitis)

ICTV - Uluslararası Virus Taksonomi Komitesi (International Committee on Taxonomy of Viruses)

KDIGO - Böbrek Hastalıkları, Küresel Sonuçların İyileştirilmesi (Kidney Disease: Improving Global Outcomes)

ERBP - Avrupa Renal İyi Uygulamalar Kılavuzu (European Renal Best Practice)

DNA - Deoksiribonükleik asit

RNA - Ribonükleik asit

ER - Endoplazmik retikulum

GA - Golgi aygıtı

ERAD - ER ile ilişkili protein degradasyonu (ER-associated protein degradation)

NCCR - Kodlama yapmayan kontrol bölgesi (noncoding control region)

TAg - Büyük T antijeni

tAg - Küçük t antijeni

truncTAg - Kesintili T antijeni (truncated T antigen)

NLS - Nükleer lokalizasyon sinyali

A - Adenin

T - Timin

G - Guanin

C - Sitozin

ÖZET

Güven Ö. Böbrek transplantasyonu yapılan hastalarda *Polyomavirus BK* alt tiplerinin saptanması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji A.D. Doktora Tezi. İstanbul. 2013.

Bu çalışmada, Türkiye’de *BK Polyomavirus* (BKPyV) genotiplerinin dağılımının belirlenmesi amacıyla böbrek transplantasyonu yapılmış hastaların idrar örneklerinden elde edilen 94 BKPyV suşunun alt tip ve alt grupları saptanmıştır. Ayrıca VP1’in BC kıvrımındaki aminoasit değişimleri analiz edilmiş ve olası klinik etkileri değerlendirilmiştir.

BKPyV alt tip I %71,3 oranıyla baskın alt tip olarak belirlenmiştir; bu suşların %13,4’ü Ib-1, %86,6’sı Ib-2 alt grubunda saptanmıştır. BKPyV alt tip II %8,5, alt tip IV ise %20,2 oranlarında bulunmuş olup alt tip IV suşlarının tümü IVc-2 alt grubunda sınıflandırılmıştır. Alt tip III BKPyV suşu saptanmamıştır. Genotip dağılımı sonuçlarımız incelendiğinde, Avrupa ve Batı Asya’dan bildirilen sonuçlarla uyumlu olduğu görülmektedir.

BKPyV suşlarının 18’inde BC kıvrımında aminoasit değişimleri belirlenmiştir. D60N, E61D, L68V, D77E, E82Q ve E82D olarak belirlenen değişimlerin saptandığı bu suşlar, polyomavirus ile ilişkili nefropati bulgusu olmayan hastalardan elde edilmiştir. Çalışmamızda, GenBank’ta bildiri bulunmayan 11 dizi saptanmıştır.

İstanbul Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji A.D.’nda kullanılmakta olan BKPyV real-time PCR testi, BKPyV DNA’sında görülen dizi çeşitliliği nedeniyle oluşabilecek yalancı negatif sonuçlara karşı BKPyV DNA’sının saptanmadığı 70 idrar örneği ile test edilmiştir. BKPyV VP1 ve VP2 gen bölgelerine özgül primerlerle iki ayrı PCR uygulanmıştır. Örneklerin tümünde negatif sonuç alınmıştır. Coğrafi bölgemizde bazı BKPyV genotipleri nadir bulunmakta ya da hiç bulunmamaktadır. Değerlendirmede, bu durumdan kaynaklanan kısıtlamalara rağmen real-time PCR testinin BKPyV DNA’sının saptanmasında güvenilir bir yöntem olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler : *BK Polyomavirus*, alt tip, alt grup, transplantasyon, VP1 geni

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 14064

ABSTRACT

Güven Ö. Detection of *BK Polyomavirus* subtypes in kidney transplant recipients. Istanbul University, Institute of Health Science, Medical Microbiology Department. Ph.D. Thesis. Istanbul. 2013.

In this study, subtypes and subgroups of 94 *BK Polyomavirus* (BKPyV) strains obtained from urine specimens of the kidney transplant recipients were determined to gain data on the distribution pattern of BKPyV genotypes in Turkey. Also amino acid alterations in BC loop of VP1 were analysed and their possible clinical significance were evaluated.

BKPyV subtype I was found to be predominant subtype with 71.3% and subgroups Ib-1 and Ib-2 were detected with 13.4% and 86.6% of subtype I stains respectively. BKPyV subtype II was identified in 8.5% while subtype IV was present in 20.2% and all the subtype IV strains were classified as IVc-2 subgroup. BKPyV subtype III strain was not detected. Our genotype distribution pattern was found similar to that demonstrated previously in Europe and West Asia.

Amino acid substitutions in BC loop were determined in 18 BKPyV strains. These strains with D60N, E61D, L68V, D77E, E82Q and E82D substitutions were obtained from the patients without polyomavirus-associated nephropathy. We detected 11 VP1 sequences which are not present in GenBank.

BKPyV real-time PCR assay that has been used in Medical Microbiology Department was examined with 70 BKPyV DNA negative urine specimens for the false negative results due to BKPyV DNA sequence variations. Two separate PCR were performed and BKPyV DNA was negative for all samples tested. In our geographic region some BKPyV genotypes are found rare or not detected. In spite of these limitations in evaluation, real-time PCR assay was found as a reliable tool for BKPyV DNA detection.

Key Words: *BK Polyomavirus*, subtype, subgroup, transplantation, VP1 gene

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 14064

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bilinen tek doğal konağı insan olan *BK polyomavirus* (BKPyV) ile infeksiyon, genellikle çocukluk döneminde, asemptomatik olarak geçirilmektedir. Böbrek dokusunda yaşam boyu persistans gösteren virus, immün yetmezlik durumu söz konusu olmadığı sürece herhangi bir hastalık oluşturmamaktadır. Sağlıklı bireylerde, geçici virüri dönemleri gözlenebilmektedir. Böbrek transplantasyonu yapılmış hastalara uygulanmakta olan immünosupresif tedavi, böbrekte yerleşim gösteren virusun reaktivasyonuna yol açmaktadır (1). BKPyV'nin sitopatik etkisi sonucu gözlenen nefropati, nakledilen organda ciddi hasar oluşumu sonucunda organın kaybıyla sonuçlanabilen bir durumdur. Tedavide, immünosupresyonun azaltılması önemli rol oynar; ancak antirejeksiyon tedavi ile dengenin sağlanması gerekmektedir. Bu bağlamda, nakil sonrası hastaların polyomavirus ile ilişkili nefropati (PyVAN – polyomavirus-associated nephropathy) tanısında ve takiplerinde, plazma örneklerinde BKPyV DNA'sının kantitatif testlerle izlenmesi önem taşımaktadır (2, 3).

BKPyV'nin VP1 kapsid proteinine ait gen dizisi temel alınarak 4 alt tipi (I-IV) belirlenmiştir. Alt tip I, 4 (Ia, Ib-1, Ib-2, ve Ic), alt tip IV ise 6 alt gruba (IVa-1, IVa-2, IVb-1, IVb-2, IVc-1 ve IVc-2) ayrılmaktadır. BKPyV'nin alt tip ve alt gruplarının coğrafi bölgeler arasında farklılık gösteren dağılım oranları, bu virusun, evrimsel süreçte insan toplulukları ile birlikte hareket ettiği hipotezinin (birlikte göç hipotezi) oluşturulmasını sağlamıştır. Anatomik olarak modern insanın ortaya çıkış ve göç serüveninde BKPyV'nin bir popülasyon belirteci olarak genetik antropoloji alanında kullanılabileceği ifade edilmektedir. Farklı toplumlarda saptanan BKPyV genotiplerine ait oranlar ve diziler karşılaştırılarak bu toplumlar arasındaki ilişkiler ve göç yolları üzerinde yorumlar yapmak mümkün olmaktadır. Dünyada alt tip I, baskın BKPyV genotipi olarak bulunmaktadır. Alt tip I'in alt gruplarından Ia, Afrikalılarda, Ib-1 Güneydoğu Asyalılarda, Ib-2 Avrupalılarda ve Ic Kuzeydoğu Asyalılarda yaygındır. Alt tip IV BKPyV'nin alt gruplarından IVc-2 Avrupa'da, diğer alt gruplar ise Doğu Asya'da bulunmaktadır (4, 5).

BKPyV genotipleri ile ilgili olarak ülkemizde yapılmış çalışmalardan elde edilmiş veri bulunmamaktadır. Çalışmamızda, böbrek transplantasyonu yapılmış ve real-time PCR yöntemiyle idrar örneklerinde BKPyV DNA'sı saptanmış hastalarda, BKPyV alt tipleri ve alt gruplarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

BKPyV'nin genotiplerinde polimorfizm gösteren VP1'in virusta en önemli işlevi, konak hücrenin yüzeyindeki reseptörle bağlantıyı sağlamaktır. VP1'de reseptörle bağlantının kurulduğu alanlarda bulunan bazı aminoasitlerde oluşan değişimlerin, virusun bağlanma kapasitesini etkilediği, hücre kültürü çalışmalarıyla gösterilmiş olup PyVAN patogeneğinde etkili olabileceği ileri sürülmüştür (6, 7).

BKPyV suşlarının genotiplendirmesinde kullanılan VP1 gen bölgesinin dizisi, BKPyV'nin konak hücre reseptörüne bağlanmasında etkili olan BC kıvrım bölgesini ve DE kıvrım bölgesinin bir bölümünü kodlayan alanı kapsamaktadır (6). Elde edilen gen dizilerinin protein dizilerine çevrilmesiyle BKPyV suşlarında bu bölgelerdeki aminoasit farklılıkları saptanabilmektedir. Çalışmamızda, VP1'in BC kıvrım bölgesinde, virusun kapsid yapısını ve reseptöre bağlanma kapasitesini etkilediği bildirilmiş olan aminoasit değişimlerinin varlığı araştırılarak, mutasyon saptanan suşların elde edildiği hastalarda PyVAN gelişimi bakımından klinik veri incelenmesi ve değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

BKPyV DNA'sının araştırılmasında kullanılmakta olan bazı testlerde, özellikle alt tiplerden III ve IV'ün saptanması noktasında sorun yaşandığı bildirilmiştir. Bu bakımdan kullanılan testlerin güvenilirliğinin sınanması önerilmektedir (8, 9). İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji A.D. Viroloji ve Temel İmmünoloji Bilim Dalı'nda BKPyV DNA'sının saptanmasında kullanılmakta olan real-time PCR yönteminin test edilmesi planlanmıştır. Bu amaçla, BKPyV DNA'sının saptanmadığı idrar örnekleri kullanılarak BKPyV genomunda iki farklı gen bölgesinin çoğaltılmasına yönelik PCR uygulanması, çalışmamızda bir yan amaç olarak belirlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Polyomavirusların Tarihçesi:

Polyomaviruslarla ilgili çalışmalar, kanser biyolojisi çalışmaları ile bağlantılı olarak 1953 yılında başlamıştır. Gross (10), fare lösemisini, hücre içermeyen süzüntülerle aktarma çalışmalarında, yenidoğan farede lösemi ve tükürük bezi tümörü oluşturan bir etkenin varlığını ortaya koymuştur. Bu etken, *Polyomaviridae* ailesinin ilk üyesi olan fare polyomavirusu (*Murine polyomavirus* - MPyV) idi. İlk kez Stewart ve arkadaşları (11) tarafından fare embriyonu hücrelerinde üretilen virus, araştırmacılar tarafından, tümör oluşumu ile olan ilişkisi nedeniyle “polyomavirus” (Yunanca kaynaklı *poly-*, çoklu; *-oma*, tümörler anlamındadır) olarak adlandırılmıştır. Ailenin ikinci üyesi olan *Simian virus 40* (SV40), 1960 yılında Sweet ve Hilleman tarafından poliovirus aşılarının, başka viruslarla kontaminasyonunun araştırılması sırasında bulunmuştur. Polio aşısı örneklerinin Afrika yeşil maymunu böbrek (vero) hücrelerinde kültürünün yapılması ile SV40 izolasyonu sağlanmıştır. SV40 ile kontamine polio aşıları, 1963 yılına kadar milyonlarca çocuğa uygulanmıştır. SV40’ın yenidoğan hamsterlere inokulasyonu sonrasında tümör oluşumuna yol açtığı gösterilmesinin ardından aşı uygulaması ciddi bir halk sağlığı problemi olarak tartışmalara neden olmuştur. MPyV’nin bulunuşundan günümüze kadar kuşlardan ve memelilerden farklı polyomavirus türleri izole edilmiştir (2, 12). Bu ailede yer alan virusların yalnız bir türü ya da birbirine yakın türleri infekte ettiği görülmektedir (13).

İnsanda infeksiyona yol açan polyomaviruslardan BK ve JC polyomaviruslar, 1971 yılında saptanmış olup izole edildikleri hastaların ad ve soyadlarının baş harfleri kullanılarak adlandırılmışlardır (2). *JC polyomavirus* (JCPyV), Padgett ve arkadaşları (14) tarafından, progresif multifokal lökoensefalopatili bir Hodgkin lenfoma hastasından alınan beyin dokusu örneğinin, insan fetusu beyin hücreleri kullanılarak yapılan kültüründen izole edilmiştir.

BK polyomavirus (BKPyV), ilk olarak Gardner ve arkadaşları (15) tarafından, böbrek transplantasyonu geçirdikten dört ay sonra üreter stenozu gelişen 39 yaşında Sudan’lı bir erkek hastadan (B.K.) alınan idrar örneğinden izole edilmiştir. Hasta, transplantasyon sonrası iki kez hafif rejeksiyon dönemi geçirmiş ve immün baskılama, hastanın kilosu başına günlük olarak verilen 20 mg prednisone ve 3 mg azathioprine ile sağlanmıştır. İkinci rejeksiyon döneminin hemen ardından hastada üreter stenozu

geliştiği saptanmıştır. Hastadan alınan idrar örneği, ışık mikroskopunda incelendiğinde, çoğu mononükleer olan hücrelerin, bazofilik intranükleer inklüzyon cisimleri içerdikleri; elektron mikroskobu incelemesinde ise polyomavirus benzeri çok sayıda virus partikülü bulunduğu görölmüştür. Hastaya böbrek ve üreter veren ağabeyinin üreterinden alınan örnekte, lümeni kaplayan epitel hücrelerinin çoğunun çekirdeğinde virus partikülleri saptanmıştır (vericiden alınan sol böbrek, hastanın sağ iliak fossa bölgesine; üreter ise mesaneye implante edilmiştir). Hücre kültürlerini, rhesus maymunu böbrek hücreleri (M.K.), insan embriyonu akciğer fibroblastları (H.E.L.) ve vero hücrelerinde gerçekleştirmişlerdir. M.K. ve vero hücre kültürlerinde sitopatik etkiyi gözlemlemişler ve virusun izolasyonunu sağlamışlardır. H.E.L. hücrelerinde sitopatik etki görölmemiş; elektron mikroskobu incelenmelerinde de virus partikülü saptanmamıştır. BKPyV'nin, hücre kültürlerinde çoğalmasının SV40'a göre çok daha yavaş gerçekleştiğini bildirmişler; ayrıca SV40'tan farklı olarak BKPyV'nin, insan O grubu alyuvarlar hücreleri ve kobay eritrositlerini 4°C'de aglütine ettiğini göstermişlerdir.

BKPyV'nin bulunmasının üzerinden uzun yıllar geçtikten sonra, 2007'de, insanda enfeksiyona yol açtığı belirlenen iki polyomavirus bulunmuştur. Karolinska Enstitüsü polyomavirusu (KIPyV) ve Washington Üniversitesi polyomavirusu (WUPyV) olarak, adlarını, keşfedildikleri kurumlardan alan bu virusların ikisi de solunum yolu enfeksiyonu belirtileri gösteren çocuk hastaların nazofarinks aspirat örneklerinde saptanmıştır (16, 17). Bu iki polyomavirusun bulunuşundan bir yıl sonra Feng ve arkadaşları, Merkel hücre karsinomu olgularından alınan doku örneklerinde saptadıkları polyomavirusu, Merkel hücre polyomavirusu (MCPyV) olarak adlandırmışlardır (18). MCPyV, kanser ile ilişkisi tartışma konusu olan tüm insan polyomavirusları içinde kanser ile polyomavirus bağlantısının en güçlü olduğu virustur. MCPyV'nin, tümör gelişimindeki etki mekanizması henüz bütünüyle aydınlatılamamış olmakla birlikte, Merkel hücre karsinomu olgularının %77-84'ünde saptanmaktadır (12, 19, 20).

MCPyV'den sonra hastalıkla doğrudan ilişkilendirilmeye çalışılan bir virus, kalp transplantasyonu yapılmış olan bir trikodisplazi spinulosa olgusunun yüzündeki lezyonlardan alınan örneklerde saptanmış olup van der Meijden ve arkadaşları (21) tarafından 2010 yılında bildirilmiştir. Bu virus, trikodisplaziyle ilişkili polyomavirus (TSPyV) olarak adlandırılmıştır. Aynı yıl Schowalter ve arkadaşları (22), sağlıklı kişilerden aldıkları deri örneklerinde insan polyomavirusu 6 (HPyV6) ve insan

polyomavirusu 7 (HPyV7) olarak adlandırdıkları iki yeni polyomavirusu saptamışlardır. Scuda ve arkadaşları (23), böbrek transplantasyonu yapılmış bir hastadan insan polyomavirusu 9'u (HPyV9) bulduklarını 2011 yılında bildirmişlerdir.

Polyomavirus ailesine yeni üyelerin katılımı, virus keşfetme amacıyla, moleküler yöntemlerin yaygınlaşan kullanımı ile bağlantılı olarak 2012 yılında da devam etmiştir. Dışkı örneklerinde virus arama çalışmalarının sonucunda Malawi polyomavirusu (MWPyV) ve Mexico polyomavirusları (MXPyV) bulunmuştur (24, 25). Aynı dönemde WHIM (Warts, Hypogammaglobulinemia, Infections and Myelokathexis) sendromu olan bir hastanın siğil örneğinde insan polyomavirusu 10 (HPyV10) saptanmıştır (26). Art arda bildiri yapılan bu virusların genom dizi verileri incelenmiş olup birbirlerinin varyantı oldukları görülmüş ve MWPyV adı altında toplanmışlardır (25, 27). İnsan bağırsak viromu çalışmaları sırasında dışkı örneklerinde bulunan bir diğer polyomavirus, Saint Louis polyomavirusu (STLPyV) olarak adlandırılmıştır (28). Son olarak, transplantasyon için verici karaciğer örneğinde saptanan yeni bir polyomavirus, insan polyomavirusu 12 (HPyV12) olarak bildirilmiştir (29).

Genişlemekte olan polyomavirus ailesinin 2007'den sonra keşfedilen üyelerinden MCPyV ve TSPyV dışındakilerin henüz herhangi bir hastalıkla ilişkisi bulunmamıştır (30). Bu viruslar hakkında bugün bildiklerimizin çoğu, genom dizilerinden ve bu dizilerden kodlanan proteinlerden ibaret olup hücre tropizmi ve patogenez gibi konular aydınlatılmayı beklemektedir.

2.2. Polyomavirusların Sınıflandırılması:

Baltimore sınıflandırma sistemine göre çift iplikli DNA genoma sahip olmalarıyla polyomaviruslar, Grup 1 viruslar içinde yer almaktadır (31). Polyomaviruslar ve papillomaviruslar, 1950'lerin ortaları ve 1960'lı yıllarda elektron mikroskopu görüntülemeleri ve temel nükleik asit analiz tekniklerinden elde edilen verilerle, ortak özelliklerine dayanılarak *Papovaviridae* ailesinde sınıflandırılmıştır (32). *Papovaviridae* adı, tavşan papilloma virusu, fare polyomavirusu ve vakuol oluşturan etken (vacuolating agent) olarak tanımlanmış *Simian virus 40* (SV40) üyelerinden kaynaklanmaktadır (13, 33). Aile üyelerinin buldukları dönemlerde saptanan özellikleri, zarfsız, ikozahedral yapıda kapside ve çift iplikli halkasal DNA genoma sahip olmaları olarak bildirilmiştir. 1980'lerden itibaren gelişen laboratuvar tekniklerine bağlı olarak gerçekleştirilen genetik analizler, geçmişte tanımlanmış olan ortak

özelliklerin yüzeysel olduğunu ortaya koymuştur. Tüm polyomavirusların yaklaşık 5 kb büyüklükte genoma sahip olmalarına karşın papillomavirusların 8 kb'ye yakın büyüklükte genoma sahip olmaları; polyomaviruslarda zıt yönlerde okunan iki transkripsiyon biriminin varlığına karşın papillomaviruslarda transkripsiyonun tek yönde gerçekleşmesi gibi farklılıklar bulunmuş ve sınıflandırmada en önemli ölçüt olan nükleotid ve aminoasit dizi benzerliğinde iki virus grubunun, T antijeninde küçük bir bölgede ve E1 genlerindeki homoloji dışında bir benzerlik taşımadığı saptanmıştır. Bu bilgiler ışığında polyomaviruslar ve papillomaviruslar, 2000 yılında ayrı aileler oluşturacak şekilde yeniden sınıflandırılmıştır (32). Uluslararası Virus Taksonomi Komitesi (ICTV – International Committee on Taxonomy of Viruses) tarafından oluşturulmuş olan sınıflandırmada, tüm polyomaviruslar, ailenin tek cinsi olan *Polyomavirus* cinsi altında toplanmıştır (Tablo 2.1) (34).

Tablo 2-1: Polyomaviridae ailesinin ICTV tarafından 2012 yılına ait sınıflandırması (34)

AİLE: *Polyomaviridae* (1 cins)

CİNS: *Polyomavirus*

TİP TÜR: *Simian virus 40*

TÜRLER:	Ref. Suş GenBank no:	Kısaltılmış ad:
<i>African green monkey polyomavirus</i> African green monkey polyomavirus (Beta-lymphotropic polyomavirus)	[K02562]	(AGMPyV) (LPyV)
<i>Baboon polyomavirus 2</i> Baboon polyomavirus 2		(BPyV-2)
<i>BK Polyomavirus</i> BK polyomavirus	[V01108]	(BKPyV)
<i>Bovine polyomavirus</i> Bovine polyomavirus	[D13942=NC_001442]	(BPyV)
<i>Budgerigar fledgling disease polyomavirus</i> Avian polyomavirus	[AF241168]	(APyV)
<i>Hamster polyomavirus</i> Hamster polyomavirus	[AJ006015=NC_001663]	(HaPyV)
<i>Human polyomavirus</i> Human polyomavirus		
<i>JC polyomavirus</i> JC polyomavirus	[J02226=NC_001699]	(JCPyV)
<i>Murine pneumotropic virus</i> Murine pneumotropic virus	[M55904]	(MPtV)
<i>Murine polyomavirus</i> Murine polyomavirus	[J02288]	(MPyV)
<i>Rabbit kidney vacuolating virus</i> Rabbit kidney vacuolating virus		(RKV)
<i>Simian virus 12</i> Simian virus 12 (SA12) (Baboon polyomavirus type 1)	[AY614708]	(SV12)
<i>Simian virus 40</i> Simian virus 40	[J02400=NC_001669]	(SV40)

Tür adları italik yazılmıştır. Tür adı altında yer alan adlar türü temsil eden suşlara ait olup sinonim adlar parantez içinde belirtilmiştir. Türe ait referans suşun gen dizisinin gen bankası numarası köşeli parantez içinde; tür adının kısaltması ise parantez içinde gösterilmiştir.

(Tablo 2-1'in devamı)

Polyomavirus cinsine üye olması muhtemel olan ancak tür olarak henüz onaylanmamış virüsler:

Memeli Virusları:	Ref. Suş GenBank no:	Kısaltılmış ad:
KI polyomavirus	[EF127906]	(KIPyV)
WU polyomavirus	[EF444549]	(WUPyV)
Merkel cell polyomavirus	[EU375803]	(MCPyV)
Canary polyomavirus	[GU345044]	(CaPyV)
Cynomolgus polyomavirus		(CyPV)
Chimpanzee polyomavirus	[AY691168]	(ChPyV)
Athymic rat polyomavirus		(Rat-PyV)
Squirrel monkey polyomavirus	[NC_009951]	(SqPyV)
Bornean orangutan polyomavirus	[FN356900]	(OraPyV-1)
Sumatran orangutan polyomavirus	[FN356901]	(OraPyV-2)
Bat polyomavirus	[NC_011310]	(BatPyV)
Human polyomavirus 6	[NC_014406]	(HPyV6)
Human polyomavirus 7*	[NC_014407]	(HPyV7)

Kuş Virusları:	Ref. Suş GenBank no:	Kısaltılmış ad:
Crow polyomavirus	[NC_007922]	(CPyV)
Finch polyomavirus	[NC_007923]	(FPyV)
Goose hemorrhagic polyomavirus	[NC_004800]	(GHPyV)

PCR-temelli yöntemlerle polyomavirus genomları saptanmış olmakla birlikte bu virüsler, henüz hücre kültüründe üretilmemiş olmaları nedeniyle tür olarak kabul edilmemişlerdir.

*ICTV tarafından yayınlanmış olan 2012 tarihli 9. raporda ‘‘Human polyomavirus 6’’ olarak yanlış yazılmıştır.

Sınıflandırmada, cinse üye olması muhtemel olan ancak tür olarak henüz onaylanmamış virüsler başlığı altında yer alan virüslardan kuşlarda infeksiyon etkeni olarak tanımlanmış polyomaviruslar, memeli polyomaviruslarından farklı olarak daha geniş bir konak çeşitliliği göstermektedir (34).

ICTV'nin *Polyomaviridae* Çalışma Grubu tarafından Ekim 2010 tarihinde hazırlanarak ICTV'ye sunulan; henüz kabul edilmemiş olan ancak 2012 yılında yayınlanan 9. raporda, üzerinde çalışıldığı ifade edilen sınıflandırma önerisinde,

Polyomaviridae ailesi *Orthopolyomavirus*, *Wukipolyomavirus* ve *Avipolyomavirus* olmak üzere üç cinsi kapsamaktadır (Tablo 2.2). *Polyomaviridae* ailesinin sınıflandırılmasında kullanılan taksonomik ölçütler, konak çeşitliliği, genetik repertuvar ve tüm genom DNA'sının dizi benzerliğidir (Şekil 2.1). Bulunan bir virusun, bilinen polyomaviruslardan farklı bir tür olarak tanımlanabilmesi için tüm genom DNA dizi homolojisinin %81-84'ten az olması gerekmektedir (35).

Tablo 2-2: *Polyomaviridae* ailesinin ICTV'nin *Polyomaviridae* Çalışma Grubu tarafından hazırlanmış 2010 yılına ait sınıflandırma önerisi (35)

AİLE: *Polyomaviridae* (3 cins)

CİNS: *Orthopolyomavirus*

TİP TÜR: *Simian virus 40*

TÜRLER:	Ref. Suş GenBank no:	Kısaltılmış ad:	Konak:
<i>Baboon polyomavirus 1</i> Baboon polyomavirus 1	[NC_007611]	(SA12)	Maymun
<i>Bat polyomavirus</i> Bat polyomavirus	[NC_011310]	(BatPyV)	Yarasa
<i>B-lymphotropic polyomavirus</i> B-lymphotropic polyomavirus	[NC_004763]	(LPyV)	Maymun
<i>BK polyomavirus</i> BK polyomavirus	[NC_001538]	(BKPyV)	İnsan
<i>Bornean orang-utan polyomavirus</i> Bornean orang-utan polyomavirus	[NC_013439]	(OraPyV1)	Orangutan
<i>Bovine polyomavirus</i> Bovine polyomavirus	[NC_001442]	(BPyV)	Sığır
<i>California sea lion polyomavirus</i> California sea lion polyomavirus	[NC_013796]	(SLPyV)	Deniz aslanı
<i>Hamster polyomavirus</i> Hamster polyomavirus	[NC_001663,AJ006015]*	(HaPyV)	Hamster
<i>JC polyomavirus</i> JC polyomavirus	[NC_001699]	(JCPyV)	İnsan
<i>Merkel cell polyomavirus</i> Merkel cell polyomavirus	[NC_010277]	(MCPyV)	İnsan
<i>Murine pneumotropic virus</i> Murine pneumotropic virus	[NC_001505.2]	(MPtV)	Maymun
<i>Murine polyomavirus</i> Murine polyomavirus	[NC_001515]	(MPyV)	Fare
<i>Simian virus 40</i> Simian virus 40	[NC_001669]	(SV40)	Maymun
<i>Squirrel monkey polyomavirus</i> Squirrel monkey polyomavirus	[NC_009951]	(SqPyV)	Maymun
<i>Sumatran orang-utan polyomavirus</i> Sumatran orang-utan polyomavirus	[FN356901]	(OraPyV2)	Orangutan

(Tablo 2-2'nin devamı)

TÜRLER:	Ref. Suş GenBank no:	Kısaltılmış ad:	Konak:
<i>Trichodysplasia spinulosa-associated polyomavirus</i> Trichodysplasia spinulosa-associated polyomavirus	[NC_014361]	(TSPyV)	İnsan
Tür olarak onaylanmamış ancak Orthopolyomavirus cinsine üye olması muhtemel olan virus:			
Chimpanzee polyomavirus	[AY691168]	(ChPyV)	Şempanze

CİNS: *Wukipolyomavirus***TİP TÜR:** KI polyomavirus

TÜRLER:			
<i>Human polyomavirus 6</i> Human polyomavirus 6	[NC_014406]	(HPyV6)	İnsan
<i>Human polyomavirus 7</i> Human polyomavirus 7	[NC_014407]	(HPyV7)	İnsan
<i>KI polyomavirus</i> KI polyomavirus	[NC_009238]	(KIPyV)	İnsan
<i>WU polyomavirus</i> WU polyomavirus	[NC_009539]	(WUPyV)	İnsan

CİNS: *Avipolyomavirus***TİP TÜR:** Avian polyomavirus

TÜRLER:			
<i>Avian polyomavirus</i> Avian polyomavirus	[NC_004764.2]	(APyV)	Kuş
<i>Canary polyomavirus</i> Canary polyomavirus	[GU345044]	(CaPyV)	Kanarya
<i>Crow polyomavirus</i> Crow polyomavirus	[NC_007922]	(CPyV)	Karga
<i>Finch polyomavirus</i> Finch polyomavirus	[NC_007923]	(FPyV)	Şakrak kuşu
<i>Goose hemorrhagic polyomavirus</i> Goose hemorrhagic polyomavirus	[NC_004800]	(GHPyV)	Kaz

(Tablo 2-2'nin devamı)

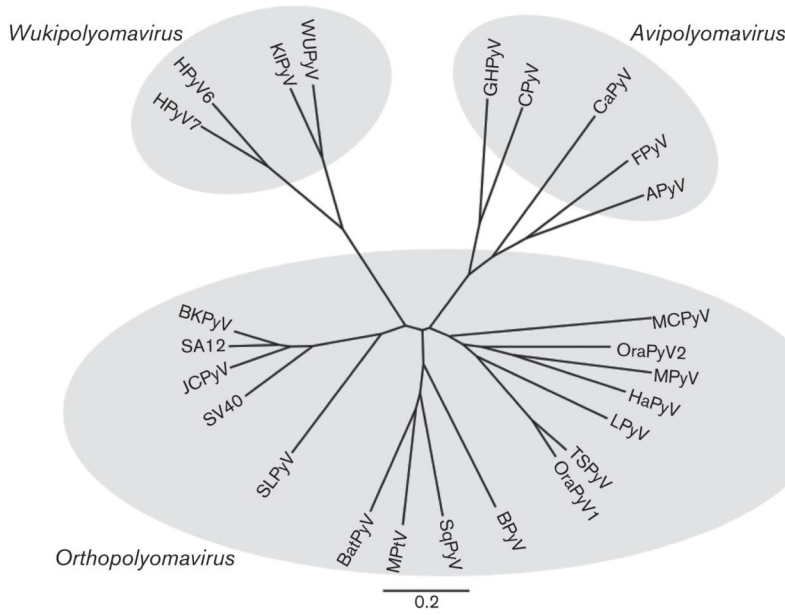
TÜRLER: Ref. Suş GenBank no: Kısaltılmış ad: Konak:

Polyomaviridae ailesi üyelerine benzer özellikler taşıyan ancak polyomavirus türü olarak henüz onaylanmamış viruslar:

Athymic rat polyomavirus	–	(RatPyV)	Sıçan
Baboon polyomavirus 2	–	(BPyV2)	Maymun
Cynomolgus polyomavirus	–	(CyPV)	Maymun
Rabbit kidney vacuolating virus	–	(RKV)	Tavşan

Tür adları italik yazılmıştır. Tür adı altında yer alan adlar türü temsil eden suşlara aittir. Türe ait referans suşun gen dizisinin gen bankası numarası köşeli parantez içinde; tür adının kısaltması ise parantez içinde gösterilmiştir.

*HaPyV genomunun gen bankasındaki NC_001663 numaralı dizi verisinde VP1 kodlama bölgesinde dizilenmemiş bir bölüm bulunmaktadır. AJ006015 numaralı dizi HaPyV genom dizisinin eksik bölgesinin tamamlanmasında kullanılan VP1 dizisini içermektedir.



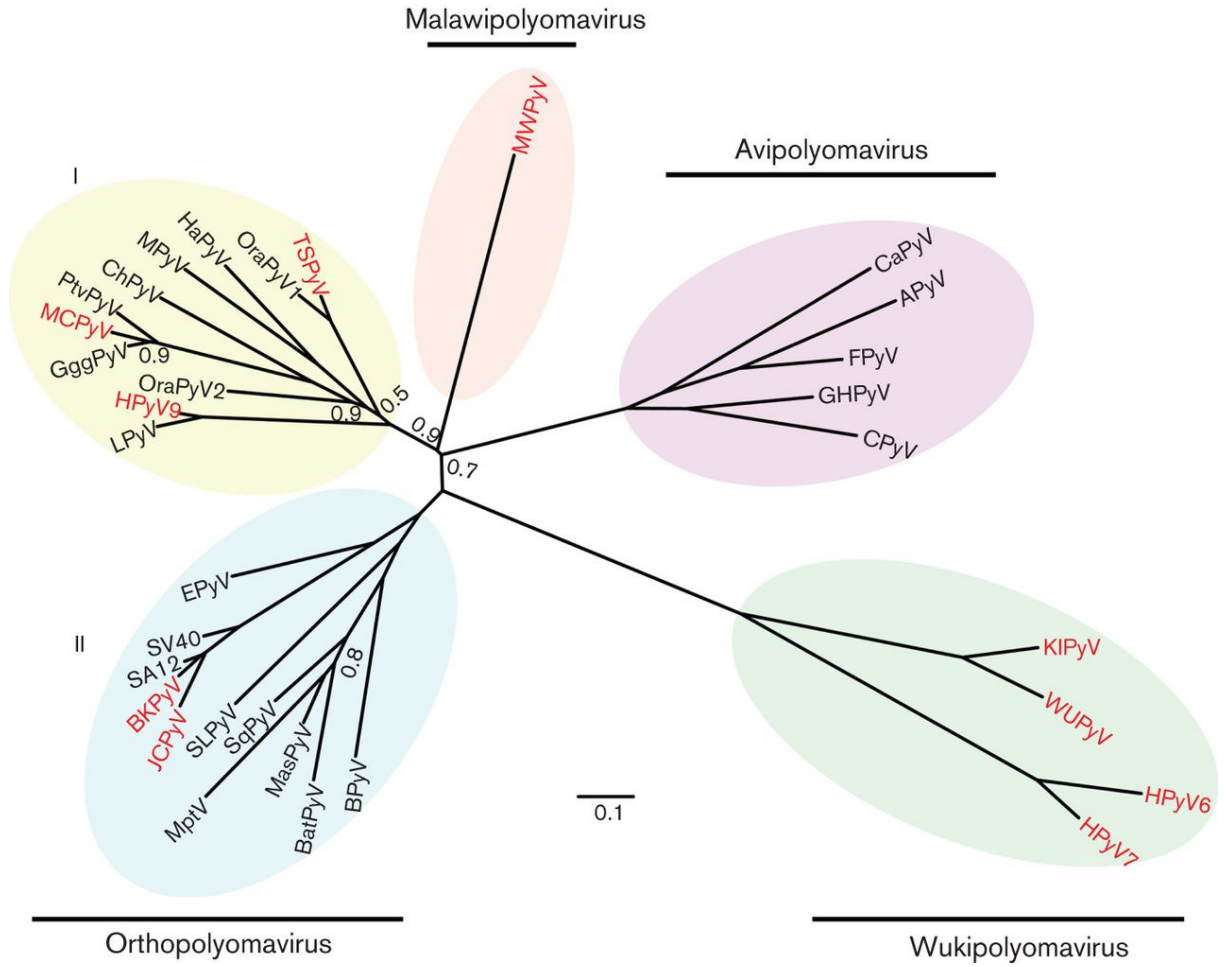
Şekil 2-1: ICTV'nin *Polyomaviridae* Çalışma Grubu tarafından tüm genom nükleotid dizi verilerine göre hazırlanmış, filogenetik ağaç (35).

ICTV'nin *Polyomaviridae* Çalışma Grubu tarafından önerilen sınıflandırmada, ICTV'nin 2012 yılına ait sınıflandırmasında *Polyomavirus* cinsinde yer alan Baboon polyomavirus 2 ve Rabbit kidney vacuolating virus'un "aileye üye olması muhtemel viruslar" olarak tanımlanmış olmasının gerekçesi olarak, bu iki virusun morfolojik ve/veya antijenik olarak polyomavirus karakteri taşımasına karşın genom nükleotid

dizilerine dair veri olmaması gösterilmektedir. Atymic rat polyomavirus'un hiçbir nükleotid dizisinin bilinmemesi, ancak SV40 spesifik antikorlarla reaksiyon vermesi; Cynomolgus polyomavirus'un ise genomunun sadece kısa bir parçasına ait (129 nükleotid) dizinin homoloji göstermesi dolayısıyla bu iki virus, aileye üye olması muhtemel viruslar arasına alınmıştır (35).

Human polyomavirus olarak tanımlanmış tür de sınıflandırma önerisinde yer almamaktadır. Bu durum, bu virusun, bilinen insan polyomavirusları (JCPyV, BKPyV, MCPyV, KIPyV, WUPyV, HPyV6 ve HPyV7) dışında bir virus olarak varlığını destekleyen bilimsel bir verinin bulunmaması ile açıklanmaktadır. Öneride, African green monkey polyomavirus, B-lymphotropic polyomavirus olarak (*Orthopolyomavirus* cinsinde); Budgerigar fledgling disease polyomavirus (budgerigar fledgling- yavru muhabbet kuşu) ise Avian polyomavirus olarak (*Avipolyomavirus* cinsinde) yeniden adlandırılmıştır. Chimpanzee polyomavirus'un *Orthopolyomavirus* cinsinin muhtemel üyesi olarak tanımlanması genomunun sadece VP1 kodlayıcı bölgesinin nükleotid dizisinin filogenetik analizinin yapılmış olması nedeniyledir (35).

Virus keşfinin yoğun olarak görüldüğü son dönemlerde araştırmacılar, yeni bulunan virusların *Polyomaviridae* ailesinin diğer üyeleriyle olan filogenetik ilişkisini belirlemek amacıyla filogenetik analizleri sürekli güncellemek durumunda kalmışlardır. ICTV'nin *Polyomaviridae* Çalışma Grubu tarafından sunulmuş olan cins önerilerini kullanarak oluşturulmuş; yeni üyeleri de kapsayan filogenetik ağaç Şekil 2.2'de görülmektedir (30).

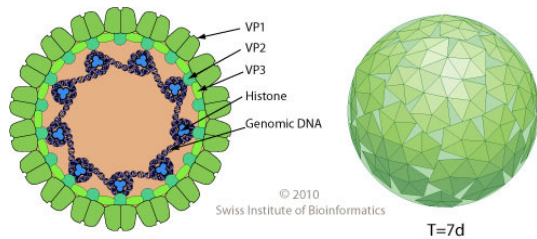


Şekil 2-2: VP1, VP2 ve LT aminoasit dizileri temel alınarak oluşturulmuş filogenetik ağaç. Orthopolyomavirus cinsi I ve II olmak üzere iki dala ayrılmıştır. MWPvV, diğer cinslerden ayrı konumlanmıştır (30).

2.3. BK Polyomavirus (BKPyV)

2.3.1. Viriyon Yapısı:

Polyomaviruslar, 40-45 nm çapa sahip olan ikozahedral kapsidli, zarfsız viruslardır. Viriyonları T=7d ikozahedral simetri göstermekte olup (Şekil 2.3) sükröz dansitesi 240S'dir (2).



Şekil 2-3: Polyomavirusun viriyon yapısı (36)

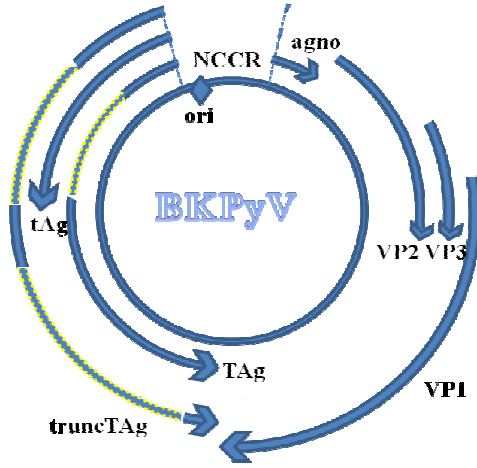
Viriyon yapısı, %88 protein ve %12 DNA içeriğine sahiptir. Viriyonda ana kapsid proteini olan VP1 (45 kDa), 72 pentamer oluşturacak şekilde 360 kopya halinde bulunmaktadır (2, 33). Her VP1 proteini, uzun C-terminal bölgesini komşu pentamerlere uzatmak suretiyle pentamerler arası ilişki kurarak kapsidin kararlı bir yapı kazanmasını sağlar. Kapsid oluşumunda pentamer kapsomerler arasında disülfid bağları kurulur. VP1 proteini, ayrıca kapsidin iç bölgesinde bir VP2 (35 kDa) ya da VP3 (23 kDa) minör kapsid proteini ile hidrofobik etkileşimlerle bağlantı kurar. Virus kapsidi, toplam 72 minör kapsid proteini taşımaktadır (2, 37).

2.3.2. Genom:

Polyomaviruslar, çift iplikli ve halkasal DNA genoma sahiptir. Genomik olarak BKPyV, JCPyV ile %75, SV40 ile %69 oranında homoloji göstermektedir (38). BKPyV üzerinde gerçekleştirilen genom çalışmalarında referans suş olarak kullanılan BKPyV Dunlop suşunda 5153 baz çifti bulunmaktadır (JCPyV Mad-1 suşu 5130, SV40 776 suşu 5243 bp). Viriyon ağırlığının %10-13'ünü oluşturan genomun G+C içeriği %40-50 oranındadır (34). Virus DNA'sı, H2A, H2B, H3 ve H4 histonlarıyla paketlenmiş; kromatin ya da minikromozom analogu bir yapı oluşturmuş durumdadır (2, 12, 13). Bu yapıda yaklaşık 20 nüklezom bulunmaktadır (39).

BKPyV genomu, infekte ettiği insan hücresi nükleusunda epizomal halde bulunur. BKPyV'nin kemirgenlerde oluşturduğu tümörlerde ise, genomunun, konak hücre genomuna yerleştiği bulunmuştur (38).

BKPyV genomu üç bölgeye ayrılabilir: (i) düzenleyici proteinleri kodlayan erken genler bölgesi, (ii) kapsid proteinleri ile agnoproteini kodlayan geç genler bölgesi ve (iii) replikasyon orijini ile erken ve geç genlerin transkripsiyonlarının düzenlenmesinde rol oynayan dizileri taşıyan kodlama yapmayan kontrol bölgesi (noncoding control region - NCCR) (Şekil 2.4) (2).



Şekil 2-4: BKPyV genomunun şematik yapısı.

2.3.2.1. Erken Genler Bölgesi:

Erken genler bölgesinde transkripsiyon, infeksiyon sürecinde virusun yaşam döngüsünün erken evresinde görülür; virus DNA'sının replikasyonu başladıktan sonra da sürebilir. Bu bölgenin transkripsiyonuyla oluşan pre-mRNA'dan alternatif uç birleştirme (alternative splicing) ile farklı proteinler kodlanır. Bu proteinler, tümör (T/t) antijenleri olup virus ve konak genomu üzerinde düzenleyici etkiye sahiptir (40).

Büyük T Antijeni:

Büyük T antijeni (TAg), 695 aminoasit içeren bir fosfoproteindir. Sitoplazmada sentezlendikten sonra amino terminal kısmında bulunan nükleer lokalizasyon sinyali sayesinde nükleusa girerek virus replikasyonunu ve geç genlerin transkripsiyonunu düzenleyen çok işlevli bir proteindir. Kendi transkripsiyonunu da kontrol edebilme yeteneğine sahiptir (41). BKPyV'nin TAg'si, nükleusa taşınmasını sağlayan nükleer lokalizasyon sinyali (NLS) olarak SV40 ile ortak olan KKKRKVD (Tablo 2.3) dizisini taşır. DNA ile bağlantı kuran bölgelerinde ise iki virusun TAg'si %80 oranında dizi homolojisi gösterir (40).

Tablo 2-3: Aminoasit adları ve sembolleri (167)

Aminoasit adı	Semboller		Aminoasit adı	Semboller	
Alanin	Ala	A	Lizin	Lys	K
Arjinin	Arg	R	Lösin	Leu	L
Asparajin	Asn	N	Metiyonin	Met	M
Aspartik asit	Asp	D	Prolin	Pro	P
Fenilalanin	Phe	F	Serin	Ser	S
Glisin	Gly	G	Sistein	Cys	C
Glutamik asit	Glu	E	Tirozin	Tyr	Y
Glutamin	Gln	Q	Treonin	Thr	T
Histidin	His	H	Triptofan	Trp	W
İzolösin	Ile	I	Valin	Val	V

Kemirgen hücrelerinde transformasyona yol açması nedeniyle tartışılabilen BKPyV'nin insanda kanser etkeni olup olmadığı konusunun odak noktasında TAg yer almaktadır. Ancak insan için BKPyV ile kanser arasındaki ilişki henüz aydınlatılmayı beklemektedir (41). BKPyV'nin TAg'si, p53'e ve retinoblastoma ailesi üyeleri (pRb) olan p107 ve p130 proteinlerine bağlanabilmekte ve bu proteinleri etkisiz hale getirebilmektedir. BKPyV'nin TAg'sinin serbest transkripsiyon faktörü EF2 (uzatma faktörü 2 - elongation factor 2) düzeyini arttırdığı gösterilmiştir. Bu sayede hücre bölünmesini arttırır (40, 42).

SV40'ın TAg'sinde bir bölgenin (525-541. aminoasitler) antiapoptotik aktivite taşıdığı ve bu sayede yüksek oranda viral progeni üretimini sağladığı saptanmıştır (43, 44). BKPyV, iki aminoasit farklılığıyla aynı bölgeyi taşıdığından BKPyV'nin de benzer işleve sahip olabileceğini düşünülmektedir. BKPyV TAg'sinin SV40'ta bulunan TAg'nin ATPaz bölümünün (593-661) önemli bir kısmını (640-661. aminoasitler) taşımadığı, geri kalan kısımda ise %45 homoloji gösterdiği saptanmıştır (45).

Küçük T Antijeni:

Sistein bakımından zengin olan küçük t antijeni (tAg), infekte hücrede hem nükleusta hem de sitoplazmada yer alır. Yaklaşık 17 kDa olan tAg, 172 aminoasit içerir. Farklı karboksi terminal kısımlara sahip olan TAg ile tAg proteinleri, amino terminal kısımlarında 82 ortak aminoasit taşır. BKPyV ile SV40 tAg'leri %73 oranında homoloji gösterir; karboksi terminal kısımlarında ise homoloji oranı %59'dur (40). BKPyV'nin tAg'sinin biyolojik özellikleri hakkında yapılmış az sayıda çalışma bulunmaktadır.

BKPyV tAg'si serin-treonin protein fosfataz 2A'ya (PP2A) bağlanır ve bu enzimi inhibe eder. Hücre içi sinyal iletiminde rol oynayan PP2A, katalitik ve yapısal alt

birimlerden oluşan bir kor kompleksi ile buna bağlı düzenleyici alt birimden oluşur. SV40 tAg'sinin ilk 51 aminoasidinin eksikliğinin kor enzim kompleksiyle bağlanmada 140 kat azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. tAg'nin amino terminal bölgesi, şaperon Hsc70'e bağlanan DnaJ proteinlerinin J bölümleriyle dizi benzerliği taşır ve SV40 ile BKPyV arasında büyük oranda korunmuş durumdadır. Mutasyon analizlerinden edinilen sonuçlarla, PP2A ile etkileşimde, tAg'nin J bölümünün rol oynadığı ileri sürülmektedir. tAg, PP2A inaktivasyonu ile MAP kinaz yolağı üzerinden hücre çoğalmasını arttırıcı etki gösterir (46, 47, 48).

tAg'nin BKPyV'nin yaşam döngüsündeki rolü tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir. Virus replikasyonunda gerekli olmadığı bilinmektedir; çünkü tAg kodlayıcı bölgesinde delesyon olan BKPyV (MM) suşu, infekte ettiği hücrede çoğalabilmektedir (49).

tAg'nin *in vivo* transformasyondaki etkisi de tartışma konusudur. Transformasyon oluşumunda TAg'ye yardımcı rolü olduğu düşünülmektedir (40).

Kesintili (Truncated) T Antijeni:

BKPyV'nin kesintili T antijeni (truncTAg), 136 aminoasit içerir. J bölümü ve pRb (retinoblastoma protein) proteinlerini bağlayıcı bölge gibi TAg ile taşıdığı ortak diziler nedeniyle transformasyonda rol oynayabileceği düşünülmektedir (50).

2.3.2.2. Geç Genler Bölgesi:

Geç genler bölgesi, virus DNA'sının replikasyonu başladıktan sonra transkripsiyona uğrar; bununla birlikte infeksiyonun erken evresinde bu genlerin düşük düzeyde transkripsiyonu gerçekleşebilir. Yapısal proteinler olan VP1, VP2 ve VP3 ortak bir öncül mRNA'dan alternatif uç birleştirme işlemiyle oluşturulurlar. VP2 (351 aminoasit) ve VP3 (232 aminoasit) aynı mRNA'dan farklı başlangıç kodonlarını kullanarak sentezlenirler. Karboksi terminal kısmında tüm VP3 dizisini taşıyan VP2, buna ek olarak amino terminal kısmında 119 aminoasit daha içerir. Farklı bir okuma çerçevesinden sentezlenen 362 aminoasit uzunluktaki VP1'in amino terminal kısmını kodlayan alan VP2 ve VP3'ün karboksi terminalini kodlayan alanla çakışır. VP1, temel kapsid proteinidir (40).

VP1:

BKPyV'de, VP1'in aminoasit dizisi incelendiğinde, JCPyV ile (354 aminoasit) %78,2, SV40 ile (364 aminoasit) %81,3 oranında benzer olduğu görülür (51). VP1, 362 aminoasit uzunlukta olup rulo pasta (jelly-roll) topolojisinde iki anti-paralel β -tabaka oluşturur. VP1, kapsid yüzeyinde sergilenen ve her harfin bir β zincirini temsil ettiği BC, DE, EF, GH ve HI olmak üzere beş kıvrım içermektedir. Karboksi ve amino terminal uçlar kapsidin iç yüzeyinde bulunmaktadır. VP1'in BC, DE ve HI kıvrımları kapsid yüzeyinde, diğer iki kıvrımdan daha dışarıda konumlanmış durumdadır ve bu bölümler antijenik özellikte, hemaglutinasyonda ve reseptöre bağlanmada etkilidir. Kapsid yapısında beş VP1 monomeri bir pentamer alt birim oluşturacak şekilde sıkıca bir araya gelir. Oluşan yapı, merkezinde halkasal bir açıklık olan yuvarlak bir görünüm kazanmaktadır (52).

Polyomaviruslar, nükleusta projeni viriyonlar üretir. Bu nedenle translasyon sonrasında sitoplazmada sentezlenmiş olan kapsid proteinlerinin nükleusa taşınması gerekir. Nükleusa taşınacak bu proteinler, genellikle lizin ya da arjinin gibi bazik aminoasitlerden oluşan bir nükleer lokalizasyon sinyali taşır. Bu bazik aminoasitler bir ya da iki grup halinde düzenlenmiş olup tek parçalı (monopartite) ya da çift parçalı (bipartite) sinyal olarak tanımlanırlar. NLS'yi tanıyan karyoferin alfanın, bazik aminoasitler için iki adet bağlayıcı bölge taşıdığı gösterilmiş, bu haliyle proteinin, NLS'nin tek parçalı ve çift parçalı yapısı için bağlayıcı kalıplara sahip olduğu ileri sürülmüştür (53).

VP1'in amino terminal kısmında bulunan iki parçalı sinyal dizisi, SV40'ın VP1 proteininde bulunan diziyile büyük benzerlik taşır. SV40'ta görüldüğü gibi BKPyV'nin VP1'inin de VP2 ve VP3 yokluğunda nükleusa taşınabildiği ileri sürülmektedir. Buna karşın farklı bir diziyeye sahip olan JCPyV'nin VP1'i, nükleusa taşınmada VP2 ve VP3 varlığına gereksinim duymaktadır (53).

VP2 ve VP3:

Karboksi terminal kısımlarında çakışan dizilere sahip olan VP2 ve VP3 N-terminal kısımlarında farklılık gösterir. Bu proteinlerin ortak bölgelerinden bahsedildiğinde VP2/VP3 terimi kullanılmaktadır. VP2, 115 aminoasit daha uzun bir N-terminal bölgeye sahiptir ve bu bölgedeki glisin aminoasidi miristile edilir. Miristil grubunun infeksiyon sürecindeki işlevi konusunda farklı görüşler bulunmaktadır. Konak

hücre membranına penetrasyonda etkili olduğunu öne süren araştırmacıların (54) yanı sıra, bu grubun hücreye girişte etkili olmadığını bildiren araştırmacılar (2, 55) da bulunmaktadır.

VP2 ve VP3'ün NLS dizisinin SV40'ta karboksi terminal kısımda yer aldığı belirlenmiştir (53). BKPyV'nin VP2'sinin, karboksi terminal kısmının dizi analizi verileri, bu bölgenin işlevsel olarak korunmuş olduğunu ve içerdiği bir seri bazik aminoasitle NLS'yi kapsadığını ortaya koymuştur (56).

SV40'ta VP3'ün, hücrede oligomerizasyona uğradığı ve endoplazmik retikulum (ER) membranına girerek bir viroporin yapısı oluşturduğu öne sürülmüştür. Bu sayede virus genomunun ER'den sitoplazmaya taşınmasında etkili olduğu ifade edilmiştir (57). Ancak BKPyV'nin VP3'ünün rolü hakkında henüz açık bir bilgi yoktur.

Agnoprotein:

BKPyV'nin agnoproteini 66 aminoasit içeren bazik bir protein olup özellikle amino terminal kısmının BKPyV, SV40 ve JCPyV'de korunmuş olduğu görülür (58, 59). Mutasyon çalışmalarıyla agnoprotein ekspresyonu olmayan virusların infeksiyon oluşturma yeteneklerini koruduğu ancak daha düşük etkinlikte çoğalma gösterdikleri belirlenmiştir (60). Agnoprotein, sitoplazmada bulunur; ancak az miktarda nükleusta da yer alabilir. Bu proteinin BKPyV'deki işlevi tam olarak bilinmemekle birlikte, polyomaviruslarda gen ekspresyonu, replikasyon, viriyon olgunlaşması ve virusun hücre dışına çıkışıyla ilişkilendirildiği bildiriler bulunmaktadır (59, 61, 62).

Diğer Açık Okuma Çerçeveleri:

BKPyV genomunda peptid kodlayabilecek küçük okuma çerçeveleri bulunmuştur. BERP (BKPyV early leaders peptide), SV40'ta bulunmuş olan SV40 erken lider peptidi SELP'in (SV40 early leaders peptide) BKPyV'de bulunan benzeri olup erken bölgeden kodlanan 39 aminoasit içerikli hidrofobik bir peptiddir. SV40'ın 23 aminoasit delesyona uğramış SELP taşıyanlarının da vahşi tip virus özelliğinde oldukları gözlenmiştir. Bir diğer açık okuma çerçevesi erken bölgenin 3' ucunda saptanmış olup teorik olarak 75 aminoasit uzunlukta bir peptid için kodlama yaptığı bildirilmiştir. Bu iki peptidin BKPyV'de varlığı ve üstlendikleri rolleri tanımlanmamıştır (40).

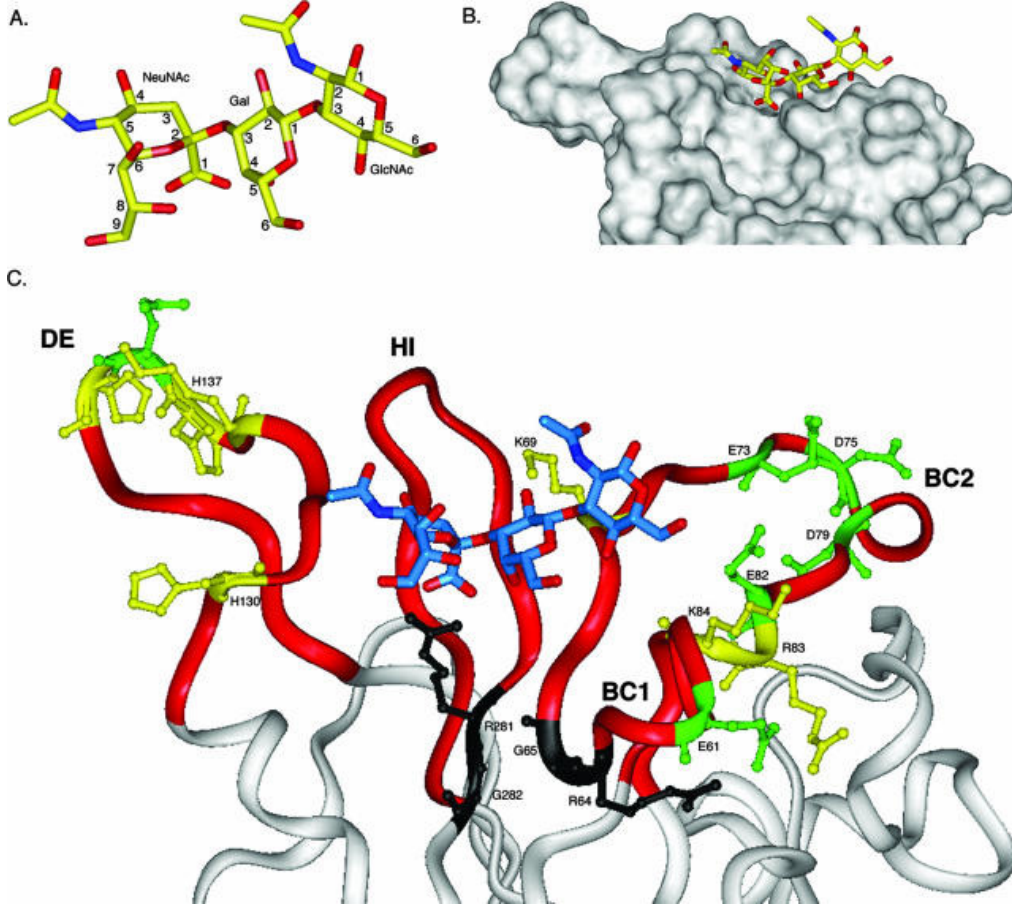
2.3.2.3. Kodlama Yapmayan Düzenleyici Bölge:

Virus DNA'sının sentezi, NCCR'deki replikasyon orijininin (Dunlop suşunda ⁹⁷GAGGCA GAGGCG GCCTCG GCCTC¹¹⁹ dizisi) başlar ve replikasyon çatalları buluşana dek zıt yönlerde ilerler. Farklı BKPyV suşlarının, sergilediği genom dizi çeşitliliği, özellikle NCCR bölgesinde göze çarpmaktadır. Söz konusu çeşitlilik, delesyon ve duplikasyon olaylarıyla bu bölgede gerçekleşen yeniden düzenlenmelerden kaynaklanır. Virusun, NCCR DNA dizi yapısı temel alınarak arketip virus ve yeniden düzenlenmiş varyantlar olarak tanımlanan iki farklı formu bulunur. İmmün sisteminde sorun olmayan kişilerin idrarında saptanan BKPyV suşu, arketip (ww-) NCCR yapısına sahip olarak tanımlanmıştır. Bu virus, hücre kültüründe pasajlanması durumunda yerini, genomun diğer bölgeleri sabit kalırken NCCR bölgesinde yeniden düzenlenmeler taşıyan (rr-) BKPyV varyantlarına bırakır (38).

İdrarda baskın olarak bulunan arketip BKPyV'nin virusun bulaşıcı formu olduğu düşünülmektedir. Buna karşın hasta örneklerinde vahşi tip virus suşunun yanında, yeniden düzenlenmeye uğramış virüslere de rastlanır. Sağlıklı bir hücresel bağışıklığın, rr-NCCR yapısının oluşumu önünde bir engel oluşturduğu hipotezi ileri sürülmüştür. rr-NCCR BKPyV'de, ww-NCCR ile karşılaştırıldığında erken genlerin ekspresyonunda artışla beraber virus replikasyonunun da arttığı *in vitro* gösterilmiştir. Bu nedenle rr-NCCR'nin böbrek nakli yapılmış kişilerde, yüksek plazma BKPyV yükü ve nefropatiyle ilişkilendirildiği çalışmalar bulunmaktadır (63, 64). Ancak immün sistem elemanlarının rr-NCCR oluşumuna etkisi ve rr-NCCR BKPyV suşlarının patogenezdeki rolü açıklanmayı bekleyen konulardır (38, 44). Arketip NCCR bölgesinden türeyen yeniden düzenlenmiş NCCR bölgesine sahip BKPyV suşlarının konakta persistans sürecinde gerçekleşen kısa süreli evrimleşme ile ortaya çıktığı ileri sürülmüştür (4).

Arketip NCCR bölgesi taşıyan virus (WW), bu bölgede 17 artıklı bir palindrom (PAL), bunu takip eden bir nükleotid, iki set halindeki purin bakımından zengin ters tekrarlar (IR1 ve IR2), yaklaşık 20 baz çiftinden oluşan AT'den zengin bir bölge (A/T) ve replikasyon orijini bölgesi olan O (142 bp) ile birlikte P (68 bp), Q (39 bp), R (63 bp) ve S (63 bp) olarak adlandırılan transkripsiyonel dizi bloklarına sahiptir (Şekil 2-5) (38, 40). P bloğunun 5' ucunda rep elementi olarak tanımlanan 21 bp'lik bölgenin replikasyon için gerekli olduğu gösterilmiştir (65).

oyukta gerçekleşir (Şekil 2-6). HI ve BC kıvrımlarında bulunan aminoasitlerin yan zincirleri ile reseptör arasında bağlantı kurulur (6, 73).



BKPyV'nin hücre içinde izlediği yol hakkında çok sayıda bilinmeyen nokta vardır. Cevaplandırılmayı bekleyen sorulardan biri BKPyV'nin kapsidinin soyulma işleminin nerede ve nasıl gerçekleştiğidir. "Nerede" sorusuna yanıt olarak iki organel öne sürülmektedir; bunlar endoplazmik retikulum (ER) ya da Golgi aygıtıdır (GA) (75, 76).

BKPyV enfeksiyonunda, hücreye girişin ardından düşük pH aşamasının gerçekleşmesi gerektiği saptanmıştır; ancak bu aşamanın nerede ve tam olarak ne amaçla gerçekleştiği bilinmemektedir (72). Düşük pH'nin, kapsidin konformasyonel değişimine yol açarak soyulmayı ve membran penetrasyonunu sağlayacağı olasılığı üzerinde durulmaktadır. Virusun hücreye giriş sonrası içinde bulunduğu kaveozom ortamı, nötral pH'ye sahiptir. Henüz tanımlanmamış bir endozom/lizozom yapısıyla kaveozom arasında kurulan bir ilişkiyle bu gereksinimin karşılanabileceği düşünülmektedir (75). Bir diğer olasılık ise düşük pH gereksiniminin GA tarafından karşılanmasıdır. pH değeri *trans* ve *cis* bölgeleri arasında 6,0'dan 6,7'ye ulaşmakta olan GA'dan, aktif ters taşıma ile nükleusla bağlantılı olan ER'ye geçiş gerçekleşebilir. Bu özellikleriyle GA, kapsid soyulmasının gerçekleşebileceği uygun ortama sahiptir (76).

BKPyV'nin hücre içindeki hareketinde mikrotübüllerin etkisi araştırılmıştır. Hücre iskeletini oluşturan, α - ve β -tübülün dimerlerinden oluşan filamentler olan mikrotübüller, hücreye şekil vermelerinin yanında hücre hareketi, hücre içi molekül, granül ve vezikül transferinde de görev alır. Mikrotübül dinamiği, mikrotübül ucunda tübülün dimerlerinin kısalıp uzaması olaylarını kapsar. Polyomavirusların hücre içinde hareketlerinde mikrotübül dinamiğinin gerekliliği konusunda yapılmış çalışmalarda farklı verilere rastlanmaktadır. Mikrotübül dinamiğinin BKPyV'nin enfeksiyon sürecine etkisinin olmadığını öne süren araştırmacıların (77) çalışmalarında, Afrika yeşil maymun böbrek hücrelerinin (vero hücreleri) kullanıldığı; BKPyV hareketi için mikrotübül dinamiğinin gerekli olduğunu gösteren araştırmacıların çalışmalarında ise (78) insan renal proksimal tübül epitelyal hücrelerinin (HRPTEC) kullanıldığı görülmektedir. Hücrede virus hareket mekanizması genellikle hücre tipine bağlı olduğundan BKPyV enfeksiyonu çalışmalarında, virusun doğal konağına ait hücre tipini kullanmanın önemli olduğu görülür. Mikrotübüllerle taşınmada, motor proteinlerden olan dinein proteininin aktivitesine gerek olmadığı bildirilmiştir (75, 78).

ER'den GA'ya protein hareketini inhibe eden brefeldin A kullanılarak yapılan çalışmalarda üretken BKPyV enfeksiyonunun önlendiği gösterilmiş ve bu virusun

nükleusa yolculuğunda ER'den geçmesi gerektiği saptanmıştır (72). Ancak ER'ye taşınmada etkili olan mekanizma tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir (31).

ER membran kanalından sitozole geçiş için proteinleri konformasyonel değişime uğratan protein disülfit izomerazların, VP1'de konformasyonel değişim yaratarak kapsid soyulmasına neden olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca yanlış katlanmış olan proteinlerin, proteozomlarda parçalanmasında etkili olan ER ile ilişkili protein degradasyonu (ERAD - ER-associated protein degradation) yolunda görev alan proteinlerin de polyomaviruslarda ER'den sitozole geçişte etkili olabildiği bildirilmiştir (75, 79). ERAD yolunda görev alan Derlin-1 proteini, BKPyV enfeksiyonunda önem taşır. Derlin-1, VP1 ile bağlantı kurarak BKPyV'nin ER'den çıkışında rol oynar. Virusun ER'den çıkarken kapsid bütünlüğünü ne derecede muhafaza ettiği bilinmemektedir. ER, ayrıca nükleusla olan bağlantısı ile BKPyV'nin nükleusa aktarılmasını da sağlayabilir (44).

ER'den GA'ya BKPyV geçişinin olamayacağı ya da virusun, saptanamayacak kadar hızlı bir geçiş gerçekleştirerek GA'dan nükleusa ulaşabileceği ifade edilmektedir (78).

BKPyV'nin nükleusa hangi yolla girdiği bilinmemektedir (44). SV40 ile yapılmış çalışmalardan edinilen bulgular, bu virusun ER'den sitoplazmaya çıktığını ve nukleer por yapısından geçerek nükleusa ulaştığını düşündürmektedir. Virusun, yaklaşık 45 nm'lik büyüklüğüyle pordan geçişinin zor olduğu düşünüldüğünde kapsidin kısmen parçalanmasıyla virusun, 39 nm'den daha küçük bir boyutla nükleusa ulaşabileceği bildirilmiştir. ER'de gerçekleştiği kabul edilen kısmi parçalanma sonucu kapsidin minör proteinleri açığa çıkar. VP3'ün nukleer lokalizasyon sinyalinin importin proteinleri ile birlikte SV40'ın nükleusa girişinde etkili oldukları gösterilmiştir (44).

2.6. Transkripsiyon ve Replikasyon:

BKV'nin duyarlı bir hücrede gerçekleştirdiği enfeksiyonda erken genlerin ekspresyonunu, DNA replikasyonu ve ardından geç genlerin ekspresyonu takip eder. Progeni virus partikülleri oluşur ve hücre ölür (2).

Erken bölge, genomun çekirdeğe girişinin ardından hücrenin RNA polimeraz II enzimi ile transkripsiyona uğrarken geç bölge transkripsiyonu, virus DNA'sının replikasyonu sonrasında gerçekleştirilmektedir. Erken bölgeden, alternatif uç birleştirme

(splicing) işlemiyle oluşan mRNA'ların ürünleri olan, TAg, tAg ve truncTAg kodlanır (38). Alternatif uç birleştirme işleminde pre-mRNAdaki ekzonların farklı proteinlerin sentezini sağlayacak şekilde seçilimi gerçekleştirilir. Bazı ekzonlar, intron dizileriyle birlikte pre-mRNA'dan ayrılır ve kalan ekzonlar bir protein için kodlama yapar (80). TAg sentezi için bir intronun ayrılmasıyla ilk ekzon ve diğer ekzonun uçları birleşir ve oluşan mRNA translasyona uğrar. İlk ekzondan translasyonun devam etmesi durumunda ise, intron dizisinde yer alan terminasyon kodonu tAg oluşumunu sağlar (Şekil 2-7) (38).



Şekil 2-7: BKPyV'nin T antijenlerinin uç birleştirme düzenlemesi.

LT- büyük T antijenini (TAg), ST- küçük t antijenini (tAg) ve truncT- kesintili T antijenini ifade etmektedir. Renkli bölgeler kodlayan dizileri, noktalı alanlar intron dizilerini göstermektedir. Farklı renkler, ayrı okuma çerçevelerini göstermektedir. Tüm T antijenleri, ekzon 1 içinde (mor bölge) ortak diziyeye sahiptir (12)

T antijenleriyle ilgili çalışmaların genellikle SV40 ile gerçekleştirildiği görülmektedir. Sitoplazmada sentezlendikten sonra, taşıdığı NLS ile nükleusa dönen TAg, replikasyon orijinine bağlanır ve bir dizi olayı yönlendirir: RNA polimerazın bağlanmasını engelleyerek erken genlerin transkripsiyonunu sonlandırır; hücresel proteinleri bir araya getirip helikaz işleviyle DNA'yı çözerak virus genomunun replikasyonunu başlatır; geç gen bölgesinin promotoruna bağlanarak transkripsiyonu aktive eder. tAg, TAg'ye yardımcı bir faktör olarak DNA replikasyonunu arttırıcı etki gösterir (81, 82).

Replikasyon, NCCR bölgesinde yer alan orijin bölgesinden başlar ve zıt yönlü olarak replikasyon çatallarının buluşmasına dek devam eder. Sentezin başlatılmasında replikasyon orijinine bağlanan TAg, konağın replikasyon faktörleri olan replikasyon proteini A (RPA), DNA polimeraz α -primaz (Pol-primaz) ve topoizomeraz I'i bir araya getirir. Pol-primaz, sentezin başlaması için gereken primerleri sentezler; ardından DNA polimeraz δ , prolifer edici hücre nükleer antijeni (PCNA) ve replikasyon faktörü C ile sentezi gerçekleştirir (83).

Replikasyonun ardından geç bölge genlerinin transkripsiyonu başlar ve kapsid proteinleri olan VP1, VP2 ve VP3 kodlanır. VP2 ve VP3 ortak bir okuma çerçevesinden translasyona uğrar. Translasyon sonrası kapsid proteinleri viriyon yapısını oluşturmak

üzere nükleusa geri döner (2). Agnoprotein, infeksiyonun geç döneminde ekspresyona uğrar ve büyük kısmı sitoplazmada, nükleus çevresinde yer alır (84).

Geç gen proteinleri ve sentezlenen virus DNA'sının, olasılıkla agnoproteininin de katkısıyla nükleusta paketlenmesi ile viriyon oluşur. Üretken bir infeksiyon, infekte hücrenin lizisi ve viriyonların ayrılışı ile sonlanır (59, 61).

BKPyV için kemirgen hücreleri gibi duyarlı (permissive) olmayan hücrelerde litik infeksiyon önlenir. Erken gen ekspresyonu vardır; ancak virus DNA'sının replikasyonu gerçekleşmez. İnfeksiyon, durdurulmayan T antijen ekspresyonu nedeniyle onkojenik transformasyonla sonuçlanabilir. Kendi transkripsiyonunun kontrolünü de gerçekleştirme özelliği taşıyan TAg, konak hücrenin tümör baskılayıcı proteinlerine bağlanarak inaktivasyonlarına yol açması nedeniyle BKPyV'nin tümör oluşturma özelliğinin başlıca sorumlusudur (50, 85).

2.7. İmmün Yanıt

Doğal bağışıklık, primer infeksiyonun kontrolünde büyük önem taşımaktadır. Doğal bağışıklığın önemli elemanlarından olan defansinler, infeksiyon etkenlerine karşı antimikrobiyal etkili küçük (18-45 aminosit içerikli) peptidlerdir. Bu peptidlerden alfa defansin grubunda yer alan insan alfa defansini 5 (HD5) ürogenital yolda bulunmaktadır. HD5'in BKPyV ile doğrudan ilişki kurduğu ve viriyonlarda agregasyona yol açarak hücreyle bağlantı kurmalarını önlediği gösterilmiştir (86).

BKPyV dahil olmak üzere birçok virus, replikasyon sürecinde hücre içinde çift iplikli RNA (dsRNA) yapısı oluşturur. Polyomavirus transkripsiyonunda RNA moleküllerinin bir bölümünün kısmi çift iplikli formda olduğu görülmektedir. Oluşan dsRNA yapıları, Toll benzeri reseptör 3 (TLR3) ve retinoik asit indüklenebilir gen I (RIG-I) tarafından algılanarak proinflamatuvar sitokin ve kemokin ekspresyonunun gerçekleşmesini sağlar (87).

BKPyV infeksiyonunun kontrolünde özgül T hücre yanıtı, en önemli rolü üstlenmektedir. T hücre yanıtı, BKPyV'nin yapısal proteinleri VP1, VP2 ve VP3 ile TAg'ye özgül olarak gelişmektedir. Sitotoksik T lenfositleri, VP1 üzerindeki AITEVECF (44-52 peptidi) ve LLMWEAVTV (108-116 peptidi) dizilerini taşıyan iki immünolojik epitop bölgesini tanımaktadır (88, 89). Böbrek transplantasyonu yapılmış

hastalarda erken dönemde oluşan, özellikle büyük T antijenine özgül sitotoksik T hücre yanıtının BKPyV virüsü ve viremisinin gelişmesini önlediği bildirilmiştir (90).

Humoral immün yanıtta, BKPyV'nin VP1 proteinine karşı oluşan nötralizan antikorların primer infeksiyonda virusun yayılımını önleyebildiği bildirilmiştir (90). Ancak transplantasyon öncesinde BKPyV seropozitifliği, reaktivasyona ve sonrasında gelişen hastalıklara karşı koruma sağlamamaktadır. Bununla birlikte seronegatiflik durumunun BKPyV viremisi ve PyVAN gelişiminde bir risk faktörü olduğu ifade edilmektedir (91).

2.8. Epidemiyoloji

Toplumda yaygın olarak bulunan BKPyV için %90'a varan seropozitiflik oranları bildirilmektedir (30). BKPyV DNA'sının tonsil dokusunda saptanmış olması ve yüksek seropozitiflik oranları, virusun ana bulaşma yolunun solunum yolu olduğunu düşündürmektedir. İdrar, kan transfüzyonu, plasenta yolu, semen ve transplantasyon olası diğer bulaşma yollarıdır. Ülkemizde 1991 yılında yapılmış bir çalışmada (92), seropozitiflik %78,5 oranında saptanmış olup en yüksek oran 11-17 yaş grubunda (%89,3) gözlenmiştir. Sağlıklı kişilerde reaktivasyon sonucu gelişen asemptomatik virüsü yaklaşık %5 oranında bildirilmektedir. Hamilelerde BKPyV virüsü ise yaklaşık %47 oranında görülmektedir (75, 93, 94).

Primer infeksiyon, asemptomatik ya da hafif solunum yolu hastalığı belirtileriyle geçirilmektedir. İnfeksiyon sonrasında virus, üriner sisteme geçmekte ve konağın yaşamı boyunca bu bölgede persistans göstermektedir. BKPyV, böbreğin epitel hücrelerinde, üreter ve mesanede replike olabilmektedir. Virus DNA'sı periferik kan mononükleer hücrelerinde de saptanmaktadır. Virusun primer infeksiyon bölgesinden persistans bölgesine ulaşmasında bu hücreler etkili olmaktadır (1).

BKPyV, immün sistemi baskılanmış hastalarda önemli bir patojendir. BKPyV reaktivasyonu ile görülen litik infeksiyon böbrek nakli geçirmiş hastalarda polyomavirus ile ilişkili nefropati (PyVAN), kemik iliği nakli yapılmış hastalarda ise hemorajik sistit ile sonuçlanabilmektedir. BKPyV reaktivasyonu ile hastalık gelişimi, diğer solid organ alıcıları ve HIV/AIDS hastaları gibi immün sistemi baskılanmış kişilerde de görülebilmektedir (95).

2.9. BKPyV'nin Etken Olduğu Hastalıklar:

2.9.1. Polyomavirus ile İlişkili Nefropati (PyVAN):

Polyomavirus ile ilişkili nefropati (PyVAN), böbrek transplantasyonu yapılmış hastalarda %1-10 oranında görülen, %95 oranında transplantasyon sonrasındaki 2 yıl içinde gelişen ve nakledilen organın yüksek oranlarda (%30-80) kaybı ile sonuçlanabilen bir durumdur. Bu nedenle erken tanı büyük önem taşımakta olup transplantasyon yapılmış hastaların BKPyV bakımından izlendiği merkezlerde greft kaybı oranları düşüktür. (96). İstanbul Tıp Fakültesi'nde 2000-2008 yılları arasında böbrek transplantasyonu sonrası takip edilen hastalarda (412 hasta) BKPyV nefropatisi %2,7 (11 hasta) olarak belirlenmiş olup, bu hastalarda greft kaybı %27 (2 hasta) oranında saptanmıştır (97).

Transplantasyon sonrası gerçekleşen BKPyV enfeksiyonu, verici ya da alıcı kaynaklı olabilmekle birlikte yapılan araştırmalar, çoğu olguda saptanan BKPyV suşlarının verici kaynaklı olduğunu göstermektedir (98, 99).

Son yirmi yılda immünosüpresif ilaçların geliştirilmesi akut rejeksiyon oranlarında azalmayı sağlamış, ancak PyVAN insidansında artışa neden olmuştur. Böbrek transplantasyonu hastaları için farklı immünosüpresif tedavi seçenekleri olmakla birlikte genellikle bir kalsinörin inhibitörü, bir antimetabolit ve kortikosteroidden oluşan tedavi uygulanmaktadır. Siklosporin ve takrolimus gibi kalsinörin inhibitörleri, T-hücre aktivasyonu için gerekli olan sitokin genlerinin aktivasyonunu engellemektedir. Azathioprin ve mikofenolat mofetil gibi antiproliferatif ajanlar, özellikle lenfositlerde nükleik asit sentezini, dolayısıyla hücre çoğalmasını inhibe etmektedir. Kortikosteroidler antiinflamatuvar ve immünosüpresif özellikler taşımaktadır. Tüm bu ilaçlar, greft reddini önlemek için konağın immün yanıtını baskılayabilmektedir; ancak hastada nefrotoksisite ve kardiyovasküler hastalık gelişimi riski oluşturmalarının yanında virus reaktivasyonu ve malignite için uygun zemini hazırlamakta oldukları da bir gerçektir (100, 101).

PyVAN gelişimi, büyük olasılıkla tek başına immünosüpresyona bağlı olmayıp, immünosüpresyonun derecesinin yanısıra viral persistans bölgesinde oluşan hasara da bağlı olarak karşılaşılan bir durumdur. Alıcı ve greft özellikleri transplantasyon öncesi risk faktörlerini oluşturmaktadır. Ayrıca BKPyV'nin kodlama yapmayan kontrol bölgesindeki düzenlenmeler başta olmak üzere, virusun genetik faktörlerinin de etkili olduğu düşünülmektedir. PyVAN hastalarında bulunan virüslerde, VP1 kapsid geninde

saptanan mutasyonların, hastalık gelişimi üzerindeki etkisi bilinmemekte olup bazı çalışmalarda bu hasta grubunda, VP1 genindeki mutasyon sayısının nefropati bulgusu olmayan ya da sağlıklı kişilerde saptanandan daha fazla olduğu bildirilmiştir (7, 102, 103).

BKPyV, nadir olarak natif böbrekte nefropatiye neden olabilmektedir. Özellikle hematolojik malignitesi olan hastalarda transplantasyon olsun ya da olmasın bu duruma rastlanabilmektedir. Natif (doğal yerindeki sağlam) böbrekte nefropati, kemik iliği, kalp, akciğer ve pankreas transplantasyonu yapılan hastalarda bildirilmiştir (104).

2.9.2. Hemorajik Sistit:

Hemorajik sistit, dizüri, sık idrar yapma, sıkışma hissi, suprapubik ve değişen derecelerde hematüri semptomları ile karakterize bir hastalık olup ciddi durumlarda, belirgin kanama ve pıhtı oluşumu, idrar yolu tıkanıklığı, şiddetli ağrı, kontrol edilemeyen kanama ve akut böbrek yetmezliğine neden olabilir. Hematopoetik kök hücre taransplantasyonu sonrasında trombositopeni, koagülasyon bozuklukları, graft-versus-host hastalığı gibi farklı nedenlere bağlı olarak hematüri görülebilmektedir. Polyomavirus ile ilişkili hemorajik sistitin (PyVHC) diğer hematüri ve/veya sistit nedenlerinden ayırıcı tanısı yapılmalıdır (105).

Transplantasyon sonrası 2 ay içinde hastaların yaklaşık %50-80'inde yüksek virus yükü ile ($>10^7$ kopya/ml) seyreden BKPyV virürisi görülmektedir. Bu hastaların yaklaşık beşte birinde PyVHC gelişmektedir. PyVHC'de patogenez konusu tam olarak aydınlığa kavuşturulamamıştır. Başta siklofosfamid olmak üzere, hastayı hazırlama rejiminde kullanılan ürotoksik etkili ilaçlar, lokal inflamasyonu aktive ederek lokal ürotel hasarına neden olmaktadır. Bu ortamda, yüksek düzeyde BKPyV replikasyonunun gerçekleşmesi durumunda, ürotel soyulması, inflamasyon ve hematüri görülmektedir (105, 106).

2.9.3. Kanser:

BKPyV'nin insanda tümör oluşturma özelliğinin olup olmadığı, keşfedildiği yıldan itibaren tartışma konusu olmuştur. BKPyV için doğal konak olmayan, yenidoğan kemirgenlere BKPyV inokülasyonu sonrası çeşitli neoplazilerin oluştuğu gösterilmiştir. Tümör gelişiminde, erken ve geç gen ekspresyonunda gerçekleşen dengesizlik büyük rol oynamaktadır. Erken gen ekspresyonunda artışla birlikte ortamda büyük T antijeninin birikmesi, bu süreçte etkili olmaktadır. Virusun litik infeksiyona yol açması,

insanda tümör gelişiminden koruyucu bir özellik olarak değerlendirilebilir. Ancak immün sistemi baskılanmış hastaların, yüksek düzeyde görülen virus replikasyonu nedeniyle erken ve geç gen ekspresyonunda uyumsuzluk riskiyle karşı karşıya oldukları düşünülebilir (107).

İnsanda beyin tümörü, kolorektal tümör, adenokarsinom, pankreas kanseri, prostat kanseri ve mesane kanseri olgularında saptanan BKPyV DNA'sı nedeniyle virusun kanser oluşumu ile ilişkisi olabileceği öne sürülmüştür. Ancak bu bildirimlerde virusun insanda tümör oluşumuna yol açtığına dair kesin bir veri bulunmamaktadır (50, 85). Bununla birlikte, böbrek transplantasyonu yapılmış hastalarda gelişen ürotelyal ve renal tübül kanserlerde BKPyV'nin rolünün bildirildiği, dikkate değer olgu sunumları da bulunmaktadır. Bu olgularda tümör dokusunda BKPyV TAg'si saptanmış olmakla beraber BKPyV'nin tümör oluşumunu tetikleyen etken mi yoksa rastlantı sonucu tümör dokusunda bulunan etken mi olduğu sorusunun yanıtı için olgu sayısı ve yöntemsel anlamda geniş kapsamlı araştırmalar gerekmektedir (107).

İnsanlarda “kanıt yetersizliği”, deney hayvanı modellerinde ise “yeterli kanıt” olmasına dayanarak Dünya Sağlık Örgütü'nün Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı Monograf Çalışma Grubu yakın zamanda BKPyV ile JCPyV'yi “insanlarda olası karsinojen” (grup 2B) olarak sınıflandırmışlardır (108).

2.9.4. Diğer Hastalıklar:

Nadir olmakla birlikte, BKPyV'nin AIDS, Hodgkin lenfoma, lösemi gibi ciddi immün yetmezliği olan hastalarda fatal pnömoni, retinit, ensefalit ve meningoensefalit gibi hastalıklara neden olduğu bildirilmiştir (109, 110). İmmün yetmezlik durumu olmayan ensefalit olgularında da beyin omurilik sıvısı örneklerinde BKPyV varlığı bildirilmiştir (111, 112).

2.10. Tanı

BKPyV reaktivasyonunun saptanmasında sitolojik ve moleküler yöntemlere başvurulmaktadır. Sitolojik yöntem, idrar örneğinde, virusun sitopatik etkisiyle farklılaşmış böbrek epitel hücrelerinin araştırılmasını kapsamaktadır. “Decoy” hücreleri olarak adlandırılan bu hücreler, böbrek tübül hücreleri (özellikle distal segment ve toplama kanalı hücreleri) ve ürotelyum kökenli olup genişlemiş bir nükleus ve nükleer inklüzyon cisimcikleri içermektedir (113).

Decoy hücrelerini, 1950'lerde tanımlayan sitoteknolog Andrew Ricci, idrar sedimentinde saptadığı, büyük, homojen, hiperkromatik nükleuslu hücrelerin, kanser hücrelerine benzer olduğunu, ancak mesane kanseriyle ilişkisi olmadığını bildirmiştir. Kanser hücreleriyle karıştırılabilir özellikte olmaları nedeniyle, Ricci, bu hücrelere, ördek avında kullanılan sahte ördeklerden esinlenerek “decoy” (decoy, sahte, aldatıcı anlamındadır) adını vermiştir (113, 114).

Decoy hücrelerinin varlığı, hastadan alınan idrar örneğinde Papanicolaou (Pap) boyama ile hazırlanan preparatlarda gösterilebilmektedir. Ayrıca idrar sedimentinden faz kontrast mikroskopuyla boyasız inceleme de yapılabilmektedir (113).

İdrarın sitolojik incelenmesi, uygulama bakımından kolay, hızlı ve ucuz bir yöntem olarak PyVAN tanısında cazip bir seçenek olarak değerlendirilebilmektedir. Ancak negatif prediktif değeri yüksek olan (>%99) bu yöntemin pozitif prediktif değeri düşüktür (<%6). BKPyV'nin böbrek epitel hücrelerinde oluşturduğu sitopatik etki, sitomegalovirus ve adenovirus tarafından oluşturulan etkiyle karıştırılabilmektedir (Tablo 2.4). PyVAN tanısı, sadece decoy hücrelerin varlığı ile değil, özgüllüğü ve duyarlılığı yüksek testler ile gerçekleştirilmektedir (115, 116).

Tablo 2-4: İdrarın sitolojik incelemesinde etkenlere göre viral inklüzyonlar (116)

Viral inklüzyonlar	Polyomavirus Sitomegalovirus Adenovirus		
Epitel hücreler	+++	+++	+++
Endotel hücreler	-	++	-
Mononükleer hücreler	-	+	+/-
İnklüzyon tipi			
Buzlucam	++	+	++
Baykuş gözü	+, eksik halo	+++ , tam halo	+
Granüler/düzensiz*	+	-/+	-/+
Sitoplazmik	-	+	-
Sitoplazmik dejenerasyon	++	+/-	+/-
Arkapan			
Nekroz	-/+	+/-	+++
İnflamatuvar hücreler	-/+	+	+++
Hemoraji	-/+	-/+	+

*Özgül değil, tübüler hasar ve rejenerasyonda görülmektedir.

BKPyV'nin saptanmasına yönelik nükleik asit testleri, yüksek özgüllük ve duyarlılıkları, aynı zamanda kantitasyona imkan sağlayan özellikleriyle, transplantasyon sonrası hastaların takibinde tercih edilmektedir. BKPyV enfeksiyonunun erken tanısı, nefropatinin önlenmesinde gerekli yaklaşımların uygulanması bakımından büyük önem taşımakta olup nükleik asit testleri bu anlamda önemli rol üstlenmektedir (117).

Nükleik asit testlerinde, örnek olarak idrar ve plazma kullanılmaktadır. Böbrek transplantasyonu yapılmış hastalarda, idrarda BKPyV nükleik asit testinin negatif bulunmasının PyVAN için %100 negatif prediktif değer taşıdığı bildirilmiştir. İdrar taramasında alınan negatif sonuç, gelecek 4-8 haftalık süreçte hastada, viremi ve PyVAN'ın gelişmesi olasılığının çok düşük olduğuna işaret etmektedir. Bu nedenle bazı uzmanlar, BKPyV sürveyansında idrar örneğinin kullanılmasını önermektedir. Buna karşın plazmada BKPyV'nin saptanmadığı durumlar, BKPyV hastalığı riski ile ilişkilendirilmediğinden böbrek transplantasyonu yapılmış kişilerde nükleik asit testlerinin sadece plazmada uygulanması önerisi de mevcuttur (117, 118).

Sağlıklı kişilerde BKPyV reaktivasyonu ile asemptomatik virüri, %10'a varan oranlarda gözlenmekte olup düşük düzeyde ($<10^5$ kopya/ml) BKPyV saptanmaktadır. Özellikle böbrek ve kemik iliği transplantasyonu sonrasında gelişen immünoşüpresyon nedeniyle gerçekleşen yüksek düzeydeki virus replikasyonu ile idrarda saptanan BKPyV yükü 10^7 kopya/ml'nin üzerine ulaşabilmektedir. İdrarda decoy hücresi ya da BKPyV saptanması "olası" (possible) PyVAN olarak tanımlanmakta olup vireminin araştırılmasını gerektirmektedir (119).

Plazmada BKPyV DNA'sının 10^4 kopya/ml'nin üzerinde saptanması, PyVAN için yüksek pozitif prediktif değer (%50-80) taşımaktadır. Bununla birlikte farklı testlerle farklı sonuçların alınabileceği ve testlerin standardizasyonu olmadığı bilinmelidir (104, 120).

Böbrek transplantasyonu sonrası %20-60 hastada yüksek düzeyde replikasyon görülmekte olup idrarda BKPyV yükü 10^7 - 10^{10} olarak saptanmaktadır. Bu hastaların yaklaşık %30'unda idrarı takiben plazmada da BKPyV pozitifliği saptanmaktadır. Viremi gözlenen hastaların yaklaşık %60'ında PyVAN gelişmektedir. Böbrek transplantasyonu yapılmış hastaların plazma örneklerinde 4 haftadan uzun süre, 10^4 kopya/ml'nin üzerinde BKPyV saptanması, "varsayımsal" (presumptive) PyVAN olarak tanımlanmaktadır (3, 117).

“Kesin” (definitive) PyVAN tanısı, böbrek dokusundaki sitopatik değişimlerin gösterilmesi ile gerçekleştirilmektedir. Etkilenen böbrekten alınan biyopsi örneğinin incelemesi, PVAN tanısında altın standart olarak kabul edilmektedir. Bu amaçla immünohistokimyasal ya da *in situ* hibridizasyon yöntemleri kullanılabilir. İmmünohistokimyasal yöntemde genellikle SV40’ın büyük T antijeni gösterilmekte olup BKPyV VP1 ya da agnoproteinine özgül boyamalar da yapılabilir (3).

PyVAN’de patolojik değişimler üç evrede gözlenmektedir. A evresi, görünür tübülointerstisyel değişimlerin olmadığı erken evre olup bu evrede tübül hücrelerinde intranükleer inklüzyon cisimcikleri ve/veya immünohistokimyasal yöntemlerle SV40 T antijeni pozitifliği ya da *in situ* hibridizasyon sinyalleri ile farklı düzeylerde virus replikasyonu saptanmaktadır. Tübüler epitel hücrelerinde lizis gözlenmez ya da çok düşük düzeydedir. Tübüler bazal membran soyulması (viral akut tübüler nekroz) yoktur. B evresinde korteks ve/veya medullada belirgin virus replikasyonu gözlenir. Bu evre, virus tarafından indüklenen tübüler nekrozun gerçekleştiği aktif nefropati evresidir. Tübüler epitel hücre lizisi ve tübüler bazal membran soyulması gözlenmektedir. C evresinde korteks ve medullada minimumdan anlamlı düzeylere kadar değişen virus replikasyonu saptanmaktadır. Bu evre korteksin yarısından fazlasında interstisyel fibrozun görüldüğü geç evredir (121, 122).

Tedavi uygulanmadığında PyVAN, A evresinden B ve C evrelerine ilerleyeceğinden erken evrelerde (A ve B) PyVAN tedavisi ile virus replikasyonunun azaltılması amaçlanmaktadır (121).

Böbrek Hastalıkları, Küresel Sonuçların İyileştirilmesi (KDIGO - Kidney Disease: Improving Global Outcomes) Vakfı’nın 2009 yılı kılavuzunda, böbrek transplantasyonu yapılmış hastaların BKPyV bakımından takibi için öneriler bulunmaktadır. Kılavuzda sunulan öneriler derecelendirilmiş olup BKPyV için düzey 2 (farklı hastalar için farklı seçimler uygun olacaktır; her hasta, kendi değerleri ve seçimleri doğrultusunda tedavisinin kararına varmak için yardıma ihtiyaç duymaktadır; öneriler, plan tanımlanmadan önce ilgili kişilerin katılımını ve görüşlerini bildirmelerini gerektirmektedir) derecesi ve son dereceler C (düşük kanıt niteliği; gerçek etki, tahmin edilenden büyük ölçüde farklı olabilir) ile D (çok düşük kanıt niteliği; gerçek etki çok belirsiz ve sıklıkla gerçeği yansıtmaktan çok uzak olacaktır) kullanılmıştır (123).

KDIGO, böbrek transplantasyonu alıcılarının, BKPyV için plazma örneğinde kantitatif nükleik asit testi (2C) ile takip edilmesini önermektedir. Takip özellikleri şunlardır:

- transplantasyon sonrasında ilk 3-6 ayda aylık olarak (2D)
- ardından transplantasyon sonrası ilk yılın sonuna kadar 3 ayda bir (2D)
- serum kreatinin düzeyinde açıklanamayan bir artış olduğunda (2D)
- akut rejeksiyon tedavisi sonrasında (2D)
- Plazmada BKPyV nükleik asit testi 10^4 kopya/ml'nin (10^7 kopya/l) üzerinde persistans gösterdiğinde immünosupresif tedavinin azaltılması önerilmektedir (2D).

Avrupa Renal İyi Uygulamalar Kılavuzu (European Renal Best Practice – ERBP- Advisory Board) Danışma Kurulu, KDIGO rehberinde yer alan önerilerin, Avrupa'daki böbrek transplantasyonu hastalarında uygulanabilirliği konusunda değerlendirmelerde bulunmuşlar ve önerileri kendi deneyimleri temelinde uyarlayarak eksik gördükleri konularda eklemeler yapmışlardır. Kurul, BKPyV için KDIGO önerilerinden farklı bir yaklaşım bildirmemiştir (124).

Birçok çalışma gerçekleştirilmiş olmasına rağmen transplantasyon sonrası hasta takibinde tarama sıklığı ve tercih edilecek materyal çeşidi (idrara, plazma ya da her ikisi) konularında kesin bir yaklaşım yöntemi tanımlanmış değildir. Bu durum rehberlerde yer alan ifadelerde açıkça görülmektedir (117).

Plazma BKPyV yükü 10^4 kopya/ml'nin üzerinde olduğu halde biyopsi örnekleriyle PyVAN olarak saptanmayan olgular bulunmaktadır. Bu durum nefropatinin fokal karakteri nedeniyle özellikle erken evrede %10-30 olguda rastlanan yalancı negatif biyopsi sonuçlarından kaynaklanabildiği gibi biyopsi incelemesinin, yüksek plazma viral yükünün, önerildiği üzere 4 hafta sürmesi beklenmeden gerçekleştirilmiş olmasından da kaynaklanabilir. Bir diğer olasılık ise BKPyV yükünün kantitasyonunda yapılabilecek hatadır. BKPyV için kullanılmakta olan kantitatif nükleik asit testleri için uluslararası standartlar kullanılarak testlerin validasyonu yapılmalıdır (117).

Böbrek dışındaki solid organ transplantasyonu alıcılarında BKPyV virüsünün endojen BKPyV reaktivasyonu sonucu görülen ve nadir olarak hastalık gelişimi ile sonuçlanan bir durum olduğu ifade edilmektedir (3).

Hematopoetik kök hücre transplantasyonu yapılmış hastaların idrarında 10^7 kopya/ml'nin üzerinde BKPyV varlığının PyVHC gelişimi riskinin bir göstergesi olduğu ifade edilmektedir. Plazmadaki BKPyV viral yükünün 10^4 kopya/ml'den daha

yüksek saptanması ise büyük ölçüde hemorajik sistit gelişimiyle ilişkili bulunmaktadır (105).

BKPyV kültürünün uzun zaman gerektirmesi (14-28 gün) nedeniyle tanıda değil, araştırmalarda kullanılmakta olduğu görülmektedir. Seroloji ise hastanın, BKPyV enfeksiyonu gelişimi bakımından risk altında olup olmadığı hakkında fikir verebilmektedir. Alıcının seronegatif, vericinin ise seropozitif olduğu durum, ciddi risk anlamı taşımaktadır. Bu durumda seronegatif vericinin beklenmesi önerisi sunulmaktadır (113). Sağlık Bakanlığı verilerine göre Türkiye’de 2012 yılında böbrek transplantasyonu bekleyen 18 339 hasta bulunmaktadır. Transplantasyon yapılan hasta sayısı ise 2 905 olup 525 organ kadavradan alınmıştır (125). Bu koşullar altında seronegatif verici beklemek, hasta için yeni bir darboğaz oluşması anlamını taşımaktadır.

İdrar örneklerinde BKPyV VP1 mRNA’sının araştırılması, bir tarama yöntemi olarak önerilmiştir. PyVAN için $6,5 \times 10^5$ kopya mRNA /ng total RNA varlığı, eşik değer olarak bildirilmiştir. Ancak mRNA kantitasyonu, dış faktörlerden etkilenen hassas bir işlemdir. İdrar örneğinden RNA eldesinde kullanılan yöntemlerin yeterlilik sorunlarının yanında, oluşturulan VP1 cDNA’sının, VP1 DNA’sı ile kontamine olma riski de söz konusu olabilmektedir. Bu durum, var olan VP1 mRNA kopya sayısının hatalı olarak yüksek bulunmasına yol açabilmektedir. DNA saptamaya dayalı yöntemlerle kıyaslandığında VP1 mRNA araştırılması, teknikten kaynaklanan sorunlar nedeniyle hasta takibinde kullanışlı bir yöntem olarak değerlendirilmemektedir (96, 126).

2.11. Tedavi

BKPyV’ye özgül bir antiviral tedavi bulunmamaktadır. Enfeksiyonun kontrolü, immünosüpresyon düzeyini azaltarak gerçekleştirilebilmektedir. Bu tedavi yaklaşımı ise transplantasyon yapılmış hastayı akut greft rejeksiyonu riski ile karşı karşıya getirmektedir. İmmünosüpresyon düzeyini azaltma kararında kullanılacak viral yük eşik değeri ise kesin olmayıp hastanın takip edildiği merkez ve yönteme bağlı olarak belirlenmelidir (124). Bazı merkezlerde hastada, ardışık olarak en az iki izlem döneminde 1000 kopya/ml ve üzerinde süreklilik gösteren BKPyV viremi saptandığında immünosüpresif tedavide doz azaltılmasına gidilmektedir (127, 128).

BKPyV replikasyonunu engellediği bilinen nükleozid analogu olan sidofovir, nefrotoksik etkili olmakla birlikte düşük dozlarda ve azaltılan immünosüpresyonla

birlikte kullanılabilir. Leflunomid ve intravenöz immünoglobulin (IVIg) de klinik çalışmalarla etkili olabildiği bildirilmiş diğer tedavi seçenekleridir; ancak bu tedavilerin etkinliğinin değerlendirildiği prospektif randomize çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (129, 130). Florokinolonların *in vitro* antiviral etkisi de gösterilmiş fakat hastalar üzerinde sistematik olarak test edilmemiştir. Diğer tedavi yaklaşımlarının etkili olmadığı durumda, nefrektomi sonrasında yeniden transplantasyon, virus kaynağının uzaklaştırılması bakımından bir seçenek olarak sunulmaktadır (131).

2.12. Modern İnsanın BKPyV İle Birlikte Göçü

İnsanın evrimi konusunda farklı modeller ileri sürülmekle birlikte, mitokondri DNA'sı araştırmaları ile yürütülen insan evrimi çalışmaları, anatomik olarak modern insanın yaklaşık 200 000 yıl önce Afrika'da ortaya çıktığını göstermektedir. Bu çalışmalarda insan popülasyonlarının Afrika dışına göçünün yaklaşık 100 000 yıl önce başladığı, 50-60 000 yıl önce Asya'ya ve 30-35 000 yıl önce Avrupa'ya doğru gerçekleştiği ifade edilmektedir. Avustralya'ya yaklaşık 40 000 yıl önce ve Amerika'ya da 15 000 yıl önce ulaşıldığı bildirilmektedir (132, 133, 134).

Afrika dışına göç, Levant bölgesi üzerinden Asya ve Avrupa'ya doğru gerçekleşmiştir. Göç yolu üzerinde bulunan Anadolu topraklarında modern insana ilişkin buluntular, özellikle Hatay'daki Üçağızlı Mağarası'nda gerçekleştirilmiş kazılar sonucunda elde edilmiş olup yaklaşık 40 000 yıl öncesine tarihlendirilmiştir (135, 136). Modern insanın ortaya çıktığı ve dünyanın diğer bölgelerine göç etmeye başladığı, tarihin en uzun çağı olan Paleolitik Çağ'a ait Türkiye'de yapılan arkeolojik kazı sayısında son yıllarda artış görülmektedir. Bu çağın tüm dönemlerini yansıtan Karain Mağarası'nın yanı sıra Yarımburgaz Mağarası ve Trakya bölgesindeki mağaralarda yeni kazılar gerçekleştirilmiştir. Elde edilen buluntuların, Afrika, Asya ve Avrupa kıtaları arasında bir köprü konumundaki Türkiye'de insanın geçmişi ile ilgili kronolojik veri eksikliği sorununa çözüm sağlaması beklenmektedir (137, 138).

Büyük yolculuğunda modern insana çeşitli parazitlerin eşlik ettiği bilinmektedir. Ancak bir parazitin, konak popülasyonunun geçmişi hakkında bilgi sağlayabilmesi, bazı özellikleri taşımasına bağlıdır. İnsanın geçmişi araştırmada kullanılacak bir mikroorganizmanın, konağın demografik geçmişi yansıması bakımından tek doğal konağının insan olması ve serbest yaşayan formunun bulunmaması tercih edilmektedir. Ayrıca epidemik olmayıp düşük düzeyde horizontal, tercihen vertikal bulaş göstermesi

ve konakta persistans özelliği taşıması önemlidir. Ara genotiplerin oluşmasına yol açarak filogenetik ilişkinin değerlendirilmesinde yanılığa neden olabilen rekombinasyon olayının gerçekleşme oranı da göz önüne alınmalıdır. Filogenetik analizlerde, seçilim baskısı altındaki gen bölgelerinin (bakterilerdeki patojenite adacıkları gibi) kullanımıyla oluşturulan ağaçlar, korunmuş gen bölgelerinden (housekeeping genler) elde edilen ağaçlardan farklı bilgiler sağlamaktadır. Bu nedenle analiz modellemeleri dikkatle oluşturulmalıdır (139, 140).

Mutasyon oranına bağlı olarak belirli bir zaman içinde biriken nükleotid değişikliklerinin miktarına dayanılarak diziler arasındaki farklılaşma zamanının diğer bir deyişle moleküler saatin tahmini yapılabilmektedir. İnsanla olan evrimsel ilişkinin analizi için parazitte bilgi sağlayacak bir bölgede mutasyon oranı çok yüksek ya da düşük olduğunda filogenetik sinyal kaybolabilir. Bu nedenle konak ve parazitin moleküler saati, filogenetik ilişkinin araştırılmasına izin verecek aralıkta birbirine yakın olmalıdır. İnsanın geçmişinin parazitlerle takibinde moleküler saat kavramı, araştırmacıların hesaplarında kullandıkları farklı yaklaşımlar nedeniyle yoğun tartışma alanlarından birini oluşturmaktadır (139). BKPyV için mutasyon oranı 7×10^{-8} - $2,4 \times 10^{-7}$ değişim/bölge/yıl olarak bildirilmektedir. İnsan için en sık verilen değer ise yaklaşık $1,26 \times 10^{-8}$ değişim/bölge/yıl olarak karşımıza çıkmaktadır. Tek konağı insanda persistans ve düşük rekombinasyon olasılığı gibi özelliklerinin yanında moleküler saatiyle BKPyV, genetik antropoloji alanında kullanılabilir ideal bir etken olarak değerlendirilebilmektedir (4, 141, 142).

BKPyV alt tip ve özellikle alt gruplarının dünyadaki dağılımı, coğrafi farklılık göstermektedir (Tablo 2.5). Genotiplendirme çalışmalarından elde edilen veriler, BKPyV'nin insan toplulukları ile birlikte göç ettiği konusunda önemli kanıtlar olarak değerlendirilmektedir (4).

Alt tip I BKPyV, dünyanın tüm bölgelerinde yayılım gösteren, en sık saptanan genotiptir. Bu genotipi takip eden alt tip IV, özellikle Asya'nın doğusunda ve Avrupa'da dağılım göstermektedir. Alt tip II ve III ise az rastlanılan BKPyV genotipleridir (4). Afrika genetik çeşitlilik konusunda en zengin kıta olup BKPyV'nin tüm alt tipleri bu bölgede bulunmaktadır (5).

Alt tip I'in alt grupları ile insan popülasyonları arasındaki ilişkiler incelendiğinde alt grup Ia'nın Afrika'da, Ib-1'in Avrupa, Amerika ve Güneydoğu Asya'da, Ib-2'nin Avrupa, Amerika ve Batı Asya'da, Ic'nin ise Kuzeydoğu Asya'da yaygın olduğu

görülmektedir (5, 71).

Alt tip IV alt gruplarından IVc-2 Avrupa, Amerika ve Kuzeydoğu Asya'da bulunmakta, ancak Asya'nın doğusunda Moğolistan dışında nadir olarak bulunmaktadır. Buna karşın alt tip IV'ün IVc-2 dışındaki tüm alt gruplarına Asya'nın doğusunda rastlanmaktadır (143).

Tablo 2-5: BKPyV alt tip I ve IV'e ait alt gruplar ile bu alt grupların en sık saptandığı toplumlar (4)

BKPyV Alt Tipi	BKPyV Alt Grubu	Toplumlar
I	Ia	Afrikalılar, Batı Asyalılar*
	Ib-1	Güneydoğu Asyalılar, Güney Çinliler*
	Ib-2	Avrupalılar, Batı Asyalılar
	Ic	Kuzeydoğu Asyalılar
	IVa-1	Güneydoğu Asyalılar, Güney Çinliler*
IV	IVa-2	Güneydoğu Asyalılar, Güney Çinliler*
	IVb-1	Japonlar
	IVb-2	Koreliler, Japonlar
	IVc-1	Çinliler, Moğollar*, Güneydoğu Asyalılar*
	IVc-2	Avrupalılar, Moğollar*

*Alt grupların daha düşük oranlarda saptandığı toplumları göstermektedir.

Alt tip I'in Afrika'da köken aldığı ve modern insanın Afrika dışına göçü sonrasında alt grupların, mevcut dağılım kalıbını oluşturduğu bildirilmektedir. Bununla karşın alt tip IV'ün Asya'dan köken aldığı ve IVc-2 alt grubunu taşıyan Asya popülasyonunun çeşitli alt popülasyonlara ayrılarak bazılarının Avrupa'ya göç ettiği düşünülmektedir (143).

Alt tip I BKPyV suşlarının, siyalik asit reseptörüne diğer genotiplerden daha etkin bağlanabilme özelliğinde bir VP1 dizisine sahip oldukları ve bu nedenle dünyada baskın genotip olarak buldukları öne sürülmüş olmakla birlikte bu durumu kanıtlayacak veri bulunmamaktadır. BKPyV alt tiplerinde gözlenen VP1 polimorfizminin, virusun *in vitro* çoğalma etkinliğinde farklılık yaratabileceği üzerine gerçekleştirilmiş çalışmalar bulunmaktadır. Ancak elde edilen sonuçlar BKPyV'nin alt tiplerinin bulunma oranları ile çelişki göstermektedir (6, 144, 145).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örnekler:

İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Viroloji ve Temel İmmünoloji Bilim Dalı'nda böbrek transplantasyonu yapılmış hastaların rutin takipleri sürecinde, BKPyV DNA'sının kantitatif olarak saptanmasına yönelik real-time PCR testi yapılmaktadır.

Çalışmamızda, hekimi tarafından BKPyV DNA'sı için real-time PCR isteğinde bulunmuş kişilerin vermiş oldukları idrar örnekleri alınmış olup ayrıca örnek talebinde bulunulmamıştır. İdrar örneklerinde BKPyV DNA'sı saptanmış olan böbrek transplantasyonu yapılmış 100 hastanın idrar örneği, 2008 ile 2012 yılları arasında çalışmaya dahil edilmiştir. BKPyV DNA'sının 5000 kopya/ml'den düşük olarak saptandığı örneklerden 50 000 000 kopya/ml'nin üzerinde bulunduğu örneklere kadar farklı viral yük değerine sahip idrar örnekleri çalışmaya alınmıştır.

Ayrıca, rutin takipte kullanılmakta olan kitlerin güvenilirliğinin sınanması amacıyla böbrek ve kemik iliği transplantasyonu yapılmış hastalara ait BKPyV DNA'sının saptanmadığı 70 idrar örneği incelenmiştir.

3.2. Real-time PCR Testi:

İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji A.D. Viroloji ve Temel İmmünoloji Bilim Dalı'nda BKPyV DNA real-time PCR testi LightCycler 2.0 (Roche Diagnostics, Almanya) cihazında gerçekleştirilmektedir. Örneklerden DNA izolasyonunda High Pure Viral Nucleic Acid Kit (Roche Diagnostics, Almanya) kullanılmaktadır. Real-time PCR, BKPyV ve JCPyV için ortak primer ve özgül problemleri bir arada içeren LightMix Kit ile birlikte PCR reaksiyonunda gerekli olan bileşenleri içeren LightCycler FastStart DNA Master HybProbe kiti (Roche Diagnostics, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Primerler, küçük t antijenine ait genin BKPyV'de 175 baz çifti, JCPyV'de ise 172 baz çifti içeren bölgesini çoğaltmaktadır. LightMix Kit'te BKPyV için LightCycler Red 640, JCPyV için LightCycler Red 690 florofor boya ile işaretlenmiş farklı problemler bulunmakta olup reaksiyon sonrası BKPyV ile JCPyV ayırımı, cihazın farklı okuma kanalları (BKPyV için 640, JCPyV için 705 kanalı) kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Kit, ayrıca internal kontrol de içermekte olup internal kontrol probu da LightCycler Red 640 floroforuyla işaretlenmiştir; ancak

BKPyV reaksiyonuna etkisi yoktur. Erime eğrisi (melting curve) analizinde internal kontrol ve BKPyV DNA'sının erime derecelerinin farklı (internal kontrol için yaklaşık 50°C ve BKPyV için 64 °C) olduğu görülür (146,147,148).

3.3. Virus DNA'sının Elde Edilmesi:

Real-time PCR yöntemiyle BKPyV DNA'sının saptandığı idrar örneklerinden tez çalışması için 200 µl alınarak High Pure Viral Nucleic Acid Kit (Roche Diagnostics, Almanya) ile DNA ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır (146).

3.4. BKPyV Alt Tiplendirme ve Alt Tip I Alt Gruplandırma Bölgesinin Amplifikasyonu:

BKPyV suşlarının alt tiplerinin ve alt tip I'in alt gruplarının belirlenmesinde VP1 geninin, Dunlop suşunda 1744-1812. nükleotid bölgesine karşılık gelen gen bölgesinin dizisi yeterli bilgiyi sağlayabilmektedir. VP1 geninde, bu bölgeyi kapsayan 327 bp'lik dizi (BKPyV Dunlop suşunda 1630-1956. nükleotid bölgesi), 327-1 ve 327-2 primerleri ile FastStart Taq DNA Polymerase, dNTPack (Roche Diagnostics, Almanya) kullanılarak çoğaltılmıştır (66, 149). PCR karışımı 50 µl hacminde hazırlanmış olup içeriği Tablo 3.1'de görülmektedir.

Tablo 3-1: PCR karışımının bileşenleri ve konsantrasyonları

Bileşen	Hacim (µl)	Son konsantrasyon
Su (PCR Grade)	31.6	
10 x PCR Buffer	5	2 mM MgCl ₂
PCR Grade Nucleotide Mix	1	200 µM (her dNTP için)
VP-327-1	1	0.2 µM
VP-327-2	1	0.2 µM
FastStart Taq DNA Polymerase	0.4	2 U
DNA Ekstaraktı	10	

PCR işleminde, TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice (TaKaRa Bio inc., Japonya) cihazı kullanılmıştır. PCR prosedürü, 4 dakika 95°C'de ilk denatürasyonu takiben 40 döngü uygulanan, 30 saniye 95°C'de denatürasyon, 30 saniye 55°C'de primerlerin bağlanması ve 1 dakika 72°C'de sentez ve sonrasında 7 dakika 72°C'de son sentez aşaması ile 4°C'de soğutma aşamalarıyla gerçekleştirilmiştir.

3.5. PCR Ürünlerinin Görüntülenmesi:

PCR sonrasında elde edilen 327 bp uzunluğundaki ampliconlar, 0,5 µg/ml etidyum bromid içeren %2'lik agaroz jel kullanılarak gerçekleştirilen agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmiştir. Amplicon büyüklüklerini belirlemek için GeneRuler 50 bp DNA Ladder (Fermentas, Litvanya) standart bantları ve görüntüleme Gel Logic 212 PRO (Carestream Molecular Imaging, A.B.D.) cihazı kullanılmıştır (150, 151).

3.6. DNA Dizileme İşlemi:

Tez çalışmasında uygulanan DNA dizileme işlemi, hizmet alımı yoluyla RefGen (Ankara) firması aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. PCR ürünleri, dizileme işlemi öncesinde High Pure PCR Product Purification Kit (Roche Applied Science, Almanya) kullanılarak saflaştırılmıştır. Elde edilen saf ürünler, ilk çoğaltmada kullanılan primerlerle döngü dizileme (cycle sequencing) işlemine alınmıştır. Dizileme işlemi için Big Dye Cycle sequencing kit v.3.1 (Applied Biosystems, A.B.D.) kullanılmıştır (152, 153).

Cycle sequencing işleminde, 96 °C'de 1 dakika ön denaturasyonun ardından, 96 °C'de 10 saniye, 50 °C'de 5 saniye, 60 °C'de 4 dakika olmak üzere 25 döngü ve 4°C'de örneklerin bekletilmesi koşulları uygulanmıştır.

Cycle sequencing ürünleri, etanol/EDTA/sodyum asetat presipitasyon yöntemi ile saflaştırılmıştır. Dizileme işlemi ABI 3130 XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems, A.B.D.) cihazında gerçekleştirilmiştir.

3.7. DNA Dizi Analizi:

DNA dizileme işlemiyle elde edilen dizilerin düzeltme işlemleri BioEdit programı yardımıyla gerçekleştirilmiştir (154). Elde edilen diziler, National Center for Biotechnology Information internet sayfasında bulunan nucleotid BLAST programıyla gen bankasındaki dizilerle karşılaştırılmıştır. Diziler gen bankasından edinilen referans dizilerle birlikte Clustal W programı yardımıyla hizalanmış, numaralandırılmış ve BKPyV'nin genotiplendirilmesinde bildirilmiş olan nükleotid farklılıkları (Tablo 3.2 ve Tablo 3.3) referans dizilerle karşılaştırılmak suretiyle saptanmıştır. Kullanılan referans diziler Tablo 3.4'te verilmiştir. Çalışmamızda alt tip ve alt tip I'in alt grupları ile aminoasit numaralandırmalarında BKPyV Dunlop suşu referans olarak kullanılmıştır.

Tablo 3-2: BKPyV alt tiplerinde saptanmış tek nükleotid farklılıkları (38, 144, 155)

VP1 Geni Pozisyonu*	BKPyV Alt Tipleri ve Nükleotidler			
	I	II	III	IV
1704	G	G	G	A
1744	G	G	G	A
1746	A	T	T	T
1747	A	A	A	G
1760	T	A	A	A
1766	T	T	A	T
1767	A	A	G	A
1768	A	A	C	A
1769	A	A	A	G
1770	G	G	C	A
1775	G	C	G	C
1784	A	A	A	C
1787	A	C	C	C
1792	A	G	G	G
1793	G	A	A	A
1809	G/A	C	C	C
1811	G	A	G	G
1824	C	T	T	C
1833	C	C	T	C
1848	C	A	A	A
1851	C/G	G	G	A
1854	C	C	C	T
1857	T	T	C	T
1858	T	C	C	T
1860	A/G	A	A	A/G
1869	C	C	C	T
1905	A	A	A	G
1912	C	A	A	A
1938	C	C	C	T

*Nükleotid numaralandırması BKPyV Dunlop suşu dizisine göre yapılmıştır.

Tablo 3-3: BKPyV alt tip I'in alt gruplarında saptanmış tek nükleotid farklılıkları (69)

VP1 Geni Pozisyonu*	BKPyV Alt Tip I'in Alt Grupları ve Nükleotidler			
	Ia	Ib-1	Ib-2	Ic
1687	G	G	C	G
1698	T	A	A	A
1809	G	A	A/C	G
1860	A	A	A	G
1887	A	A	A	C/A
1908	T	T	A	T
1923	T	C	C	T

*Nükleotid numaralandırması BKPyV Dunlop suşu dizisine göre yapılmıştır.

3.8. Filogenetik Analiz:

Clustal W programıyla hizalanan dizilere ait filogenetik ağaç, Neighbor-Joining metodu kullanılarak oluşturulmuştur (156, 157). Filogenetik analizde, diğer dizilerin yanında SA-12 dizisi, dış grup olarak analize dahil edilmiştir. Filogenetik ağacın güven düzeyini belirlemek üzere Bootstrap testi 1 000 tekrar olarak uygulanmıştır (158). Birlikte gruplandırılan ilişkili taksonların replikatif ağaç yüzdeleri, dalların yanında belirtilmiştir. Genetik mesafeler, Kimura'nın 2 parametre metodu ile bölge başına düşen baz değişimi sayısının ünitesi şeklinde hesaplanmıştır (159). Analiz, MEGA5 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir (160).

Tablo 3-4: BKPyV filogenetik analizinde kullanılan referans diziler (143, 163)

Alt tip/Alt grup	BKPyV suşu	Saptandığı ülke	GenBank erişim no.
Ia	DUN	A.B.D.	NC_001538
Ib-1	Dik	Hollanda	AB211369
Ib-2	JL	Hollanda	AB211370
Ic	MT	Japonya	AB211372
Ic	TW-1	Japonya	AB211381
II	SB	İngiltere	Z19536
II	GBR-12	İngiltere	AB263920
III	AS	İngiltere	M23122
III	KOM-3	Japonya	AB211386
IVa-1	VNM-7	Vietnam	AB269869
IVa-1	PHL-8	Filipinler	AB269859
IVa-2	RYU-3	Japonya	AB211389
IVa-2	MMR-1	Myanmar	AB269841
IVb-1	THK-8	Japonya	AB211390
IVb-1	TW-3	Japonya	AB211391
IVb-2	KOM-2	Japonya	AB211387
IVb-2	JPN-15	Japonya	AB269834
IVc-1	MON-1	Moğolistan	AB269846
IVc-1	SWC-1	Çin	AB269863
IVc-2	GRC-4	Yunanistan	AB269830
IVc-2	ITA-4	İtalya	AB269833

3.9. BKPyV Alt Tip IV Suşlarının Alt Gruplandırması:

Alt tiplendirmede kullanılan bölgeye ait dizi, alt tip IV olarak tanımlanan BKPyV suşlarının alt gruplarının belirlenmesi için yeterli bilgiyi sağlamamaktadır. Alt tip IV'ün alt gruplandırılmasında kullanılan VP1 gen bölgesi, 470 baz çifti içermekte olup (BKPyV TW-3 suşunda 1731–2200. nükleotid bölgesi) çalışmamızda bu bölgeyi kapsayan 839 bp'lik bölge (BKPyV TW-3 suşunda 1513–2351. nükleotid bölgesi) çoğaltılmıştır. Bu amaçla BKVF1 ve BKVR2 primerleri kullanılmıştır (Tablo 3.6) (143, 161).

Elde edilen amplikonlar, alt tiplere uygulanan agaroz jel elektroforezinde görüntüleme ve dizileme işlemlerine tabi tutulmuştur. Amplikonun uzun olması nedeniyle dizileme işleminde daha iyi sonuç alınması amacıyla BKVF1 ve BKVR2 primerleri ile birlikte SeqB-9F ve BKVF2 primerleri de kullanılmıştır (Tablo 3.6) (161, 162). BKPyV alt tip IV suşlarının alt gruplandırılmasında kullanılan tek nükleotid farklılıkları Tablo 3.5'te görülmektedir.

Tablo 3-5: BKPyV alt tip IV'ün alt gruplarında saptanmış tek nükleotid farklılıkları (143)

VP1 Geni Pozisyonu*	BKPyV Alt Tip IV'ün Alt Grupları ve Nükleotidler					
	IVa-1	IVa-2	IVb-1	IVb-2	IVc-1	IVc-2
1732	G/A	A	A	A	A	A
1741	A	A	G	G	G	G
1807	T	T	T	G	T	T
1840	G	G	G	C/G	G	G
1858	G	G	C	G/C	A	A
1877	A	A/G	A	A	G/A	A
1939	G	C	A	A	A	A
1978	G	A	A	A/T	C	C/A
2026	T	T	T	G	T	T
2104	A	A	A	A	A	G
2158	C	C	T	C	C	C
2161	T	C	C	C	C	C
2197	G	G	G	A	G	G

*Nükleotid numaralandırması BKPyV TW-3 suşu dizisine göre yapılmıştır.

BKPyV alt tip IV dizilerinin analizleri, alt tiplendirmede kullanılan programlar yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda alt tip IV'e ait filogenetik ağaç, alt tip IV'ün alt gruplarına ait referans diziler kullanılarak oluşturulmuştur (Tablo 3.4). Filogenetik analizde DUN dizisi, dış grup olarak analize dahil edilmiştir.

3.10. BKPyV'nin Tüm Genom Dizileme İşlemi:

VP1 bölgesinden elde edilen dizi verilerinin BKPyV genotiplendirilmesinde yetersiz kalması ihtimaline karşı, tüm genomun dizi analizinin yapılması gerekmektedir. Bu amaçla kullanılması planlanan primerler (SeqB-1 R - SeqB-23 R) Tablo 3.6'da belirtilmiştir (162).

Tablo 3-6: BKPyV genotiplendirme ve tüm genom dizileme primerleri (66, 143, 161, 162)

Primer	Dizi (5'-3')
327-1	CAAGTGCCAAAACACTACTAAT
327-2	TGCATGAAGGTTAAGCATGC
BKVF1	AGTGCCAAAACACTACTAATAAAAG
BKVR2	AAATTGGGTAAGGATTCTTTACA
BKVF2	GAAAACCTATTCAAGGCAGTAA
BK1-F	ATGGGTGCTGCTCTAGCAC
SeqB-1 R	CTCTACAAAATTCCAGCAAAAAGCTC
SeqB-2 F	GACAGTGTAGACGGGAAAAACAAAAG
SeqB-3 F	CTAACTCCTCAAACATATGCTG
SeqB-4 R	GCAGCAAACCCAGCAATAGCCC
SeqB-5 F	CTCACAGGAATTGCAGAGAAGAAC
SeqB-6 R	TCAGCTACTTGTCTAACCATTG
SeqB-7 F	AAGAACTGCTCCTCAATGGATG
SeqB-8 R	AGCATTTTTCTCTCTGGGCTATCAC
SeqB-9 F	CTGTTACAGCACAGCAAGAATTCC
SeqB-10 F	CTAAAAACCCAACAGCCCAGTCC
SeqB-11 R	CCTCCTGTGAAAGTCCCAAAATACC
SeqB-12 F	AAGCTGATAGCCTGTATGTTTC
SeqB-13 R	TGCCATCAAACACCCTAACCTC
SeqB-14 F	GACAAACAGGGACAATTGCAAAC
SeqB-15 R	AATCACAATGCTCTTCCCAAGTC
SeqB-16 F	TCCAGCCTTTTCTTCCATTCAAC
SeqB-17 R	CAATGAATGAGTATCCTGTCCC
SeqB-18 F	CCACCACACAAATCTAATAACC
SeqB-19 R	ACCAGGGAAGAAATGCTAACAG
SeqB-20 F	ACTTTGTCTCTACTGCATACTC
SeqB-21 R	TGCCTTAACTAGAGATCCATAC
SeqB-22 F	TATACACAGCAAAGCAGGCAAG
SeqB-23 R	ATTCTCAACACTCAACACCACCC
SeqB-24 R	TGCTACTGCATTGACTGCTTCAC
SeqB-25 F	AGTCAATGCAGTAGCAATCTATCC
SeqB-26 R	AATGGAGCAGGATGTAAAGGTAGC
SeqB-27 F	TTCATTTTATCCTCGTCGCCCC
SeqB-28 F	ATTTCCCAAATAGTTTTGCTAGGC
SeqB-29 R	AATATATAAGAGGCCGAGGCCGC
SeqB-30 R	TGTCTGTCATGCACTTTCCTTCCTG

3.11. BKPyV VP1 Dizi Analizi:

BKPyV alt tiplendirmesinde kullanılan VP1 bölgesine ait DNA dizisi, 362 aminoasit uzunluktaki VP1'in 33-131. aminoasit bölgesine ait DNA dizisini içermektedir. Bu bölge, VP1'in 57-89. aminoasitleri arasında kalan ve konak hücre reseptörüyle bağlanmada etkili olan BC kıvrım bölgesinin tamamını ve 127-146.

aminoasitleri arasında kalan DE kıvrım bölgesinin ilk 5 aminoasidini kapsamaktadır (Tablo 3.7). Alt tiplendirme verileri EMBOSS Transeq programı kullanılarak aminoasit dizilerine çevrilmiştir. Elde edilen diziler, Clustal W programı ile numaralandırılmış ve hizalanmıştır (156, 164). Aminoasitlerin sembolleri ve genetik kodları Tablo 3.8’de verilmiştir.

Tablo 3-7: BKPyV VP1 aminoasit dizisi (165)

P03088*11-362

MAPTKRKGECPGAAPKKPKPEVQVPKLLIKGGVEVLEVKTGVDAITEVECFLNPEM
GDPDENLRGFSLKLSAENDFSSDSPERKMLPCYSTARIPLPNLNEDLTTCGNLLMWEA
 VTVQTEVIGITSM**LNLHAGSQKVHEHGGGKPIQ**GSNFHFFAVGGEPLEMQGVLMNY
 RSKYPDGTITPKNPTAQSQVMNTDHKAYLDKNNAYPVECWPDPSPRNENARYFGTF
 TGGENVPPVLHVTNTATTVLLDEQVGPLCKADSLYVSAADIC**GLFTNSSGTQQWRG**
 LARYFKIRLRKRSVKNPYPISFLLSDLINRRTQRVDGQPMYGMESQVEEVRVFDGTER
 LPGDPDMIRYIDKQQLQTKML

*Protein Knowledgebase (UniProtKB) dizi numarasıdır. BC kıvrım bölgesi sarı, DE kıvrım bölgesi yeşil, HI kıvrım bölgesi mavi renkle belirtilmiştir. RG motifleri kırmızı alt çizgilerle gösterilmiştir.

BKPyV VP1 gen bölgesinde, konak hücre reseptörüne bağlanmada etkili olduğu deneysel çalışmalarla bildirilmiş olan aminoasit değişikliklerinin (Tablo 3.9) varlığı araştırılmıştır (6, 166).

Tablo 3-8: Genetik kod (168. Kaynak’tan uyarlanmıştır).

		kodondaki ikinci baz								
		T		C		A		G		
T	T	TTT	Phe (F)	TCT	Ser (S)	TAT	Tyr (Y)	TGT	Cys (C)	T
	T	TTC	Phe (F)	TCC	Ser (S)	TAC	Tyr (Y)	TGC	Cys (C)	C
	T	TTA	Leu (L)	TCA	Ser (S)	TAA	Dur	TGA	Dur	A
	T	TTG	Leu (L)	TCG	Ser (S)	TAG	Dur	TGG	Trp (W)	G
C	C	CTT	Leu (L)	CCT	Pro (P)	CAT	His (H)	CGT	Arg (R)	T
	C	CTC	Leu (L)	CCC	Pro (P)	CAC	His (H)	CGC	Arg (R)	C
	C	CTA	Leu (L)	CCA	Pro (P)	CAA	Gln (Q)	CGA	Arg (R)	A
	C	CTG	Leu (L)	CCG	Pro (P)	CAG	Gln (Q)	CGG	Arg (R)	G
A	A	ATT	Ile (I)	ACT	Thr (T)	AAT	Asn (N)	AGT	Ser (S)	T
	A	ATC	Ile (I)	ACC	Thr (T)	AAC	Asn (N)	AGC	Ser (S)	C
	A	ATA	Ile (I)	ACA	Thr (T)	AAA	Lys (K)	AGA	Arg (R)	A
	A	ATG	Met (M)	ACG	Thr (T)	AAG	Lys (K)	AGG	Arg (R)	G
G	G	GTT	Val (V)	GCT	Ala (A)	GAT	Asp (D)	GGT	Gly (G)	T
	G	GTC	Val (V)	GCC	Ala (A)	GAC	Asp (D)	GGC	Gly (G)	C
	G	GTA	Val (V)	GCA	Ala (A)	GAA	Glu (E)	GGA	Gly (G)	A
	G	GTG	Val (V)	GCG	Ala (A)	GAG	Glu (E)	GGG	Gly (G)	G

Tablo 3-9: VP1’de patogenezde etkili olabileceği bildirilmiş aminoasit değişiklikleri, konumları ve hücre kültürü çalışmalarında gözlenen etkileri (6).

aa. pozisyonu	VT aa.	MT aa.	Değişim tipi	VP1 bölgesi	Mutasyonun etkisi
61	E	A	- /Nötr	BC	Dayanısız kapsid yapısı, konak hücreye sıkı bağlanma, reseptörle etkileşim sorunu
64	R	A	+ /Nötr	BC	Dayanısız kapsid yapısı
65	G	A	Nötr/Nötr	BC	Dayanısız kapsid yapısı
69	K	A	+ /Nötr	BC	Reseptörle bağlantı azalması
79	D	A	- /Nötr	BC	Dayanısız kapsid yapısı
82	E	A	- /Nötr	BC	Dayanısız kapsid yapısı
83	R	A	+ /Nötr	BC	Konak hücreye sıkı bağlanma, reseptörle etkileşim sorunu
84	K	A	+ /Nötr	BC	Reseptörle bağlantı azalması
130	H	A	+ /Nötr	DE	Dayanısız kapsid yapısı

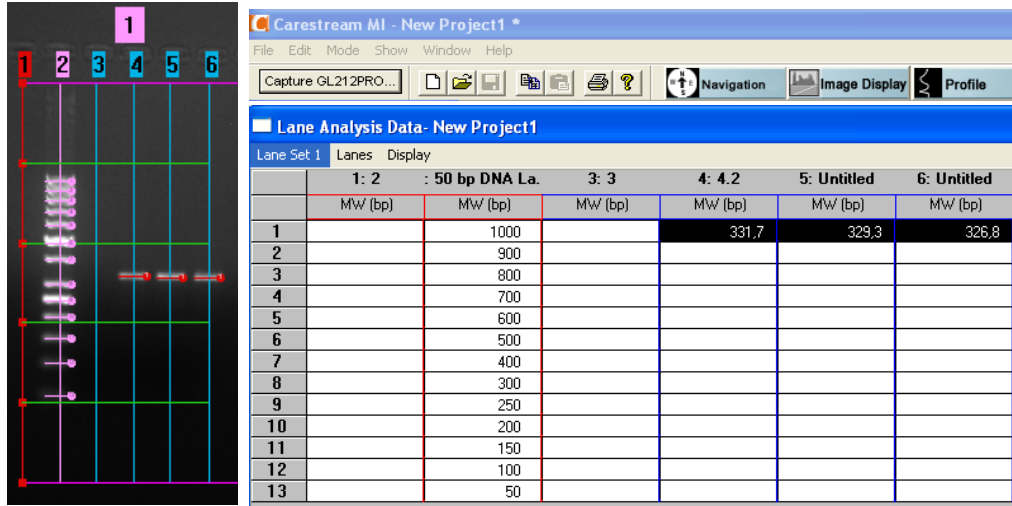
aa- aminoasit, VT- vahşi tip, MT- mutant

3.12. BKPyV DNA PCR Testleri:

Küçük t antijenini hedefleyen real-time PCR ile BKPyV DNA’sının saptanmadığı, böbrek ve kemik iliği transplantasyonu yapılmış hastalara ait idrar örneklerine ait nükleik asit ekstraksiyonları PCR işlemine alınmıştır. PCR, BKPyV’nin 2 farklı gen bölgesini çoğaltmak üzere özgül 2 primer çifti ile gerçekleştirilmiştir. Bu bölgelerden VP1 geninde, alt tiplendirmede kullanılan 327 bp içeren bölge 327-1 ve 327-2 primerleri ile, VP2 geninde 704 bp içeren bölge (624-1327. nükleotidler) BK1-F ve SeqB-6 R primerleri (Tablo 3.6) ile çoğaltılmıştır (66, 162, 169). Her iki PCR işleminde BKPyV alt tiplendirmesinde kullanılan PCR karışımı konsantrasyonları ve amplifikasyon koşulları uygulanmış, farklı olarak reaksiyon karışımı 25 µl hacimde hazırlanmıştır. Amplikonlar alt tiplere uygulanan agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmiştir.

4. BULGULAR

Böbrek transplantasyonu sonrasında rutin takip sürecinde olan 100 hastanın idrar örneklerinde BKPyV VP1 geninin BKPyV genotiplendirme bölgesi çoğaltılmış ve agaroz jel elektroforezinde görüntülenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4-1: BKPyV VP1 geninin çoğaltılan 327 bp'lik bölgesinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü ve analiz sonuçları.

Jelde 2. sırada 50 bp DNA Ladder standart bantları; 3. sırada negatif kontrol; 4,5 ve 6. sıralarda farklı pozitif örnekler bulunmaktadır. Görüntüleme cihazının, bant kalınlığına bağlı olarak yaklaşık değer olarak hesapladığı baz çifti sayısı verileri tabloda siyah fonda görülmektedir.

BKPyV genotiplendirme bölgesi çoğaltılan 100 örnekten 6'sında agaroz jel elektroforezinde pozitif sonuç alınmış ancak DNA dizi analizinde sonuç alınamamış olup 94 örneğe ait sonuçlar değerlendirilmiştir.

BKPyV genotiplerinin belirlendiği 94 hastanın yaş ortalaması 39,6 (18-74) olup kadın hasta sayısı 34 ve yaş ortalaması 40 (25-67), erkek hasta sayısı 60 ve yaş ortalaması 39,4'tür (18-74).

BKPyV suşlarının alt tiplerinin ve alt tip I'in alt gruplarının belirlenmesinde VP1 geninin, Dunlop suşunda 1744-1812. nükleotid bölgesine karşılık gelen gen bölgesinin dizisi yeterli bilgiyi sağlayabilmektedir. Çalışmamızda bu bölgeyi kapsayacak şekilde VP1 geninin 1659-1956. nükleotid bölgesinin dizisi elde edilmiştir. Daha önce de değinildiği gibi BKPyV nükleotid numaralandırmalarında referans DNA dizisi olarak BKPyV Dunlop suşu kullanılmıştır. Örneklere ait VP1 DNA dizileri, Türkiye'ye ait olduklarını belirtecek şekilde TRY kısaltmasıyla numaralandırılmış olup,

BKPyV alt tipleri ve alt tip I'in alt gruplarını temsil eden referans dizilerle birlikte hizalanmış olarak Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4-1: BKPyV VP1 geninin referans dizilerle* hizalanmış, 1659-1956. (Dunlop suşu numaralandırması) nükleotid bölgesi dizileri

	1660	1670	1680	1690	1700	1710	1720	1730	1740	1750
<i>Is/1-5153</i>	GAGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATTACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					
<i>Is-1/1-298</i>	- AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					
<i>Is-2/1-298</i>	- AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					
<i>Is/1-298</i>	- AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					
<i>II/1-298</i>	- AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					
<i>III/1-298</i>	- AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					
<i>III/1-298</i>	- AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					
<i>TRY-1/1-298</i>	- AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					
<i>TRY-2/1-298</i>	- AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					
<i>TRY-3/1-298</i>	- AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					
<i>TRY-4/1-298</i>	- AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					
<i>TRY-5/1-298</i>	- AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					
<i>TRY-6/1-298</i>	- AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					
<i>TRY-7/1-298</i>	- AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					
<i>TRY-8/1-298</i>	- AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					
<i>TRY-9/1-298</i>	- AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					
<i>TRY-10/1-298</i>	- AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					
<i>TRY-11/1-298</i>	- AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					
<i>TRY-12/1-298</i>	- AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					
<i>TRY-13/1-298</i>	- AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					
<i>TRY-14/1-298</i>	- AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					
<i>TRY-15/1-298</i>	- AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					
<i>TRY-16/1-298</i>	- AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					
<i>TRY-17/1-298</i>	- AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					
<i>TRY-18/1-298</i>	- AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					
<i>TRY-19/1-298</i>	- AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					
<i>TRY-20/1-298</i>	- AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAGGT	AGAAATGCTTCTAAACCCAGAAA	TGGGGATCCAGATGAAAACCT	TAGGCGCT					

	1770	1780	1790	1800	1810	1820	1830	1840	1850
IR/1-5153	TTAGTCTAAAGCTAAGTGC	TGAAAA	TGAC	TTTAGCAGTGTATAGCCCAGAGAGAAAAA	TGCTTCCCTGTTACAGCACAGCAAGAA	TTCCCTC	CCCCA	TTTTAA	
IR-1/1-298	TTAGTCTAAAGCTAAGTGC	TGAAAA	TGAC	TTTAGCAGTGTATAGCCCAGAGAGAAAAA	TGCTTCCCTGTTACAGCACAGCAAGAA	TTCCCTC	CCCCA	TTTTAA	
IR-2/1-298	TTAGTCTAAAGCTAAGTGC	TGAAAA	TGAC	TTTAGCAGTGTATAGCCCAGAGAGAAAAA	TGCTTCCCTGTTACAGCACAGCAAGAA	TTCCCTC	CCCCA	TTTTAA	
IR/1-298	TTAGTCTAAAGCTAAGTGC	TGAAAA	TGAC	TTTAGCAGTGTATAGCCCAGAGAGAAAAA	TGCTTCCCTGTTACAGCACAGCAAGAA	TTCCCTC	CCCCA	TTTTGA	
II/1-298	ATAGTCTAAAGCTAAC	TGCTGAAAA	TGCTTT	GACAGTGTATAGCCCAGACAAAAA	TGCTTCCCTGTTACAGCACAGCAAGAA	TTCCCTC	CCCCA	TTTTGA	
III/1-298	ATAGTCTAAAGCTAAC	TGCTGAAAA	TGCTTT	GACAGTGTATAGCCCAGACAAAAA	TGCTTCCCTGTTACAGCACAGCAAGAA	TTCCCTC	CCCCA	TTTTAA	
II/1-298	ATAGTCTAAAGCTAAC	TGCTGAAAA	TGCTTT	GACAGTGTATAGCCCAGACAAAAA	TGCTTCCCTGTTACAGCACAGCAAGAA	TTCCCTC	CCCCA	TTTTGA	
TRY-81/1-298	TTAGTCTAAAGCTAAGTGC	TGAAAA	TGAC	TTTAGCAGTGTATAGCCCAGACAGAAAAA	TGCTTCCCTGTTACAGCACAGCAAGAA	TTCCCTC	CCCCA	TTTTAA	
TRY-82/1-298	TTAGTCTAAAGCTAAGTGC	TGAAAA	TGAC	TTTAGCAGTGTATAGCCCAGACAGAAAAA	TGCTTCCCTGTTACAGCACAGCAAGAA	TTCCCTC	CCCCA	TTTTGA	
TRY-83/1-298	TTAGTCTAAAGCTAAGTGC	TGAAAA	TGAC	TTTAGCAGTGTATAGCCCAGACAGAAAAA	TGCTTCCCTGTTACAGCACAGCAAGAA	TTCCCTC	CCCCA	TTTTAA	
TRY-84/1-298	TTAGTCTAAAGCTAAGTGC	TGAAAA	TGAC	TTTAGCAGTGTATAGCCCAGACAGAAAAA	TGCTTCCCTGTTACAGCACAGCAAGAA	TTCCCTC	CCCCA	TTTTAA	
TRY-85/1-298	TTAGTCTAAAGCTAAGTGC	TGAAAA	TGAC	TTTAGCAGTGTATAGCCCAGACAGAAAAA	TGCTTCCCTGTTACAGCACAGCAAGAA	TTCCCTC	CCCCA	TTTTAA	
TRY-86/1-298	TTAGTCTAAAGCTAAGTGC	TGAAAA	TGAC	TTTAGCAGTGTATAGCCCAGACAGAAAAA	TGCTTCCCTGTTACAGCACAGCAAGAA	TTCCCTC	CCCCA	TTTTGA	
TRY-87/1-298	TTAGTCTAAAGCTAAGTGC	TGAAAA	TGAC	TTTAGCAGTGTATAGCCCAGACAGAAAAA	TGCTTCCCTGTTACAGCACAGCAAGAA	TTCCCTC	CCCCA	TTTTAA	
TRY-88/1-298	TTAGTCTAAAGCTAAGTGC	TGAAAA	TGAC	TTTAGCAGTGTATAGCCCAGACAGAAAAA	TGCTTCCCTGTTACAGCACAGCAAGAA	TTCCCTC	CCCCA	TTTTAA	
TRY-89/1-298	TTAGTCTAAAGCTAAGTGC	TGAAAA	TGAC	TTTAGCAGTGTATAGCCCAGACAGAAAAA	TGCTTCCCTGTTACAGCACAGCAAGAA	TTCCCTC	CCCCA	TTTTGA	
TRY-90/1-298	TTAGTCTAAAGCTAAGTGC	TGAAAA	TGAC	TTTAGCAGTGTATAGCCCAGACAGAAAAA	TGCTTCCCTGTTACAGCACAGCAAGAA	TTCCCTC	CCCCA	TTTTAA	
TRY-91/1-298	TTAGTCTAAAGCTAAGTGC	TGAAAA	TGAC	TTTAGCAGTGTATAGCCCAGACAGAAAAA	TGCTTCCCTGTTACAGCACAGCAAGAA	TTCCCTC	CCCCA	TTTTAA	
TRY-92/1-298	TTAGTCTAAAGCTAAGTGC	TGAAAA	TGAC	TTTAGCAGTGTATAGCCCAGACAGAAAAA	TGCTTCCCTGTTACAGCACAGCAAGAA	TTCCCTC	CCCCA	TTTTAA	
TRY-93/1-298	TTAGTCTAAAGCTAAGTGC	TGAAAA	TGAC	TTTAGCAGTGTATAGCCCAGACAGAAAAA	TGCTTCCCTGTTACAGCACAGCAAGAA	TTCCCTC	CCCCA	TTTTAA	
TRY-94/1-298	TTAGTCTAAAGCTAAGTGC	TGAAAA	TGAC	TTTAGCAGTGTATAGCCCAGACAGAAAAA	TGCTTCCCTGTTACAGCACAGCAAGAA	TTCCCTC	CCCCA	TTTTGA	

	1870	1880	1890	1900	1910	1920	1930	1940	1950	1960
Ia/1-5153	ATGAGGACCTAACCTGTGGAAA	TCTACTGATGTGGGAGGCTGTAACTGTACAAACAGAGGTTATTGGAA	TAACCTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	GGGTCAC						
Ib-1/1-298	ATGAGGACCTAACCTGTGGAAA	TCTACTGATGTGGGAGGCTGTAACTGTACAAACAGAGGTCATTGGAA	TAACCTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	-----						
Ib-2/1-298	ATGAGGACCTAACCTGTGGAAA	TCTACTGATGTGGGAGGCTGTAACTGTACAAACAGAGGTCATTGGAA	TAACCTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	-----						
Ic/1-298	ATGAGGACCTAACCTGTGGAAA	TCTACTGATGTGGGAGGCTGTAACTGTACAAACAGAGGTTATTGGAA	TAACCTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	-----						
II/1-298	ATGAGGACCTAACCTGTGGAAA	TCTACTGATGTGGGAGGCTGTAACTGTAAACACAGAGGTTATTGGAA	TAACCTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	-----						
III/1-298	ATGAGGACCTAACCTGTGGAAA	TCTACTGATGTGGGAGGCTGTAACTGTAAACACAGAGGTTATTGGAA	TAACCTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	-----						
III/1-298	ATGAGGATCTAACCTGTGGAAA	TCTACTGATGTGGGAGGCTGTGACTGTGAAACACAGAGGTTATTGGAA	TAACCTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	-----						
TRV-81/1-298	ATGAGGACCTAACCTGTGGAAA	TCTACTGATGTGGGAGGCTGTAACTGTACAAACAGAGGTCATTGGAA	TAACCTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	-----						
TRV-82/1-298	ATGAGGATCTAACCTGTGGAAA	TCTACTGATGTGGGAGGCTGTGACTGTAAACACAGAGGTTATTGGAA	TAACCTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	-----						
TRV-83/1-298	ATGAGGACCTAACCTGTGGAAA	TCTACTGATGTGGGAGGCTGTAACTGTACAAACAGAGGTCATTGGAA	TAACCTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	-----						
TRV-84/1-298	ATGAGGACCTAACCTGTGGAAA	TCTACTGATGTGGGAGGCTGTAACTGTACAAACAGAGGTCATTGGAA	TAACCTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	-----						
TRV-85/1-298	ATGAGGACCTAACCTGTGGAAA	TCTACTGATGTGGGAGGCTGTAACTGTACAAACAGAGGTCATTGGAA	TAACCTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	-----						
TRV-86/1-298	ATGAGGATCTAACCTGTGGAAA	TCTACTGATGTGGGAGGCTGTGACTGTAAACACAGAGGTTATTGGAA	TAACCTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	-----						
TRV-87/1-298	ATGAGGACCTAACCTGTGGAAA	TCTACTGATGTGGGAGGCTGTAACTGTACAAACAGAGGTCATTGGAA	TAACCTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	-----						
TRV-88/1-298	ATGAGGACCTAACCTGTGGAAA	TCTACTGATGTGGGAGGCTGTAACTGTACAAACAGAGGTCATTGGAA	TAACCTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	-----						
TRV-89/1-298	ATGAGGATCTAACCTGTGGAAA	TCTACTGATGTGGGAGGCTGTGACTGTAAACACAGAGGTTATTGGAA	TAACCTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	-----						
TRV-90/1-298	ATGAGGACCTAACCTGTGGAAA	TCTACTGATGTGGGAGGCTGTAACTGTACAAACAGAGGTCATTGGAA	TAACCTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	-----						
TRV-91/1-298	ATGAGGACCTAACCTGTGGAAA	TCTACTGATGTGGGAGGCTGTAACTGTACAAACAGAGGTCATTGGAA	TAACCTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	-----						
TRV-92/1-298	ATGAGGACCTAACCTGTGGAAA	TCTACTGATGTGGGAGGCTGTAACTGTACAAACAGAGGTCATTGGAA	TAACCTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	-----						
TRV-93/1-298	ATGAGGACCTAACCTGTGGAAA	TCTACTGATGTGGGAGGCTGTAACTGTACAAACAGAGGTCATTGGAA	TAACCTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	-----						
TRV-94/1-298	ATGAGGATCTAACCTGTGGAAA	TCTACTGATGTGGGAGGCTGTGACTGTAAACACAGAGGTTATTGGAA	TAACCTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	-----						

Referans diziler: Ia, DUN; Ib-1, Dik; Ib-2, JI.; Ic, MT; II, SB; III, AS; IV, TW3. Diziler Clustal Omega programı kullanılarak nükleotid pozisyonlarına göre hizalanmıştır. Nükleotid benzerliklerine göre renklendirme yapılmıştır.

BKPyV'nin genotiplendirmeyeyle ilgili bulunan VP1 bölgesinde bildirilmiş olan tek nükleotid farklılıkları belirlenerek ve gen bankasındaki dizi verileriyle karşılaştırılarak 94 BKPyV suşunun alt tipleri ve alt tip I'in alt grupları belirlenmiştir. Alt tip I olarak belirlenen 67 suşun 9'u Ib-1 alt grubunda, 58'i Ib-2 alt grubunda bulunmaktadır. Alt tip I'in Ia ve Ic alt gruplarına ait BKPyV suşu saptanmamıştır. Örneklerden 8'inde alt tip II ve 19'unda alt tip IV BKPyV suşu bulunmuştur. Alt tip III BKPyV suşu saptanmamıştır.

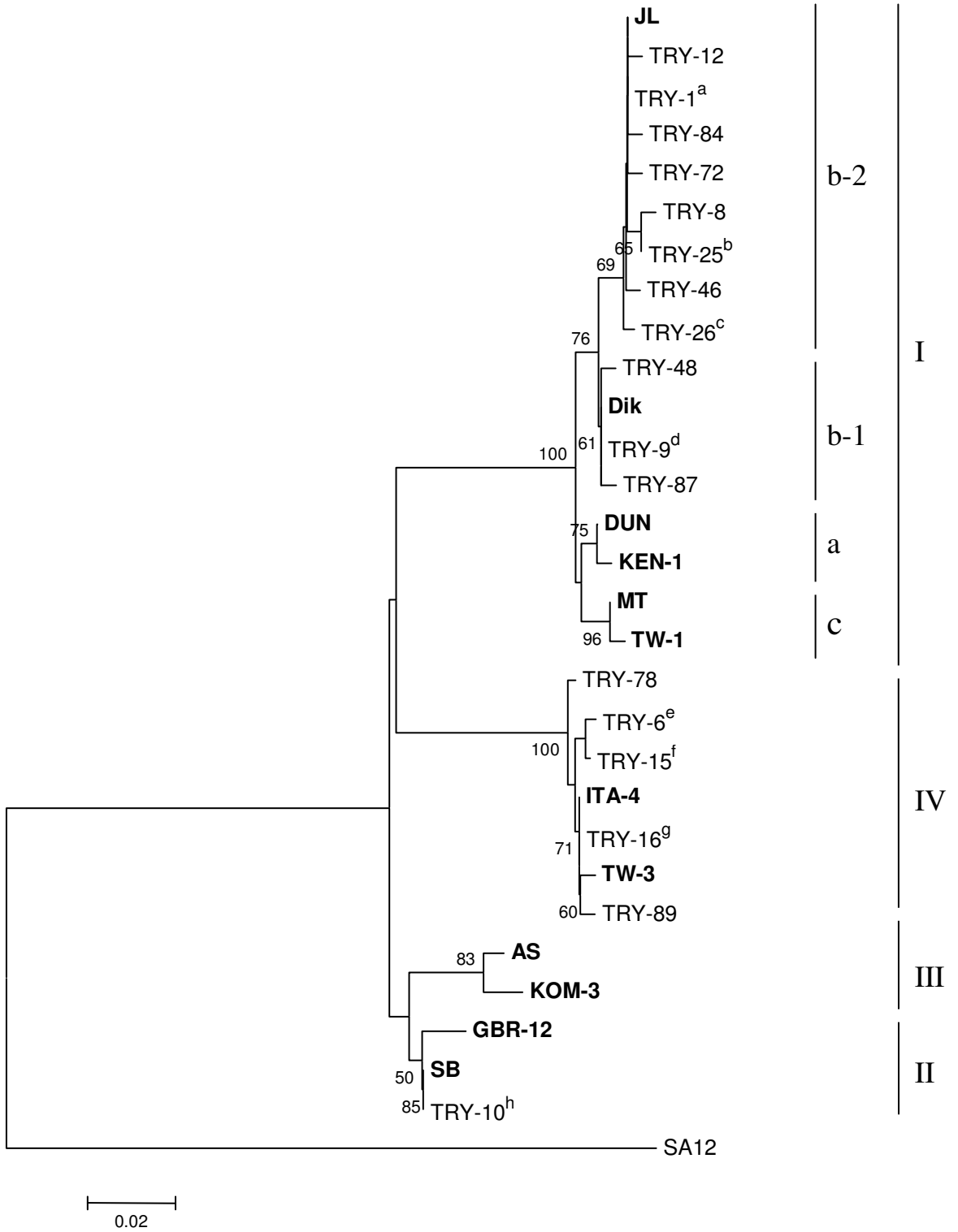
Aynı nükleotid dizisine sahip suşlar gruplandırılmış olup her grup için bir temsilci dizi belirlenmiştir (Tablo 4.2). Filogenetik analiz bu diziler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örneklerin alt tiplerine ve alt tip I'in alt gruplarına ilişkin oluşturduğumuz filogenetik ağaç Şekil 4.2'de görülmektedir.

Tablo 4-2: BKPyV VP1 geninin 1659-1956. (Dunlop suşu numaralandırması) nükleotid bölgesi dizilerine göre BKPyV suşlarının gruplandırılması

Nükleotid dizisi aynı olan suşlar	Genotip
TRY-9*,28,39,55,75,88,90	Ib-1
TRY-1*,2,3,4,5,7,11,13,14,18,20,22,24,27,32,33,35,38,41,42,45,47,49,51,52,53,54,57,58,60,61,62,63,64,66,70,71,73,74,76,77,79,83,85,92,93	Ib-2
TRY-25*,44,91	Ib-2
TRY-26*,30,36,81	Ib-2
TRY-10*,19,31,43,50,56,65,69	II
TRY-6*,17,29,37,67,80	IV
TRY-15*,23,86	IV
TRY-16*,21,34,40,59,68,82,94	IV
Nükleotid dizisi farklı olan suşlar	Genotip
TRY-48,87	Ib-1
TRY-8,12,46,72,84	Ib-2
TRY-78,89	IV

*Grubu temsil eden BKPyV TRY- suşu

BKPyV Ib-1 alt grubunda bulunan suşların 7'si (%78) aynı diziyi taşımaktadır. Ib-2 alt grubunda ise aynı diziyeye sahip suşlar 3 grup oluşturmaktadır. Toplam 46 suş içeren ve TRY-1* suşu ile temsil edilen grup tüm Ib-2 suşlarının yaklaşık %79'unu; 3 suş içeren TRY-25* suşu dizisine sahip grup %5'ini ve TRY-26* dizisi taşıyan grup ise %7'sini oluşturmaktadır. Alt tip II BKPyV suşlarının tümünün aynı diziyeye sahip olduğu bulunmuştur. Alt tip IV BKPyV suşlarından 6 suş içeren TRY-6* ile temsil edilen grup tüm alt tip IV suşlarının yaklaşık %32'sini, 3 suş içeren TRY-15* ile temsil edilen grup %16'sını ve 8 suş içeren TRY-16* ile temsil edilen grup ise %42'sini oluşturmaktadır.



Şekil 4-2: BKPyV VP1 geni dizileriyle oluşturulmuş filogenetik ağaç.

Üst simgeler aynı diziyeye sahip diğer suşları ifade etmektedir. a: TRY-2,3,4,5,7,11,13,14,18,20,22,24,27,32,33,35,38,41,42,45,47,49,51,52,53,54,57,58,60,61,62,63,64,66,70,71,73,74,76,77,79,83,85,92,93; b: TRY-44,91; c: TRY-30,36,81; d: TRY-28,39,55,75,88,90; e: TRY-17,29,37,67,80; f: TRY-23,86; g: TRY-21,34,40,59,68,82,94; h: TRY-19,31,43,50,56,65,69. SA12, analize dış grup olarak dahil edilmiştir. Referans diziler kalın harflerle belirtilmiştir.

BKPyV alt tip IV suşlarının alt gruplarının belirlenmesinde, VP1 geninin TW-3 suşunda 1731-2200. nükleotid bölgesine karşılık gelen gen bölgesinin dizisi kullanılmaktadır. Çalışmamızda VP1 geninin bu bölgesini kapsayan, 1540-2258. nükleotid bölgesinin dizi verileri elde edilmiştir. BKPyV alt tip IV suşlarının nükleotid numaralandırmalarında referans DNA dizisi olarak TW-3 BKPyV suşu kullanılmıştır. BKPyV alt tip IV olarak saptanan 19 suşun VP1 DNA dizisi, referans dizi ile birlikte hizalanmış olarak Tablo 4.3'te görülmektedir.

Tablo 4-3: Alt tip IV BKPyV suşlarının VP1 geninin referans diziyile hizalanmış, 1540-2258. (TW-3 suşu numaralandırması) nükleotid bölgesi

	1540	1550	1560	1570	1580	1590	1600	1610	1620	1630
TW-3/1-5146	GAGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGGTAGATGCTATAACAGAAAGT	AGAAATGCTTTCTAAATCCAGAAAAT	TGGGGATCCAGATAATGACCTTAG	AGGGGCT					
TRY-6/1-719	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAAAGT	AGAAATGCTTTCTAAATCCAGAAAAT	TGGGGATCCAGATAATGACCTTAG	AGGGGCT					
TRY-15/1-719	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAAAGT	AGAAATGCTTTCTAAATCCAGAAAAT	TGGGGATCCAGATAATGACCTTAG	AGGGGCT					
TRY-16/1-719	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAAAGT	AGAAATGCTTTCTAAATCCAGAAAAT	TGGGGATCCAGATAATGACCTTAG	AGGGGCT					
TRY-17/1-719	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAAAGT	AGAAATGCTTTCTAAATCCAGAAAAT	TGGGGATCCAGATAATGACCTTAG	AGGGGCT					
TRY-21/1-719	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAAAGT	AGAAATGCTTTCTAAATCCAGAAAAT	TGGGGATCCAGATAATGACCTTAG	AGGGGCT					
TRY-23/1-719	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAAAGT	AGAAATGCTTTCTAAATCCAGAAAAT	TGGGGATCCAGATAATGACCTTAG	AGGGGCT					
TRY-29/1-719	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAAAGT	AGAAATGCTTTCTAAATCCAGAAAAT	TGGGGATCCAGATAATGACCTTAG	AGGGGCT					
TRY-34/1-719	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAAAGT	AGAAATGCTTTCTAAATCCAGAAAAT	TGGGGATCCAGATAATGACCTTAG	AGGGGCT					
TRY-37/1-719	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAAAGT	AGAAATGCTTTCTAAATCCAGAAAAT	TGGGGATCCAGATAATGACCTTAG	AGGGGCT					
TRY-40/1-719	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAAAGT	AGAAATGCTTTCTAAATCCAGAAAAT	TGGGGATCCAGATAATGACCTTAG	AGGGGCT					
TRY-59/1-719	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAAAGT	AGAAATGCTTTCTAAATCCAGAAAAT	TGGGGATCCAGATAATGACCTTAG	AGGGGCT					
TRY-67/1-719	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAAAGT	AGAAATGCTTTCTAAATCCAGAAAAT	TGGGGATCCAGATAATGACCTTAG	AGGGGCT					
TRY-68/1-719	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAAAGT	AGAAATGCTTTCTAAATCCAGAAAAT	TGGGGATCCAGATAATGACCTTAG	AGGGGCT					
TRY-78/1-719	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAAAGT	AGAAATGCTTTCTAAATCCAGAAAAT	TGGGGATCCAGATAATGACCTTAG	AGGGGCT					
TRY-80/1-719	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAAAGT	AGAAATGCTTTCTAAATCCAGAAAAT	TGGGGATCCAGATAATGACCTTAG	AGGGGCT					
TRY-82/1-719	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAAAGT	AGAAATGCTTTCTAAATCCAGAAAAT	TGGGGATCCAGATAATGACCTTAG	AGGGGCT					
TRY-86/1-719	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAAAGT	AGAAATGCTTTCTAAATCCAGAAAAT	TGGGGATCCAGATAATGACCTTAG	AGGGGCT					
TRY-89/1-719	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAAAGT	AGAAATGCTTTCTAAATCCAGAAAAT	TGGGGATCCAGATAATGACCTTAG	AGGGGCT					
TRY-94/1-719	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAC	TGGGCTAGATGCTATAACAGAAAGT	AGAAATGCTTTCTAAATCCAGAAAAT	TGGGGATCCAGATAATGACCTTAG	AGGGGCT					

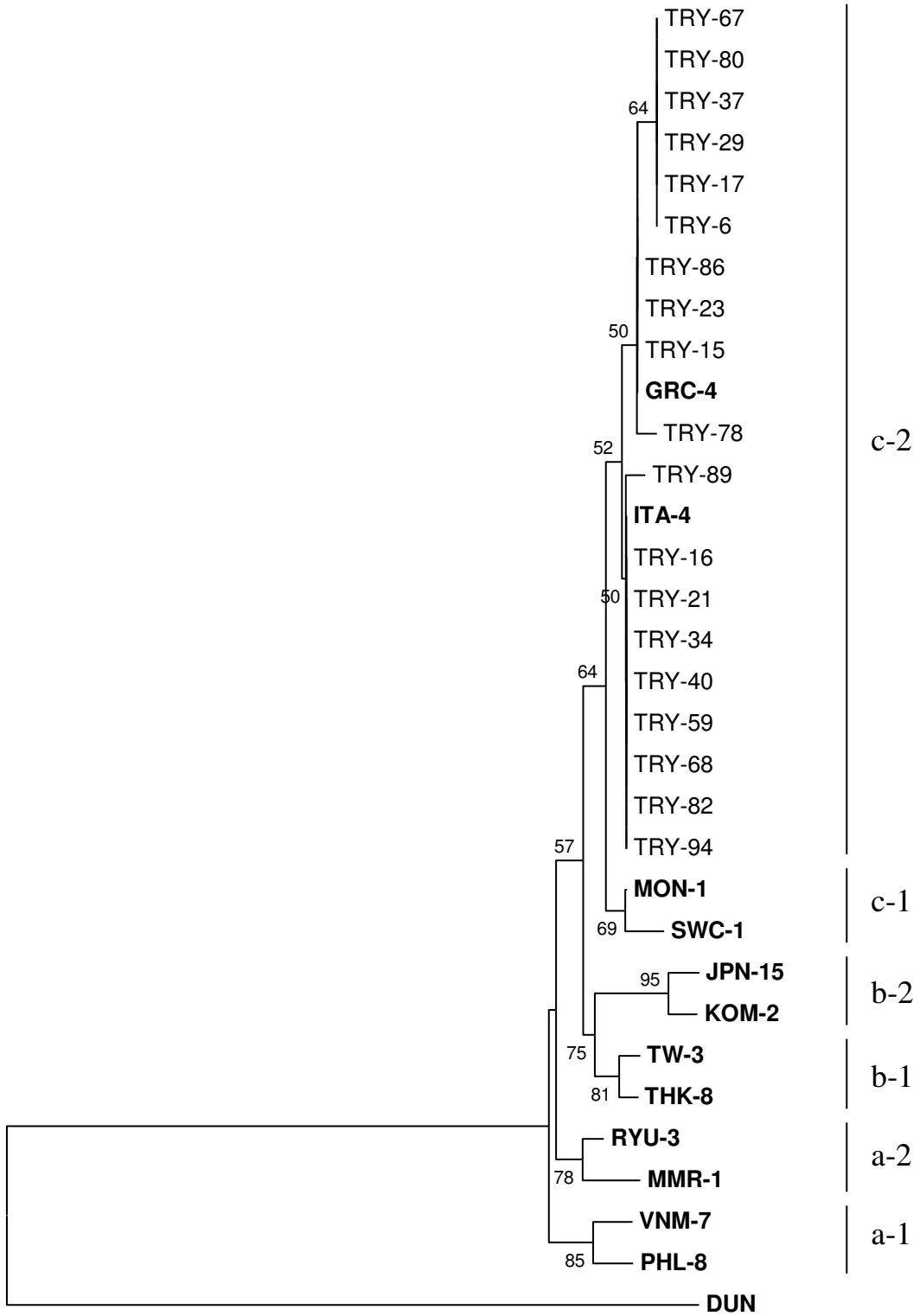

```

2260 TW-34/-5146 TGTTTACTAACAGCTCTGGAAACACACACAGTGGAGGGGCCCTTCCAAGATATTTTAAGATTGCGCCTGAGAAAAAGATCTGTAAGAACCCTTACCCAAATTTCT 2350
TRY-64/-719 TGTTTA .....
TRY-154/-719 TGTTTA .....
TRY-164/-719 TGTTTA .....
TRY-174/-719 TGTTTA .....
TRY-214/-719 TGTTTA .....
TRY-234/-719 TGTTTA .....
TRY-294/-719 TGTTTA .....
TRY-344/-719 TGTTTA .....
TRY-374/-719 TGTTTA .....
TRY-404/-719 TGTTTA .....
TRY-594/-719 TGTTTA .....
TRY-674/-719 TGTTTA .....
TRY-684/-719 TGTTTA .....
TRY-784/-719 TGTTTA .....
TRY-804/-719 TGTTTA .....
TRY-824/-719 TGTTTA .....
TRY-864/-719 TGTTTA .....
TRY-894/-719 TGTTTA .....
TRY-944/-719 TGTTTA .....

```

Diziler, Clustal Omega programı kullanılarak nükleotid pozisyonlarına göre hizalanmıştır. Nükleotid benzerliklerine göre renklendirme yapılmıştır.

Dizi analizi sonucunda 19 BKPyV alt tip IV suşunun tümü IVc-2 alt grubunda bulunmuştur. Alt tip IV suşlarına ilişkin oluşturduğumuz filogenetik ağaç Şekil 4.3'te görülmektedir.



Şekil 4-3: BKPyV alt tip IV suşlarına ait VP1 geni dizileriyle oluşturulmuş filogenetik ağaç.

Dunlop suşu, analize dış grup olarak dahil edilmiştir. Referans diziler kalın harflerle belirtilmiştir.

Analizler sonucunda böbrek transplantasyonu yapılmış 94 hastada saptanan BKPyV suşlarının genotip dağılımları Tablo 4.4'te verilmiştir.

Tablo 4-4: BKPyV genotipleri ve yüzde değerleri

Alt tip	Alt grup	Hasta sayısı	Yüzde değeri
I		67	71,3
	Ia	-	-
	Ib-1	9	9,6
	Ib-2	58	61,7
	Ic	-	-
II		8	8,5
III		-	-
IV		19	20,2
	IVa-1	-	-
	IVa-2	-	-
	IVb-1	-	-
	IVb-2	-	-
	IVc-1	-	-
	IVc-2	19	20,2

BKPyV suşlarınının 362 aminoasit uzunluktaki VP1 proteininin 57-89. aminoasitleri arasında kalan ve konak hücre reseptörüyle bağlanmada etkili olan BC kıvrım bölgesini kapsayan 33-131. aminoasit bölgesine ait dizi verileri, referans suşlara ait aminoasit dizileriyle birlikte hizalanmış olarak Tablo 4.5'te görülmektedir.

Tablo 4-5: BKPyV VP1 proteininin 33- 131. aminoasit (Dunlop suşu numaralandırması) bölgesinin referans suşlarla birlikte dizileri

	40	50	60	70	80	90	100	110	120	130																																																		
<i>la/1-362</i>	G	VEVLEVK	VTG	VDA	I	TEVECF	LNPEM	GDP	DEN	RGF	SLK	LSA	END	FSS	DS	PER	KML	PCYS	TAR	I	PLPN	NED	TCG	NLL	MME	AVT	VQ	TEV	I	G	TSML	NL	HA	G																										
<i>lb-1/1-99</i>	-	VEVLEVK	VTG	VDA	I	TEVECF	LNPEM	GDP	DEN	RGF	SLK	LSA	END	FSS	DS	PER	KML	PCYS	TAR	I	PLPN	NED	TCG	NLL	MME	AVT	VQ	TEV	I	G	TSML	NL	HA	-																										
<i>lc/1-99</i>	-	VEVLEVK	VTG	VDA	I	TEVECF	LNPEM	GDP	DEN	RGF	SLK	LSA	END	FSS	DS	PER	KML	PCYS	TAR	I	PLPN	NED	TCG	NLL	MME	AVT	VQ	TEV	I	G	TSML	NL	HA	-																										
<i>TRy-97/1-99</i>	-	VEVLEVK	VTG	VDA	I	TEVECF	LNPEM	GDP	DEN	RGF	SLK	LSA	END	FSS	DS	PER	KML	PCYS	TAR	I	PLPN	NED	TCG	NLL	MME	AVT	VQ	TEV	I	G	TSML	NL	HA	-																										
<i>TRy-48/1-99</i>	-	VEVLEVK	VTG	VDA	I	TEVECF	LNPEM	GDP	DEN	RGF	SLK	LSA	END	FSS	DS	PER	KML	PCYS	TAR	I	PLPN	NED	TCG	NLL	MME	AVT	VQ	TEV	I	G	TSML	NL	HA	-																										
<i>TRy-87/1-99</i>	-	VEVLEVK	VTG	VDA	I	TEVECF	LNPEM	GDP	DEN	RGF	SVK	LSA	END	FSS	DS	PER	KML	PCYS	TAR	I	PLPN	NED	TCG	NLL	MME	AVT	VQ	TEV	I	G	TSML	NL	HA	-																										
<i>TRy-46/1-99</i>	-	VEVLEVK	T	G	L	D	A	I	TEVECF	LNPEM	GDP	DEN	RGF	SLK	LSA	END	FSS	DS	PER	KML	PCYS	TAR	I	PLPN	NED	TCG	NLL	MME	AVT	VQ	TEV	I	G	TSML	NL	HA	-																							
<i>TRy-84/1-99</i>	-	VEVLEVK	T	G	L	D	A	I	TEVECF	LNPEM	GDP	DEN	RGF	SLK	LSA	END	FSS	DS	PER	KML	PCYS	TAR	I	PLPN	NED	TCG	NLL	MME	AVT	VQ	TEV	I	G	TSML	NL	HA	-																							
<i>TRy-257/1-99</i>	-	VEVLEVK	T	G	L	D	A	I	TEVECF	LNPEM	GDP	DEN	RGF	SLK	LSA	END	FSS	DS	PER	KML	PCYS	TAR	I	PLPN	NED	TCG	NLL	MME	AVT	VQ	TEV	I	G	TSML	NL	HA	-																							
<i>TRy-8/1-99</i>	-	VEVLEVK	T	G	L	D	A	I	TEVECF	LNPEM	GDP	DEN	RGF	SLK	LSA	END	FSS	DS	PER	KML	PCYS	TAR	I	PLPN	NED	TCG	NLL	MME	AVT	VQ	TEV	I	G	TSML	NL	HA	-																							
<i>TRy-17/1-99</i>	-	VEVLEVK	T	G	L	D	A	I	TEVECF	LNPEM	GDP	DEN	RGF	SLK	LSA	END	FSS	DS	PER	KML	PCYS	TAR	I	PLPN	NED	TCG	NLL	MME	AVT	VQ	TEV	I	G	TSML	NL	HA	-																							
<i>lb-2/1-99</i>	-	VEVLEVK	T	G	L	D	A	I	TEVECF	LNPEM	GDP	DEN	RGF	SLK	LSA	END	FSS	DS	PER	KML	PCYS	TAR	I	PLPN	NED	TCG	NLL	MME	AVT	VQ	TEV	I	G	TSML	NL	HA	-																							
<i>TRy-12/1-99</i>	-	VEVLEVK	T	G	L	D	A	I	TEVECF	LNPEM	GDP	DEN	RGF	SLK	LSA	END	FSS	DS	PER	KML	PCYS	TAR	I	PLPN	NED	TCG	NLL	MME	AVT	VQ	TEV	I	G	TSML	NL	HA	-																							
<i>TRy-267/1-99</i>	-	VEVLEVK	T	G	L	D	A	I	TEVECF	LNPEM	GDP	DEN	RGF	SLK	LSA	END	FSS	DS	PER	KML	PCYS	TAR	I	PLPN	NED	TCG	NLL	MME	AVT	VQ	TEV	I	G	TSML	NL	HA	-																							
<i>TRy-72/1-99</i>	-	VEVLEVK	T	G	L	D	A	I	TEVECF	LNPEM	GDP	DD	N	RGF	SLK	LSA	END	FSS	DS	PER	KML	PCYS	TAR	I	PLPN	NED	TCG	NLL	MME	AVT	VQ	TEV	I	G	TSML	NL	HA	-																						
<i>ll/1-99</i>	-	VEVLEVK	T	G	V	D	A	I	TEVECF	LNPEM	GDP	DD	N	RGY	SLK	LT	AE	NA	F	D	S	D	S	P	D	K	K	M	L	P	C	Y	S	T	A	R	I	PLPN	NED	TCG	NLL	MME	AVT	V	K	T	E	V	I	G	TSML	NL	HA	-						
<i>TRy-107/1-99</i>	-	VEVLEVK	T	G	V	D	A	I	TEVECF	LNPEM	GDP	DD	N	RGY	SLK	LT	AE	NA	F	D	S	D	S	P	D	K	K	M	L	P	C	Y	S	T	A	R	I	PLPN	NED	TCG	NLL	MME	AVT	V	K	T	E	V	I	G	TSML	NL	HA	-						
<i>ll/1-99</i>	-	VEVLEVK	T	G	V	D	A	I	TEVECF	LNPEM	GDP	DD	N	DL	RGY	SL	R	L	T	A	E	T	A	F	D	S	D	S	P	D	R	K	M	L	P	C	Y	S	T	A	R	I	PLPN	NED	TCG	NLL	MME	AVT	V	K	T	E	V	I	G	TSML	NL	HA	-	
<i>TRy-167/1-99</i>	-	VEVLEVK	T	G	V	D	A	I	TEVECF	LNPEM	GDP	DD	N	DL	RGY	SL	R	L	T	A	E	T	A	F	D	S	D	S	P	D	R	K	M	L	P	C	Y	S	T	A	R	I	PLPN	NED	TCG	NLL	MME	AVT	V	K	T	E	V	I	G	TSML	NL	HA	-	
<i>TRy-89/1-99</i>	-	VEVLEVK	T	G	V	D	A	I	TEVECF	LNPEM	GDP	DD	N	DL	RGY	SL	R	L	T	A	E	T	A	F	D	S	D	S	P	D	R	K	M	L	P	C	Y	S	T	A	R	I	PLPN	NED	TCG	NLL	MME	AVT	V	K	T	E	V	I	G	TSML	NL	HA	-	
<i>TRy-157/1-99</i>	-	VEVLEVK	T	G	V	D	A	I	TEVECF	LNPEM	GDP	DD	N	DL	RGY	SL	R	L	T	A	E	T	A	F	E	S	D	S	P	D	R	K	M	L	P	C	Y	S	T	A	R	I	PLPN	NED	TCG	NLL	MME	AVT	V	K	T	E	V	I	G	TSML	NL	HA	-	
<i>TRy-78/1-99</i>	-	VEVLEVK	T	G	V	D	A	I	TEVECF	LNPEM	GDP	DD	N	DL	RGY	SL	R	L	T	A	E	T	A	F	E	S	D	S	P	D	R	K	M	L	P	C	Y	S	T	A	R	I	PLPN	NED	TCG	NLL	MME	AVT	V	K	T	E	V	I	G	TSML	NL	HA	-	
<i>TRy-67/1-99</i>	-	VEVLEVK	T	G	L	D	A	I	TEVECF	LNPEM	GDP	DD	N	DL	RGY	SL	R	L	T	A	E	T	A	F	E	S	D	S	P	D	R	K	M	L	P	C	Y	S	T	A	R	I	PLPN	NED	TCG	NLL	MME	AVT	V	K	T	E	V	I	G	TSML	NL	HA	-	
<i>ll/1-99</i>	-	VEVLEVK	T	G	V	D	A	I	TEVECF	LNPEM	GDP	DD	N	DL	RGY	S	Q	H	L	S	A	E	N	A	F	E	S	D	S	P	D	R	K	M	L	P	C	Y	S	T	A	R	I	PLPN	NED	TCG	NLL	MME	AVT	V	K	T	E	V	I	G	TSML	NL	HA	-

* Aynı diziye sahip BKPyV suşları gruplandırılmış olup tabloda grupları temsil eden diziler kullanılmıştır

TRY-1*, TRY-9*, TRY-10*, TRY-15*, TRY-16* ve TRY-26* dizileri gen bankasına bildirilmiş olan diziler arasında bulunmuştur. Buna karşın TRY-6*, TRY-8, TRY-12, TRY-25*, TRY-46, TRY-48, TRY-72, TRY-78, TRY-84, TRY-87 ve TRY-89 BKPyV suşlarına ait dizilerin gen bankasında %100 uyumlu olduğu dizi bulunamamıştır. National Center for Biotechnology Information internet sayfasında bulunan nucleotid BLAST programıyla gen bankasındaki dizilerle karşılaştırılarak henüz bildiri yapılmadığı görülmüş olan mutasyonlara sahip olan bu suşların ayrıntılı analiz verileri Ham Veriler bölümünde sunulmuş olup sonuçlar Tablo 4.6'da verilmiştir.

Tablo 4-6: BKPyV suşlarında saptanan mutasyonların analiz verileri

BKPyV suşu	Genotip	Nükleotid Pozisyonu*	Nükleotid değişimi	Kodon değişimi	Aminoasit Pozisyonu*	Aminoasit değişimi
TRY-6,17,29,37,67,80	IVc-2	1687	G→C	GTA→CTA	42	V→L
		1794	C→G	GAC→GAG	77	D→E
TRY-8	Ib-2	1794	C→T	AGC→AGT	77	S (SM)
		1890	G→A	CTG→CTA	109	L (SM)
TRY-12	Ib-2	1807	G→C	GAA→CAA	82	E→Q
TRY-15,23,86	IVc-2	1794	C→G	GAC→GAG	77	D→E
TRY-25,44,91	Ib-2	1890	G→A	CTG→CTA	109	L (SM)
TRY-26,30,36,81	Ib-2	1809	A→C	GAA→GAC	82	E→D
TRY-46	Ib-2	1860	A→G	TTA→TTG	99	L (SM)
TRY-48	Ib-1	1741	G→A	GAT→AAT	60	D→N
TRY-72	Ib-2	1746	A→C	GAA→GAC	61	E→D
TRY-78	IVc-2	1794	C→G	GAC→GAG	77	D→E
		1905	G→A	GTG→GTA	114	V (SM)
TRY-84	Ib-2	1767	A→G	CTA→CTG	68	L (SM)
TRY-87	Ib-1	1765	C→G	CTA→GTA	68	L→V
TRY-89	IVc-2	1872	A→T	CTA→CTT	103	L (SM)

*Nükleotid ve aminoasit pozisyonları Dunlop suşu referans alınarak verilmiştir. Sarı renkle belirtilen mutasyonların gen bankasında bildiri bulunmamaktadır.

SM- sessiz mutasyon

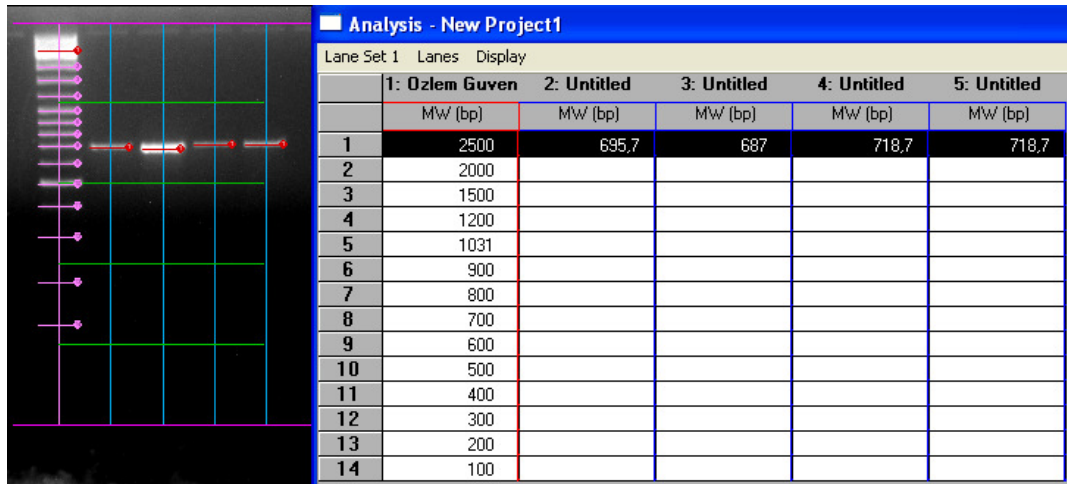
BKPyV alt tiplerine ait referans dizilerle karşılaştırıldıklarında ortak gen dizileri arasında kalan bölgede üyesi oldukları alt tipten farklı bir alt tipe ait nükleotid değişimlerinin saptandığı BKPyV suşlarında rekombinasyon olasılığı düşünülmektedir. Çalışmamızda nükleotid değişimleri analiz edildiğinde bazı suşlarda rekombinasyon olasılığı öne sürülebilecek diziler bulunmuştur. Bu suşlarda, üyesi buldukları genotiplerden farklı olarak saptanan tek nükleotid değişimleri ve olası rekombinasyon durumları tanımlanmıştır:

- (i) Analizi yapılan VP1 bölgesinde aynı diziye sahip olan BKPyV IVc-2 genotipindeki TRY-6,17,29,37,67,80 suşlarında 1687. nükleotid pozisyonunda saptanan G→C değişimi, bu suşların bilinen alt tip IV dizilerinden farklı olduğunu göstermiştir. Söz konusu pozisyonda C varlığı BKPyV Ib-2 genotipindeki suşlarda görülmektedir. IVc-2 ile Ib-2 genotipleri arasında bu bölgede bir rekombinasyon olasılığından söz edilebilir.
- (ii) BKPyV Ib-2 genotipinde bulunan TRY-8 suşu VP1 geni dizisinde 1794. pozisyonda C→T ve 1890. pozisyonda G→A değişimleri saptanmıştır. 1890. pozisyonda G→A değişimi yine Ib-2 genotipinde olan TRY-25, 44 ve 91 suşlarında da belirlenmiştir. Bu pozisyonda A, BKPyV alt tipleri II, III ve IV suşlarında bulunmaktadır. Ib-2 ile II, III ya da IV genotipleri arasında bu bölgede bir rekombinasyon olasılığından söz edilebilir.
- (iii) BKPyV Ib-2 genotipindeki TRY-46 suşunun VP1 geninin 1860. pozisyonunda A yerine BKPyV Ic ve alt tip IV genotipindeki suşlarda görülen G bulunmaktadır. Ib-2 ile Ic ya da IV genotipleri arasında bu bölgede bir rekombinasyon olasılığından söz edilebilir.
- (iv) BKPyV IVc-2 genotipindeki TRY-78 suşunda VP1 geninin 1905. pozisyonunda G→A değişimi belirlenmiştir. Alt tip IV BKPyV suşları, bu pozisyonda G taşımakta olup diğer genotiplerde A bulunmaktadır. IVc-2 ile I, II ya da III genotipleri arasında bu bölgede bir rekombinasyon olasılığından söz edilebilir.
- (v) BKPyV Ib-2 genotipindeki TRY-26,30,36,81 suşlarında VP1 geninin 1809. pozisyonunda A→C değişimi belirlenmiştir. Bu pozisyonda C varlığı alt tip II, III ve IV genotiplerinde görülmektedir. Bu bölgede bir rekombinasyon için en uygun dizi alt tip IV genotipinde bulunmakta olup Ib-2 ile IV

genotipleri arasında bu bölgede bir rekombinasyon olasılığında söz edilebilir.

TRY-84 suşu Ib-2 genotipinde bulunmaktadır. VP1 geninin 1767. pozisyonunda görülen A→G değişimine, bilinen Ib-2 genotipi dizilerinde rastlanmamıştır. Bu pozisyonda G varlığı alt tip III BKPyV suşlarında görülmektedir. Ancak 1766-1768. nükleotid dizisi alt tip III BKPyV’de AGC iken TRY-84 suşunda TGA olup G dışında Ib-2 genotipi ile uyumludur. Bu durum bir rekombinasyon olarak değil, ancak bir nokta mutasyon olarak ifade edilebilir.

İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Viroloji ve Temel İmmünoloji Bilim Dalı Laboratuvarı’nda BKPyV DNA’sının saptanmasında kullanılmakta olan real-time PCR yönteminde kullanılan kitin güvenilirliğinin sınanması amacıyla ile BKPyV DNA’sının saptanmadığı böbrek ve kemik iliği transplantasyonu yapılmış toplam 70 hastaya ait idrar örneklerinde iki farklı gen bölgesine yönelik PCR işlemi uygulanmıştır. Real-time PCR yönteminde kullanılan hedef bölge tAg geninin BKPyV’de 175 baz çifti içeren bölgesidir. Çalışmamızda VP1 geninde 327 baz çifti (Şekil 4.1), VP2 geninde 704 baz çifti (Şekil 4.6) içeren (Dunlop suşunda 624-1327. nükleotid bölgesi) bölgeler çoğaltılmış olup örneklerin hiçbirinde pozitif sonuç alınmamıştır.



Şekil 4-4: BKPyV VP2 geninin çoğaltılan 704 bp’lik bölgesinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü ve analiz sonuçları.

Jelde 1. sırada 100 bp DNA Ladder standart bantları; , 2,3,4 ve 5. sıralarda farklı pozitif kontrollere ait bantlar bulunmaktadır. Görüntüleme cihazı, baz çifti sayısını bant kalınlığına bağlı olarak yaklaşık değer olarak sağlamaktadır. Kontrol bantlarına ait değerler tabloda siyah fonda görülmektedir.

5. TARTIŞMA

Böbrek transplantasyonu sonrasında greft kaybına neden olabilen PyVAN'de patogenezi konusu tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir. İmmunosupresyonun baş rolü üstlendiği PyVAN gelişiminde ileri yaş, erkek cinsiyet, HLA uyumsuzluğu, seropozitif ve kadavra verici gibi alıcıya ve grefte atfedilen bir takım risk faktörlerinden bahsedilmektedir (117). BKPyV genotiplerinin ise patogenezi fark yaratıp yaratmadığı merak konusu olmuştur. Fare polyomavirusunda VP1'de gerçekleşen tek aminoasit değişiminin patogenezi artışa neden olduğunun gösterilmesi ile BKPyV'de de benzeri bir durumun olabileceği gündeme gelmiştir (170). BKPyV'de VP1'i kodlayan gen bölgesindeki, dolayısıyla proteinin aminoasit dizisindeki farklılıkların, virusun konak hücreye bağlanması ve girişi ile replikasyon etkinliğinde fark yaratabileceği hücre kültürü çalışmaları ile gösterilmiştir (bkz. Gereç ve Yöntem bölümünde Tablo 3.9). Ancak söz konusu dizi farklılıklarının PyVAN ile ilişkisi açıklığa kavuşturulamamıştır (6).

Çalışmamızda böbrek transplantasyonu yapılmış hastaların idrar örneklerinden elde edilen BKPyV suşlarında, konak hücreye bağlanmada etkili olan VP1'in BC bölgesinin tamamı ve DE bölgesinin ilk 5 aminoasidine ait dizi bilgileri elde edilmiştir.

VP1'de BC ve HI bölgelerinde yan yana bulunan arjinin ve glisin aminoasitlerinin oluşturduğu iki RG motifi (64-65 ve 281-282. aminoasitler) bulunmaktadır (Tablo 3.7). Bu bölgede gerçekleşen bir mutasyonla aminoasitlerden herhangi birinin alanine dönüşmesinin virusun infeksiyon yeteneğini ortadan kaldırdığı gösterilmiştir. Bu etkide, farklı yüklerdeki aminoasit kalıntılarının değişimlerinin rol oynadığı ifade edilmektedir (6).

Baldorini ve ark. (7) İtalya'da böbrek transplantasyonu sonrasında BKPyV saptadıkları hastalarda VP1 genindeki mutasyonların nefropati gelişimiyle bağlantısını araştırmışlardır. PyVAN gelişen 8 hasta ile nefropati bulgusu olmayan 41 hastaya ait idrar, kan ve biyopsi (yalnızca böbrek işlev kaybı olanlardan PyVAN ya da rejeksiyon şüphesi ile biyopsi alınmıştır) örneklerinde saptadıkları BKPyV suşlarında VP1 geninin 1744-1812. (Dunlop suşu) nükleotid bölgesindeki tek nükleotid değişimlerini belirlemişlerdir. VP1 geninde görülen tek nükleotid değişimlerinin PyVAN grubundan

aldıkları örneklerde saptadıkları BKPyV suşlarında %75, buna karşın nefropati gözlenmeyen grupta saptanan suşlarda %17 oranında olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar, bu sonuçtan yola çıkarak BKPyV'nin genomik yapısında kararsızlık gösteren suşlarının, hastalık oluşturmada daha etkili olabileceği hipotezini öne sürmüşlerdir. İleri sürdükleri bir diğer görüş ise toplumda dolaşımda bulunan BKPyV suşlarının düşünüldüğünden daha fazla çeşitlilik göstermekte olduğudur.

Randhawa ve ark. (102), A.B.D.'de gerçekleştirdikleri çalışmalarında BKPyV'nin patogeneğinde etkili olabileceği deneysel çalışmalarda bildirilmiş olan VP1 geni mutasyonlarını interstisyel nefrit hastalarından elde ettikleri BKPyV suşlarında araştırmışlardır. Toplam 24 hastaya ait 49 biyopsi örneğinde saptadıkları BKPyV suşlarının VP1 geni dizilerinde, bildirilmiş olandan daha fazla çeşitlilik sergilediklerini belirlemişlerdir. Hastaların 13'ünde (%54) alt tip I, 1'inde (%4) alt tip II ve 5'inde (%21) alt tip IV BKPyV suşu saptamışlar ancak 5 hastada BKPyV suşlarının VP1 geni dizilerinde karşılaştıkları çeşitlilik nedeniyle genotiplendirme yapamamışlardır. Araştırmacılar virusun genom yapısının kararlı olmadığını, hastalık sürecinde aynı hastadan elde ettikleri virus DNA'sı dizilerinde farklılaşma gözlenebildiğini bildirmişlerdir. Ancak bu çalışmada kullanılan biyopsi örneklerinin, mutajen özellikle formalinle fiske edilmiş parafin bloklardan elde edildiği bildirilmiştir. Araştırmacılar, saptadıkları mutasyonların formalinden kaynaklanamayacak kadar çok sayıda (formalin 1:500–1:3333 baz değişimine neden olurken çalışmada 94 bp'lik dizide 10 değişim bildirilmiştir) ve tüm nükleotidlerde birbirine dönüşme şeklinde (formalin genellikle G→A ve C→T değişimine neden olur) olduğunu belirtmiş olmakla birlikte bu durum çalışmanın sonuçlarını değerlendirmede göz önüne alınmalıdır.

Krautkramer ve ark. (166) Almanya'da böbrek transplantasyonu yapılmış 45 hastanın idrar örneklerinde saptadıkları BKPyV suşlarının yaklaşık %67'sini alt tip I ve kalan %33'ünü alt tip IV genotipinde bulmuşlardır. Bu suşların VP1 geni BC kıvrım bölgesindeki aminoasit değişikliklerini araştırmışlar ve bu bölgede 10 suşta F66L, A72V, E73Q, D77H, E82D değişimlerini belirlemişlerdir. Bu değişimlerden 77. pozisyondaki aminoasit değişiminde negatif yüklü aspartik asidin yerini, pozitif yüklü histidin almıştır. Ancak araştırmacılar saptadıkları değişimlerle örneklerdeki viral DNA kopya sayısı ve biyopsiyle kanıtlanan nefropati durumu arasında bir ilişkinin bulunmadığını bildirmişlerdir.

Luo ve ark. (103), böbrek transplantasyonu yapılmış 18 ve sağlıklı 7 kişiden aldıkları idrar örnekleri ile gerçekleştirdikleri çalışmalarında BKPyV VP1 geninde mutasyonların görüldüğü noktaları belirlemişler; BC kıvrım bölgesinde 60, 73, 77 ve 82. pozisyonlardaki aminoasitleri kodlayan dizilerde 5 mutasyon noktası bildirmişlerdir. BKPyV suşlarında VP1 geni mutasyonlarının, viremi ve nefropati gelişen hastalarda sadece virüri saptanmış hastalar ve sağlıklı kişilerin oluşturduğu gruptan daha yüksek oranda bulunduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar 5 hasta ve 4 sağlıklı kişide saptadıkları BKPyV suşlarında olası rekombinasyon durumlarının varlığını da bildirmişlerdir.

Takasaka ve ark. (171), böbrek transplantasyonu yapılmış PyVAN bulgusu olmayan 6 hastanın idrar örneklerinde klonlama yöntemiyle BKPyV varyantlarını araştırmışlardır. Hastalarda, 5 alt grup Ic ve 1 alt tip IV BKPyV suşu elde etmişler ve bir hastada Ic alt grubunda 3 farklı dizi belirlemişlerdir. Bu dizilerden 2'sinde, BC kıvrım bölgesinde (Dunlop numaralandırmasına göre 1744 ve 1807. nükleotid pozisyonlarında) yanlış anlamlı (missense) mutasyonlar saptamışlardır. Bu mutasyonlar, E61K ve E82Q değişimlerine yol açmıştır. Gerçekleştirdikleri tüm genom dizi analizleri sonucunda bu hasta grubunda bulunan BKPyV suşlarının genom yapısının, kodlayıcı bölgede birkaç nükleotid değişimi dışında, kararlılık gösterdiğini bildirmişlerdir.

Tremolada ve ark. (161) böbrek transplantasyonu yapılmış 8 PyVAN hastası ile nefropati bulgusu olmayan 7 hastanın idrar örneğindeki BKPyV suşlarında buldukları VP1 dizisi mutasyonları ile nefropati gelişimi arasında bir ilişki bulamamışlardır. BC kıvrım bölgesinde her iki grupta da alt tip IV BKPyV suşlarında D77E, alt tip I BKPyV suşlarında ise E82D değişimlerini belirlemişlerdir. Araştırmacılar, yine her iki hasta grubunda idrarda BKPyV yükünü 10^7 kopya/ml üzerinde saptamış olup nefropati gelişiminde, idrardaki viral yükün takibinin anlamlı olmadığını belirtmişlerdir.

Çalışmamızda 18 BKPyV suşunda (11 VP1 dizisinde) gen bankasındaki BKPyV dizileri arasında bulunmayan tek nükleotid değişimleri saptanmıştır. Bu suşlardan 8'i VP1'de aminoasit değişimine yol açmayan sessiz mutasyonlara sahip olup 10'unda bildiri yapılmamış aminoasit değişimleri belirlenmiştir. Ayrıca 8 suşta (1'i aynı zamanda sessiz mutasyon da taşımaktadır) gen bankasında bildiri bulunan ve VP1'de aminoasit değişimine yol açan mutasyonlar saptanmıştır. Toplam 25 suşta (%27) tek nükleotid değişimi saptadığımız hasta grubumuz, plazma BKPyV viral yük verilerine dayanılarak PyVAN gözlenmeyen grup olarak ele alındığında oranımız, Boldorini ve

arkadaşlarının (7) saptamış oldukları orandan (%17) yüksek gözükmemektedir; ancak çalışmamızda incelediğimiz VP1 gen bölgesi Boldorini ve arkadaşlarının incelediği bölgeden 229 bp daha uzun bir alanı içermektedir. Ortak dizi bölgesinde saptadığımız tek nükleotid değişimi oranımız %15 olup araştırmacılar tarafından bildirilen değere yakındır.

Çalışmamızda analizi yapılan BC bölgesinde bulunan RG motifinde bir aminoasit değişimi saptanmamıştır. DE bölgesinin ilk 5 aminoasidinde de değişim bulunmamıştır. Ayrıca BC bölgesinde Tablo 3.9'da bildirilmiş olan aminoasit değişimlerine rastlanmamış ancak bu bölgede farklı aminoasit değişimleri belirlenmiştir.

Ib-2 genotipinde olan TRY-8 suşunda 77., TRY-84 suşunda ise 68. aminoasitleri kodlayan bölgelerde sessiz mutasyonlar sonucu aminoasit değişimi gerçekleşmemiştir. Buna karşın TRY-6,12,15,17,23,26,29,30,36,37,48,67,72,78,80,81,86 ve 87 suşlarında aminoasit değişiklikleri saptanmıştır.

Ib-1 genotipindeki TRY-48 suşunda 60. aminoasit olan negatif yüklü aspartik asit yerine yüksüz asparajin bulunmaktadır. Ib-2 genotipindeki TRY-12 suşunda 82. aminoasit pozisyonunda negatif yüklü glutamik asit yerine yüksüz glutamin bulunmaktadır. TRY-72 suşu da Ib-2 genotipinde olup 61. aminoasit pozisyonunda glutamik asit yerine yine negatif yüklü olan aspartik asit bulunmaktadır. Ib-1 genotipindeki TRY-87 suşunda 68. aminoasit pozisyonunda lösin yerine valin bulunmakta olup her iki aminoasit de yüksüzdür.

Ib-2 alt tipinde olan TRY-26,30,36,81 suşlarında 82. pozisyonda glutamik asit yerine aspartik asit değişimi bulunmakta olup BC kıvrım bölgesinde bu aminoasit değişimi bildirim yapılmış değişimler arasında yer almaktadır (164).

BC kıvrım bölgesindeki aminoasit değişikliklerini belirlemek amacıyla yapılmış çalışmalar, özellikle 77 ve 82. pozisyonlarda değişimlere sık olarak rastlanıldığını göstermektedir.

IVc-2 genotipinde bulunan TRY-6,15,17,23,29,37,67,78,80 ve 86 suşlarında 77. aminoasit pozisyonunda aspartik asit yerine yine negatif yüklü glutamik asit bulunmaktadır. Bu değişim gen bankasında bulunan alt tip IV BKPyV suşlarında sık görülen bir değişimdir.

BC kıvrım bölgesinin dışında tek nükleotid değişimleri saptanan 12 BKPyV suşu bulunmuştur. Alt tip IV genotipinde, aynı diziye sahip olan TRY-6,17,29,37,67 ve

80 suşlarında 42. aminoasit pozisyonunda valin yerine yine yüksüz olan lösin bulunmaktadır. Ib-2 genotipindeki TRY-46 suşunda 99. aminoasit pozisyonunda; alt tip IV genotipindeki TRY-89 suşunda 103. aminoasit pozisyonunda ve Ib-2 genotipinde aynı diziye sahip olan TRY-25,44 ve 91 suşlarında 109. aminoasit pozisyonunda sessiz mutasyonlar belirlenmiş olup tüm pozisyonlarda lösin bulunmaktadır. Alt tip IV genotipindeki TRY-78 suşunda 114. aminoasit pozisyonunda sessiz mutasyon saptanmış olup bu pozisyonunda valin bulunmaktadır.

Çalışmamızda uyguladığımız PCR yönteminde yüksek miktarda ampikon eldesi için, böbrek transplantasyonu yapılmış hastalardan, idrar BKPyV DNA kopya sayısı çoğunlukla yüksek olarak bulunan örnekler seçilmiştir. Hastaların plazma örneklerinin çoğunda ise BKPyV DNA'sı saptanmamış ya da düşük kopya sayılarında (<5 000 kopya/ml) bulunmuştur. Çalışmamız, BKPyV genotipleri ve saptanan mutasyonlar ile nefropati gelişimi arasında olası bir ilişkinin araştırılması üzerine kurgulanmamıştır. Bununla birlikte BKPyV ile ilişkili nefropati gelişiminde dikkate alınması gerekliliği önerilen; plazmada bir eşik değer olarak belirtilen 10 000 kopya/ml ve üzerinde BKPyV DNA'sının saptandığı hastalarda nefropati gelişimi araştırılmıştır.

Çalışmamızda plazma örneğinde BKPyV DNA'sının 10 000 kopya/ml değerinin üzerinde saptandığı iki hasta bulunmaktadır. BKPyV alt tip II genotipindeki TRY-56 suşunun saptandığı, 25 yaşındaki kadın hastaya ait idrar örneğinde BKPyV DNA'sı 50 000 000 kopya/ml'nin üzerinde belirlenmiştir. Hastanın plazma örneklerinde ise 2010 yılı Aralık ayında 15 200, 2011 yılı Ocak ayında 34 750, Mart ayında ise 33 700 kopya/ml BKPyV DNA saptanmış olup bu tarihten sonrasına ait sonuç bulunamamıştır. Hastanın, ardışık takip dönemlerinde yüksek viremi gözlenmekle birlikte, nefropati bulgusunun olmadığı, hamile kalma isteği nedeniyle de uygulanmakta olan immünoşüpresif tedavide immünoşüpresyonu azaltmaya yönelik bir düzenlemenin yapıldığı bilinmektedir. Bu durumun BKPyV replikasyonunun baskılanması yönünde katkıda bulunacağı düşünülmektedir. Hastada saptanan TRY-56 suşu, çalışmamızda viremi saptanmayan hastalarda bulduğumuz diğer alt tip II suşlarıyla ve gen bankasına bildiri yapılmış birçok suşla aynı VP1 dizisine sahiptir.

Ib-2 genotipindeki TRY-49 suşunun saptandığı 57 yaşında erkek hastanın plazma örneğinde 2010 yılı Mart ayında 21 700 kopya/ml olarak bulunan BKPyV DNA'sı zamanla düşüş göstererek Mayıs ayında 5000 (708) kopya/ml'nin altında belirlenmiş olup bu hastada nefropati bulgusu saptanmamıştır.

Çalışmamızda VP1 BC kıvrım bölgesinde aminoasit değişimleri bulunan tüm suşlar, plazma örneklerinde BKPyV DNA'sının saptanmadığı hastalardan elde edilmiştir. Dolayısıyla bu aminoasit değişimlerinin, PyVAN ile ilişkisi bulunmamıştır.

Charles Darwin, ‘‘İnsanın Türeyişi’’ adlı kitabında Büyük Okyanus’ta bir balina avı gemisinde doktor olan A. Murray’ın bir gözleminden ve bu gözlemin evrimsel öneminden bahsetmektedir. Murray, mürettebatta farklı ülkelerden gelen kişilerin taşıdığı bitleri dikkatle incelemiş ve renk, vücut şekli gibi özelliklerinde farklılık sergilediklerini görmüştür. Afrikalı, Amerikalı, İngiliz ve Avustralyalılardan elde ettiği farklı bitleri bölgelere göre sınıflandırmıştır (172). Darwin, insan ve paraziti arasındaki bu yakın ilişkiyi 1872 yılında yayınlanan kitabında ele aldıktan 132 yıl sonra Reed ve arkadaşları (173) modern insanın evrimi konusundaki hipotezleri değerlendirirken bitlerin genetik analizlerinden elde ettikleri verileri kullanmışlardır. Günümüzde insanların parazitlerle evrimsel ilişkisi, moleküler biyoloji alanındaki tekniklerin farklı organizmalar üzerinde kullanılmasıyla aydınlatılmaya çalışılmaktadır.

BKPyV’nin genetik antropoloji alanında bir popülasyon belirteci olarak kullanılması, virusun genotiplerinin dünyadaki dağılımının insan topluluklarının dünyadaki dağılımı ile yakın ilişkisinin belirlenmesiyle gündeme gelmiştir. Modern insanın Afrika’dan çıkarak dünyanın farklı bölgelerine yayılması sürecinde bu virüsle birlikte göç ettiği ifade edilmektedir (71). Bununla birlikte geçmişte bazı toplulukların intirinsik BKPyV soylarını kaybettiği ve bugün sahip oldukları BKPyV suşlarını, ilişkide buldukları diğer topluluklardan edindikleri düşünülmektedir (4). Dolayısıyla BKPyV’nin, insan topluluklarının hareketinin tanımlanmasında kullanımını bakımından bu durum göz önünde bulundurulmalıdır.

Klinik durumun BKPyV alt tip ve alt grup dağılımı üzerinde bir fark oluşturmadığı gösterilmiş olduğundan (69, 174) toplumlarda BKPyV genotiplerinin dağılımının belirlenmesi çalışmaları, farklı klinik özellikler gösteren popülasyonlarla gerçekleştirilebilmekte ve bu popülasyonlardan elde edilen veriler karşılaştırılabilmektedir.

Luo ve ark. (155), gen bankasındaki dizileri kullanarak gerçekleştirdikleri genotiplendirme çalışmalarında, tüm genom dizileri ile oluşturulan filogenetik ağaçların VP1 geni dizileriyle elde edilenden farklı olmadığını bildirmiştir.

Tez çalışmamızda BKPyV genotiplendirmesinde kullanılan VP1 gen bölgesinin analizi gerçekleştirilmiş olup bu bölgenin genotiplendirmede yetersiz kalması ya da bildirim yapılmış dizilerden çok farklı bir dizinin saptanması olasılığına karşı tüm genom analizinin yapılması planlanmıştır. Elde ettiğimiz VP1 dizileri alt tip ve alt grupların belirlenmesinde yeterli bilgiyi sağlamıştır.

Virus suşları arasındaki filogenetik ilişkinin araştırılmasında genetik rekombinasyon olasılığı da değerlendirilmelidir. Halkasal genoma sahip virüslerde rekombinasyonun, lineer genom taşıyanlardan daha az gerçekleştiği bilinmektedir. BKPyV’de kodlama yapan genom bölgesinde rekombinasyon olaylarına ilişkin yeterli kanıt bulunmamakta olup tür içi genetik rekombinasyonun BKPyV evriminde etkili olmadığı ifade edilmektedir. Ancak bu durum, VP1 geni dizisindeki polimorfizmde rekombinasyon olasılığının tümüyle dışlanması anlamını taşımamaktadır. Lokal rekombinasyon ise mutasyon olaylarından ayırd edilememektedir (155). Çalışmamızda TRY-6,8,17,25,29,37,44,46,67,78,80 ve 91 suşlarına ait dizilerde saptanan mutasyonlar, düşük olasılık bulunmasına karşın rekombinasyon sonucu olarak da ele alınmış ve rekombinasyon durumları tanımlanmıştır.

Zheng ve ark. (71) Avrupa, Afrika ve Asya’nın farklı bölgelerinden sağlıklı kişiler ve immünoşüpresyon durumu olmayan hastalardan aldıkları idrar örneklerinde BKPyV alt tip ve alt gruplarını belirlemişlerdir. Araştırma, Avrupa’da 9 ülkeden 70, Afrika’da 8 ülkeden 44, Batı Asya’da 2 ülkeden 17, Kuzeydoğu Asya’da 4 ülkeden 112 ve Güneydoğu Asya’da 3 ülkeden 56 BKPyV suşu ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada belirlenen BKPyV alt tip ve alt gruplarının bölgeler arasındaki dağılım tablosu, bu virüsün insan topluluklarıyla yakın ilişkisini göstermektedir. Çalışmanın sonucunda alt tip I’in %65 oranıyla (%46-88) en sık saptanan BKPyV alt tipi olduğu belirlenmiştir. Çin ve Moğolistan bölgelerinde ise alt tip I %46 oranında bulunmuş, %54 oranında saptanan alt tip IV ise baskın olan BKPyV alt tipi olarak bildirilmiştir. Buna karşın, Japonya ve Kore’de ise alt tip I %88, alt tip IV %12 oranında bulunmuştur. Avrupa’da %57 oranında alt tip I, %39 oranında alt tip IV ve %4 oranında alt tip II saptanmış olup alt tip III bulunmamıştır. Afrika dışında tüm bölgelerde alt tip I’i alt tip IV’ün takip ettiği belirlenmiştir. Afrika’da ise %82 oranında saptanan alt tip I’i %9 oranında alt tip III ve %5’er oranla alt tip II ve alt tip IV’ün izlediği görülmüştür. Afrika’ya ait verilerin diğer bölgelerden farklı olarak göze çarpan iki özelliği bulunmaktadır. Öncelikle bu bölgede tüm BKPyV alt tipleri saptanmıştır; buna karşın alt tip III diğer bölgelerde

bulunmamıştır. Diğer bir fark alt tip IV dağılımında görülmektedir. Diğer bölgelerden farklı olarak Afrika'da alt tip IV düşük oranda (%5) saptanmıştır.

Nishimoto ve ark. (143), Alt tip IV BKPyV suşlarının dağılımının coğrafi bölgeler arasında önemli farklılıklar gösterdiğini bildirdikleri çalışmalarında, Avrupa'da sadece alt grup IVc-2'nin bulunduğunu ifade etmişlerdir. Alt grup IVc-2 aynı zamanda Kuzeydoğu Asya'da da bulunan bir genotiptir. Ancak Asya'nın doğusunda IVc-2 dışındaki diğer tüm alt gruplar yaygın olarak bulunmaktadır.

Çalışmamızda saptadığımız 19 (%20,2) alt tip IV BKPyV suşunun tümü, IVc-2 alt grubundadır.

Alt tip IV BKPyV'nin Afrika'da nadir bulunup özellikle Doğu Asya'da yaygın olması nedeniyle bu alt tipin Doğu Asya'dan köken aldığı düşünülmektedir. Asyalıların atalarını infekte eden alt tip IV BKPyV'nin orijininin açıklanmasında iki hipotez ortaya konmuştur. İlk hipotez, türümüzün atalarının, Afrika'da yaşadıkları dönemde alt tip IV BKPyV ile infekte olduğu yönündedir. Bu hipoteze göre modern insanın ortaya çıkış sürecinde Afrika dışına göç ile alt tip IV BKPyV Avrasya'da yayılmıştır. Konakta alt tip IV'e duyarlılığı etkileyen genetik değişikliklerin gerçekleşmesi gibi bazı nedenlerden dolayı, alt tip IV, antik Afrikalılar ve Avrupalılarda kaybedilmiş ancak Antik Asyalılar'da persiste olmuş ve insan dağılımıyla bağlantılı olarak Asya ve Avrupa'nın bazı bölgelerine yayılmıştır. İkinci hipotezde, BKPyV alt tip IV'ün doğal konağının Asya'da yaşayan bir primat olduğu ileri sürülmektedir. Asyalıların ataları, alt tip IV ile infekte primatların olduğu alana geldiklerinde bu virüsü edinmişlerdir (4, 143). Bu hipotez, polyomavirusların konakla birlikte evrimleşmekle birlikte bazen konak değiştirdiklerini göstermiş olan Pe'rez-Losada ve ark.'dan (175) temel almaktadır.

Zhong ve ark. (5), geçmişte konuyla ilgili yapılmış çalışmalara (69, 70, 174, 176) ait verileri de kullanarak BKPyV genotiplerinin dünyadaki dağılımını araştırmışlardır. Çalışmada, farklı klinik tablolar sergileyen (sağlıklı kişiler, immünoşüpresyon durumu olan ve olmayan hastalar), Amerika (Kuzeydoğu ABD ve Güney Kaliforniya), Avrupa (Finlandiya ve İrlanda / İngiltere) ve Asyalılarda (Japonya ve Çin), saptanan BKPyV alt tip ve alt grup verileri sunulmuştur. Araştırmacılar, alt tip I'i tüm popülasyonlarda en yüksek saptanan (%64-90) BKPyV alt tipi olarak belirlemişlerdir. Alt tip I'in alt gruplarından Ib-2 ağırlıklı olarak Avrupa ve Amerika topluluklarında saptanmış (%71-79) olup Ic'nin ise bu topluluklarda nadir görüldüğü

(%6) buna karşın Asya topluluklarında baskın tip olarak bulunduğu (%61-85) bildirilmiştir.

Motazakker ve ark. (177), böbrek transplantasyonu yapılmış 120 İranlı Türk hastanın 12'sinin idrar örneğinde BKPyV DNA'sını saptamışlar ve RFLP-PCR yöntemiyle tüm suşların alt tip I BKPyV olduğunu bildirmişlerdir.

Slavov ve ark. (178), Bulgaristan'da 5 böbrek transplantasyonu yapılmış hasta, 1 spesifik olmayan glomerulonefrit ve 2 sistemik lupus eritematozu glomerulonefriti hastası, 1 hamile ve 1 sağlıklı kişiden elde ettikleri 10 BKPyV suşunun alt tip ve alt gruplandırmasını gerçekleştirmişlerdir. Alt tip I olarak saptadıkları 8 suşun (%80) tümü Ib-2 alt grubunda bulunmuş olup diğer 2 suş (%20) alt tip IV olarak bildirilmiştir. Alt tip IV BKPyV suşlarının alt gruplandırmasını gerçekleştirmemişlerdir.

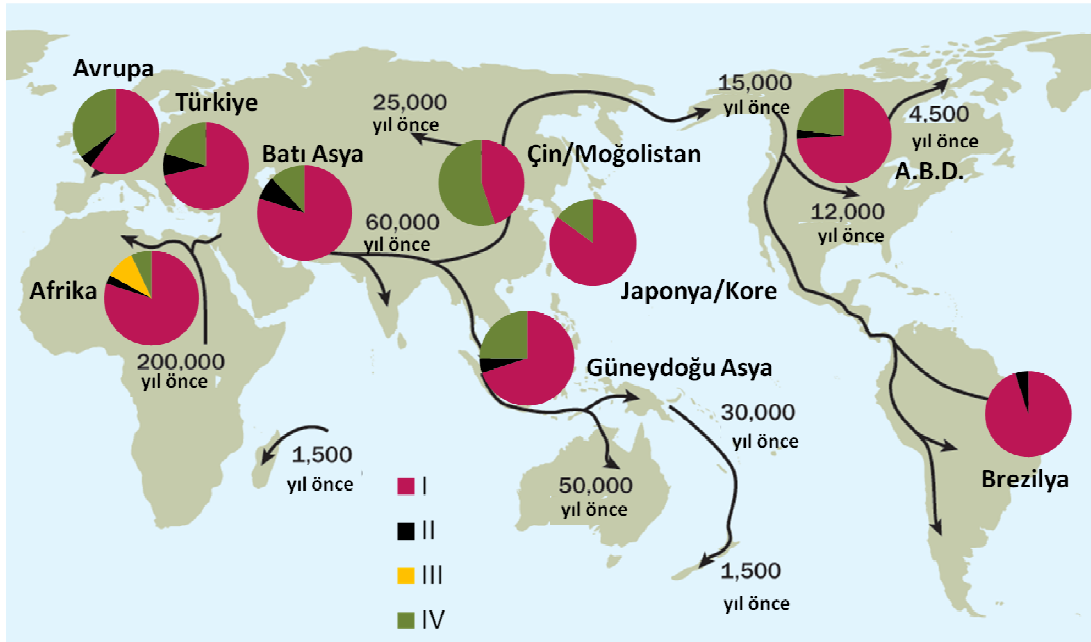
Momynaliev ve ark. (179) Rusya'da böbrek transplantasyonu yapılmış 58 pediatrik, 159 yetişkin hasta ile gerçekleştirdikleri çalışmalarında rastgele seçtikleri 16 hastanın (6 çocuk, 10 yetişkin) idrar örneklerinde saptadıkları BKPyV suşlarının genetik analizini yapmışlardır. Suşların 4 çocuk ve 8 yetişkine ait örneklerden elde edilmiş olan 12'sinin (%66) Ib-2; 2 çocuk ve 2 yetişkinden edinilmiş olan 4'ünün (%24) ise IVc-2 alt tipinde olduğunu bildirmişlerdir.

Boukoum ve ark. (180) Tunus'ta BKPyV DNA'sının saptandığı böbrek transplantasyonu yapılmış hastalardan aldıkları 46 idrar örneği ile gerçekleştirdikleri çalışmalarında, örneklerden 41'inde uyguladıkları PCR yöntemi başarılı olmuş ve 38'inde alt tiplendirme için uygun dizi verilerini elde etmişlerdir. Filogenetik analiz sonucunda 31 suşun alt tip I, 6 suşun alt tip II ve 1 suşun alt tip IV BKPyV genotipinde olduğunu belirlemişlerdir. Alt tip I olarak saptadıkları 31 suştan sadece 1'i Ib-1, kalan 30'u Ib-2 alt grubunda yer almıştır. Alt tip IV BKPyV suşunun alt gruplandırmasını gerçekleştirmemişlerdir.

Zalona ve ark. (181) Brezilya'da böbrek transplantasyonu yapılmış 51 hastada saptadıkları BKPyV suşlarının filogenetik analizini gerçekleştirmişler ve suşların 49'unu (%96) alt tip I, 2'sini (%4) alt tip II olarak bildirmişlerdir. Alt tip III ve IV BKPyV suşu saptanmamıştır. Alt tip I olarak belirlenen suşların 15'i (%29) Ia, 34'ü (%67) Ib-1 alt grubunda bulunmuştur. Bu çalışma bildiğimiz kadarıyla, Güney Amerika bölgesinde BKPyV genotiplerinin dağılımı konusunda ilk veriyi oluşturmakta olup sonuçları bakımından farklı yorumlara açıktır. İnsan ve BKPyV'nin birlikte göçü hipotezine uygun olarak Kuzey Amerika'da gözlenen BKPyV genotiplerinin

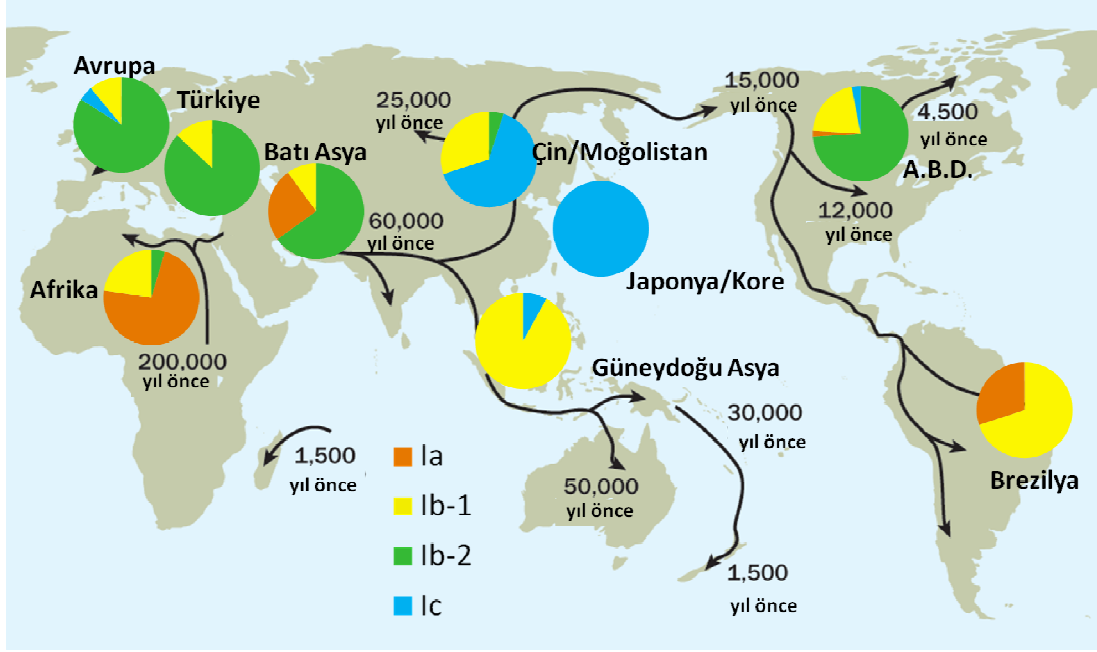
Avrupa'daki dağılım ile uyumlu olduğu Zhong ve ark. (5) tarafından bildirilmiştir. Ia BKPyV alt grubu, Brezilya'da, Kuzey Amerika'da saptandığından (%1,7) çok daha yüksek oranda (%29) bulunmuştur. Çalışmalarında saptadıkları Ia alt grubundaki suşlara ait DNA dizilerinin Doğu Afrika suşlarına ait dizilerle benzerliğine ve bu alt grubun Zheng ve ark. (71) tarafından Afrika'da yüksek oranda (%75) bulunmuş olmasına dayanarak araştırmacılar, Brezilyalıların, Afrikalı atalarının özelliklerini göstermiş olabileceğini belirtmişlerdir. Avrupa'da ve Kuzey Amerika'da yaklaşık %75 oranında saptanan Ib-2 alt grubunun Brezilya'da saptanmamış olması ise araştırmacılar tarafından beklenmedik bir sonuç olarak yorumlanmıştır. Buna karşın Avrupa'da ve Kuzey Amerika'da %25'in altında bulunan Ib-1 alt grubu Brezilya'da en yüksek oranda (%67) saptanmış BKPyV alt grubu olarak bildirilmiştir. Araştırmacılar çalışmalarının, etnik çeşitliliğin en fazla görüldüğü şehir olan Rio de Janeiro'da gerçekleştirildiğinin ve örnek sayısının az olmasının, sonuçları değerlendirirken göz önüne alınması gerektiğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızdan ve ulaşabildiğimiz bildirilerden elde ettiğimiz verilerle hazırlanmış olduğumuz, dünyada BKPyV alt tiplerinin ve alt tip I'e ait alt grupların dağılımını gösteren haritalar Şekil 5.1 ve Şekil 5.2'de görülmektedir.



Şekil:5-1: BKPyV alt tiplerinin dünyadaki dağılımı

Yıllar, modern insanın Afrika'dan çıkarak belirtilen alanlara ulaşma zamanını göstermektedir. Türkiye grafiği, çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlarla oluşturulmuştur (71. kaynaktan değiştirilerek hazırlanmıştır).



Şekil:5-2: BKPyV alt tip I'in alt gruplarının dünyadaki dağılımı.

Yıllar, modern insanın Afrika'dan çıkarak belirtilen alanlara ulaşma zamanını göstermektedir. Türkiye grafiği, çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlarla oluşturulmuştur (71. kaynaktan değiştirilerek hazırlanmıştır).

Şekil 5.1 ve Şekil 5.2'de görülen haritalar üzerindeki veriler değerlendirilirken grafiklerin elde edildiği çalışmaların çoğunda örnek sayısının fazla olmadığı (14-79) göz önünde bulundurulmalıdır. Bu anlamda çalışmamız dışında elde edilmiş en güvenilir sonuçlar, Çin/Moğolistan bölgesine (79 örnek) aittir (71).

Her iki haritada görülen Batı Asya grafikleri, bu bölgeden alınan 14 örneğin incelenmesiyle elde edilmiştir. Zheng ve ark. (71) tarafından gerçekleştirilen bu çalışmada, örneklerin 11'i Suudi Arabistan'ın başkenti Riyad'dan alınmış olup 8'i (%73) alt tip I, 2'si (%18) alt tip IV ve 1'i (%9) alt tip II olarak belirlenmiştir. Alt tip I BKPyV suşlarının 2'si Ia, 1'i Ib-1, 4'ü Ib-2 alt grubunda saptanmış 1 suş gruplandırılmamıştır. Batı Asya verisinin oluşturulmasında kullanılan 6 BKPyV suşu ise Ankara'dan alınmış olup tümü alt tip I genotipinde bulunmuştur. Bu suşlardan 1'i Ia, geriye kalan 5'i Ib-2 alt grubunda saptanmıştır.

Çalışmamızda saptanan BKPyV alt tiplerinin dağılım oranları, Batı Asya ve Avrupa oranlarıyla uyumlu bulunmuştur. Alt tip IV olarak saptanan suşların tümü Avrupa'da yaygın olan IVc-2 alt grubundadır. Alt tip I suşlarının çoğu Ib-2 (%86,6) alt grubunda toplanmıştır. Belirlenen diğer alt grup, Ib-1 (%13,4) olup Ia ve Ic alt grupları saptanmamıştır. Ia alt grubu Afrika'da yaygın olarak bulunan alt gruptur. Zheng ve ark. (71) ise çalışmalarında Ankara'dan alınan idrar örneklerinde saptadıkları 6 BKPyV suşundan 1'ini (TUR-1, GenBank no: AB276240) Ia alt grubunda bildirmişlerdir. Bu

durum, Anadolu’da farklı genotiplerin bulunabileceği şeklinde yorumlanabilir. Aynı zamanda verilerin yorumlanabilmesinde örnek sayısının önemini göstermektedir.

Çalışmamızda saptamadığımız Ic alt grubu BKPyV suşlarına Avrupa’da nadir olarak rastlanmaktadır. Bu BKPyV genotipi Kuzeydoğu Asya’da yoğun olarak bulunmaktadır. Elde ettiğimiz sonuçlar, diğer araştırmalarda sunulan verilerle birlikte değerlendirildiğinde Ic alt grubu BKPyV suşlarının Avrupa’ya, Kuzeydoğu Asya’dan Karadeniz’in kuzeyi üzerinden taşındığı yorumu yapılabilir.

Real-time PCR testleri yüksek duyarlılık ve özgüllükleri nedeniyle son yıllarda hastalıkların tanısında öne çıkan yöntemler durumundadır. Böbrek transplantasyonu sonrası PyVAN olasılığına karşı, hastalarda viral yük bilgisiyle birlikte virüri ve vireminin belirlenmesini sağlayacak özellikte bir real-time PCR testinin uygulanması, tedavinin yönlendirilmesinde yardımcı olmaktadır. Bu yöntemlerin özgüllükleri noktasında en önemli unsur, seçilen primer ve problemlerin tasarlanmasında yatmaktadır. Primer ve prob dizileri, araştırılacak etkenin iyi korunmuş bölgelerini hedef almalı, bağlanma bölgelerinde tür içi genetik polimorfizme dikkat edilmelidir. Bu bağlamda BKPyV için tasarlanan real-time PCR testleri, virusun alt tip ve alt gruplarının tümünü saptayabilecek nitelikte olmalıdır (8,182).

Hoffman ve ark. (8) real-time PCR testlerinde kullanılan primer ve problemleri, BKPyV alt tiplerindeki polimorfizmlere karşı etkinlikleri bakımından test etmişlerdir. Bu amaçla kapsid proteinleri ve TAg genlerini hedef alan 7 farklı primer ve prob seti kullanmışlardır. En yüksek hata, alt tip III ve alt tip IV BKPyV suşlarının saptanmasında gözlenmiştir. Hatalar, polimorfizm nedeniyle primer ya da probun bağlanmaması sonucu yalancı negatif sonuç alınması ya da etkin bağlanamama sonucu viral yükün düşük saptanması şeklinde gözlenmiştir.

Luo ve ark. (9) 4’ü büyük transplantasyon merkezlerinde kullanılmakta olan 5 testi, BKPyV polimorfizmlerini saptamaları bakımından analiz etmişlerdir. Testlerin 2’si TAg, 2’si VP1 ve 1’i agnogen bölgesine yönelik tasarlanmış olup tümünde bazı genotipleri saptamada küçük ya da büyük uyumsuzluklara rastlanmıştır. En büyük primer ya da prob uyum sorunu, alt tip IV BKPyV dizileriyle ortaya çıkmıştır. VP1 geninin, polimorfik bir bölge olmakla birlikte korunmuş bölgeleri ile tüm genotipleri kapsayan PCR testi tasarlanmasında hedef alınabilecek yapıda olduğu ifade edilmiştir. Araştırmacılar, buna karşın polimorfizmin, VP1’e kıyasla daha az görüldüğü TAg ve agnoprotein, ideal hedefler gibi gözükmeyle birlikte gen bankasında bu bölgelere ait

verilerin az olması nedeniyle henüz saptanmamış gen polimorfizmleri olasılığının düşünülmesi gerektiğini önermektedir.

Iwaki ve ark. (56) gen bankasındaki verileri kullanarak BKPyV genomunda korunmuş bölge olarak VP2 karboksi terminal bölgesini kodlayan gen bölgesini belirlemiş ve bu bölge hedef alınarak yüksek duyarlılık ve özgüllükte bir real-time PCR testi tasarlanabileceğini bildirmişlerdir.

Testler, tasarlandıkları döneme ait verilerin temeli üzerinde inşa edilmektedir. Gen bankasında, BKPyV ile ilgili dizi bildirimlerinin artması, virusun genetik çeşitliliği hakkında daha fazla bilgi sahibi olmamızın yanı sıra testlerin gözden geçirilerek geliştirilmesine de katkıda bulunmaktadır. Çalışmamızda saptadığımız, Ib-1 genotipinde 2, Ib-2 genotipinde 6 ve IVc-2 genotipinde 3 dizi, gen bankasında bildiri yapılmış diziler arasında bulunmamıştır.

İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji A.D. Viroloji ve Temel İmmünoloji Bilim Dalı'nda kullanılmakta olan real-time PCR yönteminde, BKPyV DNA'sının tAg genini hedef alan ticari kit kullanılmaktadır. Ancak kullanılan primer ve prob dizileri bildirilmemiştir. Dolayısıyla bu dizilerin, BKPyV genotiplerinin saptanmasındaki yeterliliğini gen bankası verileri ile sorgulayabilme olanağımız bulunmamaktadır. Bu nedenle BKPyV DNA'sının saptanmadığı örneklerde yalancı negatif sonuç olasılığına karşı, BKPyV'nin VP1 ve VP2 genlerine ait bölgeleri hedefleyen 2 PCR uygulanmıştır. Böbrek ve kemik iliği transplantasyonu yapılmış toplam 70 hastanın idrar örnekleri incelenmiş ve her 2 PCR ile negatif sonuç alınmıştır. Bu sonuçlar, kullanılmakta olan yöntemin güvenilir olduğunu düşündürmektedir; ancak bu araştırmanın az sayıda örnekle ve tüm genotiplerin bulunmadığı bir coğrafi bölgede gerçekleştirilmiş olduğu göz önünde bulundurulmalıdır.

Çalışmamızda, ülkemizde böbrek transplantasyonu yapılmış hastalarda saptanan BKPyV suşlarının genotipleri belirlenmiş ve virusun konak hücreye bağlanma bölgesinde gerçekleşen mutasyonlar analiz edilmiştir. BKPyV suşlarının 18'inde gen bankasında bildirimine rastlamadığımız 11 BKPyV VP1 geni dizisi bulunmuş olup bildiri tarafımızdan yapılacak olan bu diziler, BKPyV VP1 genini hedef alan PCR testlerinin tasarlanmasında yardımcı olacaktır. Bir DNA virusu olarak replikasyonunda konağın yüksek sadakatli (high fidelity) DNA polimerazını kullanan BKPyV'de DNA sentezi sırasında hata oluşum oranının düşük olması beklenmektedir. Ancak böbrek transplantasyonu yapılmış hastalarda greftte günde 10^9 BKPyV üretimi

gerçekleşebilmektedir (183). Yüksek düzeyde replikasyonun bu hasta grubunda bulunan dizi çeşitliliğinde etkili olabileceği düşünülebilir (103). VP1'de işlevi itibarıyla dizi çeşitliliği konusunun merkezinde yer alan BC kıvrım bölgesinde saptadığımız aminoasit değişimleri ile hastalarda PyVAN gelişimi arasında bir ilişkili bulunmamıştır.

Modern insanın ayak izlerinin takibinde, insan toplulukları arasındaki ilişkinin incelenmesinde kullanımı sözkonusu olan bir virus üzerinde gerçekleştirilen çalışmalarda, incelen suş sayısı, elde edilen verilerin güvenilirliğini arttırmakta ve yapılan yorumları güçlendirmektedir. Çalışmamız, incelenen 94 BKPyV suşu ile, bildiğimiz kadarıyla bir merkezde en fazla sayıda örnekle yürütülmüş olan BKPyV genotiplendirme çalışmasıdır. Böbrek transplantasyonu yapılmış hastalarda saptanan BKPyV suşlarının çoğunun vericiden kaynaklandığı bilinmekte olup hastaların bölgelere göre ayrımının yapılması anlamlı bulunmamıştır. Bölgesel verilerin eldesi, fazla göç almayan yerlerde sağlıklı popülasyonlarla gerçekleştirilebilir. Çalışmamız, ülkemizin en fazla göç alan şehri İstanbul'da gerçekleştirilmiş olup verilerin Türkiye geneli için geçerli sayılabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Doerries K. Human polyomavirus JC and BK persistent infection. *Adv Exp Med Biol* 2006;577:102-116.
2. Imperiale MJ, Major EO. Polyomaviruses. İçinde Knipe DM ve Howley PM, editörler. *Fields Virology*. Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. pp.2263-2298.
3. Hirsch HH, Randhawa P, AST Infectious Diseases Community of Practise. BK virus in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant* 2009;9(Suppl 4):136-146.
4. Yogo Y, Sugimoto C, Zhong S, Homma Y. Evolution of the BK polyomavirus: epidemiological, anthropological and clinical implications. *Rev Med Virol* 2009;19:185-199.
5. Zhong S, Randhawa PS, Ikegaya H, Chen Q, Zheng HY, Suzuki M ve ark. Distribution patterns of BK polyomavirus (BKV) subtypes and subgroups in American, European and Asian populations suggest co-migration of BKV and the human race. *J Gen Virol* 2009;90:144-152.
6. Dugan AS, Gasparovic ML, Tsomaia N, Mierke DF, O'Hara BA, Manley K ve ark. Identification of amino acid residues in BK virus VP1 that are critical for viability and growth. *J Virol* 2007;81:11798–11808.
7. Boldorini R, Allegrini S, Miglio U, Paganotti A, Veggiani C, Mischitelli M ve ark. Genomic mutations of viral protein 1 and BK virus nephropathy in kidney transplant recipients. *J Med Virol* 2009;81:1385-1393.
8. Hoffman NG, Cook L, Atienza EE, Limaye AP, Jerome KR. Marked variability of BK virus load measurement using quantitative real-time PCR among commonly used assays. *J Clin Microbiol* 2008;46:2671-2680.
9. Luo C, Bueno M, Kant J, Randhawa P. Biologic diversity of Polyomavirus BK genomic sequences: Implications for molecular diagnostic laboratories. *J Med Virol* 2008;80:1850-1857.
10. Gross L. A filterable agent, recovered from Ak leukemic extracts, causing salivary gland carcinomas in C3H mice. *Proc Soc Exp Biol Med* 1953;83:414-421.

11. Stewart SE, Eddy BE, Borgese NG. Neoplasms in mice inoculated with a tumor agent carried in tissue culture. *J Natl Cancer Inst* 1958;20:1223-1243.
12. Gjoerup O, Chang Y. Update on human polyomaviruses and cancer. *Adv Cancer Res* 2010;106:1-51.
13. Ahsan N, Shah KV. Polyomaviruses and human diseases. *Adv Exp Med Biol* 2006;577:1-18.
14. Padgett BL, Walker DL, ZuRhein GM, Eckroade RJ. Cultivation of a papova-like virus from human brain with progressive multifocal leukoencephalopathy. *Lancet* 1971;1257-1260.
15. Gardner SD, Field AM. New human papovavirus (B.K.) isolated from urine after renal transplantation. *Lancet* 1971;1253-1257.
16. Allander T, Andreasson K, Gupta S, Bjerkner A, Bogdanovic G, Persson MAA ve ark. Identification of a third human polyomavirus. *J Virol* 2007;81:4130-4136.
17. Gaynor AM, Nissen MD, Whiley DM, Mackay IM, Lambert SB, Wu G ve ark. Identification of a novel polyomavirus from patients with acute respiratory tract infections. *PLoS Pathog* 2007;3:e64.
18. Feng H, Shuda M, Chang Y, Moore PS. Clonal integration of a polyomavirus in human Merkel cell carcinoma. *Science* 2008;319:1096-1126.
19. Dalianis T, Ramqvist T, Andreasson K, Kean JM, Garcea RL. KI, WU and Merkel cell polyomaviruses: a new era for human polyomavirus research. *Semin Cancer Biol* 2009;19:270-275.
20. Dworkin AM, Tseng SY. Merkel cell polyomavirus in cutaneous squamous cell carcinoma of immunocompetent individuals. *J Invest Dermatol* 2009;129:2868-2874.
21. van der Meijden E, Janssens RW, Lauber C, Bouwes Bavinck JN, Gorbalenya AE, Feltkamp MC. Discovery of a new human polyomavirus associated with trichodysplasia spinulosa in an immunocompromized patient. *PLoS Pathog* 2010;6:e1001024.
22. Schowalter RM, Pastrana DV, Pumphrey KA, Moyer AL, Buck CB. Merkel cell polyomavirus and two previously unknown polyomaviruses are chronically shed from human skin. *Cell Host Microbe* 2010;7:509-515.

23. Scuda N, Hofmann J, Calvignac-Spencer S, Ruprecht K, Liman P, Kühn J ve ark. A novel human polyomavirus closely related to the African green monkey–derived lymphotropic polyomavirus. *J Virol* 2011;85:4586–4590.
24. Siebrasse EA, Reyes A, Lim ES, Zhao G, Mkakosya RS, Manary MJ ve ark. Identification of MW polyomavirus, a novel polyomavirus in human stool. *J Virol* 2012;86:10321–10326.
25. Yu G, Greninger AL, Isa P, Phan TG, Martínez MA, de la Luz Sanchez M ve ark. Discovery of a novel Polyomavirus in acute diarrheal samples from children. *PLoS One* 2012;7:e49449.
26. Buck CB, Phan GQ, Raiji MT, Murphy PM, McDermott DH, McBride AA. Complete genome sequence of a tenth human polyomavirus. *J Virol* 2012;86:10887.
27. DeCaprio JA, Garcea RL. A cornucopia of human polyomaviruses. *Nat Rev Microbiol* 2013;11:264-276.
28. Lim ES, Reyes A, Antonio M, Saha D, Ikumapayi UN, Adeyemi M ve ark. Discovery of STL polyomavirus, a polyomavirus of ancestral recombinant origin that encodes a unique T antigen by alternative splicing. *Virology* 2013;436:295–303.
29. Korup S, Rietscher J, Calvignac-Spencer S, Trusch F, Hofmann J, Moens U ve ark. Identification of a novel human Polyomavirus in organs of the gastrointestinal tract. *PLoS ONE* 2013;8:e58021.
30. Feltkamp MC, Kazem S, van der Meijden E, Lauber C, Gorbalenya AE. From Stockholm to Malawi: recent developments in studying human polyomaviruses. *J Gen Virol* 2013;94(Pt 3):482-496.
31. Neu U, Stehle T, Atwood WJ. The Polyomaviridae: Contributions of virus structure to our understanding of virus receptors and infectious entry. *Virology* 2009;384:389–399.
32. Bernard HU. The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. *J Clin Virol* 2005;Suppl.1:S1-S6.
33. Büchen-Osmond C, editör. *ICTVdB - The Universal Virus Database, version 4*. New York, USA: Columbia University; 2006.
34. King AMQ, Adams , Carstens EB, Lefkowitz EJ, editörler. *Virus Taxonomy Classification and Nomenclature of Viruses Ninth Report of the*

- International Committee on Taxonomy of Viruses*. USA: Elsevier Inc; 2012.
35. Johne R, Buck CB, Allander T, Atwood WJ, Garcea RL, Imperiale MJ ve ark. Taxonomical developments in the family Polyomaviridae. *Arch Virol* 2011;156:1627-1634.
 36. ViralZone. Polyomavirus (internette) 2013. Erişim 06.05.2013, http://viralzone.expasy.org/all_by_protein/58.html
 37. Tsai B, Qian M. Cellular entry of polyomaviruses. *Curr Top Microbiol Immunol* 2010;343:177-194.
 38. Cubitt CL. Molecular genetics of the BK virus. *Adv Exp Med Biol* 2006;577:85-95.
 39. Meneguzzi G, Pignatti PF, Barbanti-Brodano G, Milanesi G. Minichromosome from BK virus as a template for transcription in vitro. *Proc Natl Acad Sci* 1978;75:1126-1130.
 40. Moens U, Rekvig OP. Molecular Biology of BK Virus and Clinical and Basic Aspects of BK virus Renal Infection. İçinde Khalili K ve Stoner GL editörler. *Human Polyomaviruses: Molecular and Clinical Perspectives*. New York, USA: John Wiley and Sons; 2001. pp. 359-408.
 41. Tognon M, Corallini A, Martini F, Negrini M, Barbanti-Brodano G. Oncogenic transformation by BK virus and association with human tumors. *Oncogene* 2003;22:5192-5200.
 42. Harris KF, Christensen JB, Imperiale MJ. BK virus large T antigen: interactions with the retinoblastoma family of tumor suppressor proteins and effects on cellular growth control. *J Virol* 1996;70:2378-2386.
 43. Conzen SD, Snay CA, Cole CN. Identification of a novel antiapoptotic functional domain in simian virus 40 large T antigen. *J Virol* 1997;71:4536-4543.
 44. Bennett SM, Broekema NM, Imperiale MJ. BK polyomavirus: emerging pathogen. *Microbes Infect* 2012;14:672-683.
 45. Pipas J. Common and unique features of t antigens encoded by the polyomavirus group. *J Virol* 1992;66:3979-3985.
 46. Mateer SC, Fedorov SA, Mumby MC. Identification of structural elements involved in the interaction of Simian Virus 40 small tumor antigen with protein phosphatase 2A. *J Biol Chem* 1998;273:35339-35346.

47. Kelley WL, Georgopoulos C. The T_{yt} common exon of simian virus 40, JC, and BK polyomavirus T antigens can functionally replace the J-domain of the Escherichia coli DnaJ molecular chaperone. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:3679-3684.
48. Skoczylas C, Fahrbach KM, Rundell K. Cellular targets of the SV40 small-t antigen in human cell transformation. *Cell Cycle* 2004;3:606-610.
49. Seif I, Khoury G, Dhar R. The genome of human papovavirus BKV. *Cell* 1979;18:963-977.
50. Abend JR, Joseph AE, Das D, Campbell-Cecen DB, Imperiale MJ. A truncated T antigen expressed from an alternatively spliced BK virus early mRNA. *J Gen Virol* 2009;90:1238-1245.
51. Johnson EM. Structural evaluation of new human polyomaviruses provides clues to pathobiology. *Trends Microbiol* 2010;18:215-223.
52. Sapp M, Day PM. Structure, attachment and entry of polyoma- and papillomaviruses. *Virology* 2009;384:400-409.
53. Shishido-Hara H, Nagashima K. Synthesis and Assembly of Polyomavirus Virions. İçinde Khalili K ve Stoner GL editörler. *Human Polyomaviruses: Molecular and Clinical Perspectives*. New York, USA: John Wiley and Sons; 2001. pp. 149-178.
54. Fang CY, Chen HY, Wang M, Chen PL, Chang CF, Chen LS ve ark. Global analysis of modifications of the human BK virus structural proteins by LC-MS/MS. *Virology* 2010;402:164-176.
55. Mannova P, Liebl D, Krauzewicz N, Fejtova A, Stokrova J, Palkova Z ve ark. Analysis of mouse polyomavirus mutants with lesions in the minor capsid proteins. *J Gen Virol* 2002;83:2309-2319.
56. Iwaki KK, Qazi SH, Garcia-Gomez J, Zeng D, Matsuda Y, Matsuda K ve ark. Development of a real-time quantitative PCR assay for detection of a stable genomic region of BK virus. *Virol J* 2010;7:295-305.
57. Daniels R, Rusan NM, Wadsworth P, Hebert DN. SV40 VP2 and VP3 insertion into ER membranes is controlled by the capsid protein VP1: implications for DNA translocation out of the ER. *Mol Cell* 2006;24:955-966.
58. Unterstab G, Gosert R, Leuenberger D, Lorentz P, Rinaldo CH, Hirsh HH.

- The polyomavirus BK agnoprotein co-localizes with lipid droplets. *Virology* 2010;399:322-331.S
59. Johannessen M, Walquist M, Gerits N, Dragset M, Spang A, Moens U. BKV agnoprotein interacts with a-soluble N-ethylmaleimide-sensitive fusion attachment protein, and negatively influences transport of VSVG-EGFP. *PLoS ONE* 2011;6:e24489.
 60. Johannessen M, Myhre MR, Dragset M, Tümmler C, Moens U. Phosphorylation of human polyomavirus BK agnoprotein at Ser-11 is mediated by PKC and has an important regulative function. *Virology* 2008;379:97-109.
 61. Leuenberger D, Andresen PA, Gosert R, Binggeli S, Ström EH, Bodaghi S ve ark. Human polyomavirus type 1 (BK virus) agnoprotein is abundantly expressed but immunologically ignored. *Clin Vaccine Immunol* 2007;14:959–968.
 62. Khalili K, White MK, Sawa H, Nagashima K, Safak M. The agnoprotein of polyomaviruses: a multifunctional auxiliary protein. *J Cell Physiol* 2005;204:1-7.
 63. Olsen GH, Andresen PA, Hilmarsen HT, Bjorang O, Scott H, Midtvedt K ve ark. Genetic variability in BK virus regulatory regions in urine and kidney biopsies from renal-transplant patients. *J Med Virol* 2006;78:384-393.
 64. Gosert R, Rinaldo CH, Funk GA, Egli A, Ramos E, Drachenberg CB ve ark. Polyomavirus BK with rearranged noncoding control region emerge in vivo in renal transplant patients and increase viral replication and cytopathology. *J Exp Med* 2008;205:841-852.
 65. Del Vecchio AM, Steinman RA, Ricciardi RP. An element of the BK virus enhancer required for DNA replication. *J Virol* 1989;63:1514-1524.S
 66. Jin L, Gibson PE, Booth JC, Clewley JP. Genomic typing of BK virus in clinical specimens by direct sequencing of polymerase chain reaction products. *J Med Virol* 1993;41:11–17.
 67. Knowles WA. The epidemiology of BK virus and the occurrence of antigenic and genomic subtypes. İçinde Khalili K, Stoner GL, editorler. *Human Polyomaviruses: Molecular and Clinical Perspectives*. New York, USA : John Wiley & Sons; 2001. pp. 527–559.

68. Nishimoto Y, Takasaka T, Hasegawa M, Zheng HY, Chen Q, Sugimoto C, Kitamura T, Yogo Y. Evolution of BK virus based on complete genome data. *J Mol Evol* 2006;63:341-352.
69. Ikegaya H, Saukko PJ, Terti R, Metsärinne KP, Carr MJ, Crowley B ve ark. Identification of a genomic subgroup of BK polyomavirus spread in European populations. *J Gen Virol* 2006;87(Pt11):3201-3208.
70. Takasaka T, Goya N, Tokumoto T, Tanabe K, Toma H, Ogawa Y ve ark. Subtypes of BK virus prevalent in Japan and variation in their transcriptional control region. *J Gen Virol* 2004;85:2821-2827.
71. Zheng HY, Nishimoto Y, Chen Q, Hasegawa M, Zhong S, Ikegaya H ve ark. Relationships between BK virus lineages and human populations. *Microbes Infect* 2007;9:204-213.
72. Low JA, Magnuson B, Tsai B, Imperiale MJ. Identification of gangliosides GD1b and GT1b as receptors for BK virus. *J Virol* 2006;80:1361-1366.
73. Dugan AS, Eash S, Atwood WJ. Update on BK virus entry and intracellular trafficking. *Transpl Infect Dis* 2006;8:62-67.
74. Moriyama T, Marquez JP, Wakatsuki T, Sorokin A. Caveolar endocytosis is critical for BK virus infection of human renal proximal tubular epithelial cells. *J Virol* 2007;81:8552-8562.
75. Jiang M, Abend JR, Tsai B, Imperiale MJ. Early events during BK virus entry and disassembly. *J Virol* 2009;83:1350-1358.
76. Eash S, Querbes W, Atwood WJ. Infection of vero cells by BK virus is dependent on caveolae. *J Virol* 2004;78:11583-11590.
77. Eash S, Atwood WJ. Involvement of cytoskeletal components in BK virus infectious entry. *J Virol* 2005;79:11734-11741.
78. Moriyama T, Sorokin A. Intracellular trafficking pathway of BK virus in human renal proximal tubular epithelial cells. *Virology* 2008;371:336-349.
79. Schelhaas M, Malmström J, Pelkmans L, Haugstetter J, Ellgaard L, Grünwald K ve ark. Simian Virus 40 depends on ER protein folding and quality control factors for entry into host cells. *Cell* 2007;131:516-529.
80. Wink M, editör. *An Introduction to Molecular Biotechnology*. Heidelberg, Germany: John Wiley and Sons; 2006. pp.77-107.
81. Farmerie WG, Folk WR. Regulation of polyomavirus transcription by large

- tumor antigen. *Proc Natl Acad Sci* 1984;81:6919-6923.
82. Sullivan CS, Pipas JM. T antigens of simian virus 40: molecular chaperones for viral replication and tumorigenesis. *Microbiol Mol Biol Rev* 2002;66:179-202.
83. Tikhanovich I, Liang B, Seoighe C, Folk WR, Nasheuer HP. Inhibition of human BK polyomavirus replication by small noncoding RNAs. *J Virol* 2011;85:6930-6940.
84. Rinaldo CH, Traavik T, Hey A. The agnogene of the human polyomavirus BK is expressed. *J Virol* 1998;72:6233-6236.
85. Abend JR, Jiang M, Imperiale MJ. BK virus and human cancer: innocent until proven guilty. *Semin Cancer Biol* 2009;19:252-260.
86. Dugan AS, Maginnis MS, Jordan JA, Gasparovic ML, Manley K, Page R ve ark. Human alpha-defensins inhibit BK virus by aggregating virions and blocking binding to host cells. *J Biol Chem* 2008;283:31125-31132.
87. Ribeiro A, Wörnle M, Motamedi N, Anders HJ, Gröne EF, Nitschko H ve ark. Activation of innate immune defense mechanisms contributes to polyomavirus BK-associated nephropathy. *Kidney Int* 2012;81:100-111.
88. Krymskaya L, Sharma MC, Martinez J, Haq W, Huang EC, Limaye AP ve ark. Cross-reactivity of T lymphocytes recognizing a human cytotoxic T-lymphocyte epitope within BK and JC virus VP1 polypeptides. *J Virol* 2005;79:1170-1178.
89. Sharma MC, Zhou W, Martinez J, Krymskaya L, Srivastava T, Haq W ve ark. Cross-reactive CTL recognizing two HLA-A*02-restricted epitopes within the BK virus and JC virus VP1 polypeptides are frequent in immunocompetent individuals. *Virology* 2006;350:128-136.
90. Comoli P, Hirsch HH, Ginevri F. Cellular immune responses to BK virus. *Curr Opin Organ Transplant* 2008;13:569-574.
91. van Aalderen MC, Heutinck KM, Huisman C, ten Berge IJ. BK virus infection in transplant recipients: clinical manifestations, treatment options and the immune response. *Neth J Med* 2012;70:172-183.
92. Us D, Hayran M, Ustaçelebi Ş. Değişik yaş gruplarında yeni insan polyoma virusu; BK Virus hemagglütinasyon önlenim antikor düzeyleri. *Mikrobiyol Bült* 1991;25:173-177.

93. Goudsmit J, Wertheim-van Dillen P, van Strien A, van der Noordaa J. The role of BK virus in acute respiratory tract disease and the presence of BKV DNA in tonsils. *J Med Virol* 1982;10:91-99.
94. Knowles WA. Discovery and epidemiology of the human polyomaviruses BK virus (BKV) and JC virus (JCV). *Adv Exp Med Biol* 2006;577:19-45.
95. Hirsch HH, Steiger J. Polyomavirus BK. *Lancet* 2003;3:611-623.
96. Costa C, Cavallo R. Polyomavirus-associated nephropathy. *World J Transplant* 2012;2:84-94.
97. Yelken BM, Kılıçaslan I, Çalışkan Y, Görgülü N, Yazıcı H, Türkmen A ve ark. Renal transplantlı hastalarda BK virüs nefropatisi: bir merkezin deneyimi. *Turk Neph Dial Transpl* 2009;18:117-122.
98. Vera-Sempere FJ, Rubio L, Felipe-Ponce V, Garcia A, Sanahuja MJ, Zamora I ve ark. Renal donor implication in the origin of BK infection: analysis of genomic viral subtypes. *Transplant Proc* 2006;38:2378-2381.
99. Pabst D, Malyar V, Breil B, Wolters H, Suwelack B. Infected donor organs as the main source for BK viremia in kidney recipients? *Transplantation* 2012;94(10S):117.
100. Chang PCW, Hricik DE. What are immunosuppressive medications? How do they work? What are their side effects? İçinde *Kidney Transplantation: A Guide to the Care of Kidney Transplant Recipients*. McKay DB, Steinberg SM, editörler. New York, USA: Springer Science+Business media, LLC 2010. pp. 119-135.
101. Rama I, Grinyó JM. Malignancy after renal transplantation: the role of immunosuppression. *Nat Rev Nephrol* 2010;6:511-519.
102. Randhawa PS, Khaleel-Ur-Rehman K, Swalsky PA, Vats A, Scantlebury V, Shapiro R ve ark. DNA sequencing of viral capsid protein VP-1 region in patients with BK virus interstitial nephritis. *Transplantation* 2002;73:1090-1094.
103. Luo C, Hirsch HH, Kant J, Randhawa P. VP-1 quasispecies in human infection with Polyomavirus BK. *J Med Virol* 2012;84:152-161.
104. Sharma SG, Nickleit V, Herlitz LC, de Gonzalez AK, Stokes MB, Singh HK, ve ark. BK polyoma virus nephropathy in the native kidney. *Nephrol Dial Transplant* 2013;28:620-631.

105. Hirsch HH. Polyoma and Papilloma Virus Infections after Hematopoietic Cell or Solid Organ Transplantation. İçinde: Bowden RA, Ljungman P, Snyderman DR, editörler. *Transplant Infections*. 3th ed. Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2010. pp.465-482.
106. Raval M, Gulbis A, Bollard C, Leen A, Chemaly R, Shpall E ve ark. Evaluation and management of BK virus-associated nephropathy following allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011;17:1589-1593.
107. Dalianis T, Hirsch HH. BK Polyomavirus and transformation. İçinde. Robertson ES, editör. *Cancer Associated Viruses*. New York, USA, Springer Science+Business Media, LLC 2012. pp. 419-432.
108. Bouvard V, Baan RA, Grosse Y, Lauby-Secretan B, El Ghissassi F, Benbrahim-Tallaa L ve ark. Carcinogenicity of malaria and of some polyomaviruses. *Lancet Oncol* 2012;13:339-340.
109. Cubukcu-Dimopulo O, Greco A, Kumar A, Karluk D, Mittal K, Jagirdar J. BK virus infection in AIDS. *Am J Surg Pathol* 2000;24:145-149.
110. Friedman DP, Flanders AE. MR Imaging of BK virus encephalitis. *Am J Neuroradiol* 2006;27:1016-1018.
111. Behzad-Bekbahani A, Klapper PE, Vallely PJ, Cleator GM. BK virus DNA in CSF of immunocompetent and immunocompromised patients. *Arch Dis Child* 2003;88:174–175.
112. Lopes da Silva R. Polyoma BK virus: an emerging opportunistic infectious agent of the human central nervous system. *Braz J Infect Dis* 2011;15:276-284.
113. Cimbalk D, Pitelka L, Kluskens L, Gattuso P. Update on human polyomavirus BK nephropathy. *Diagn Cytopathol* 2009;37:773-779.
114. Koss LG, editör. *Koss' Diagnostic Cytology and Its Histopathologic Bases*. 5th ed. Pennsylvania, USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. pp. 738-834.
115. Chakera A, Dyar OJ, Hughes E, Bennett S, Hughes D, Roberts IS. Detection of polyomavirus BK reactivation after renal transplantation using an intensive decoy cell surveillance program is cost-effective. *Transplantation* 2011;92:1018-1023.

116. Geetha V, Rao L, Monappa V, Susmitha M, Prabhu R. Decoy cells in urine cytology: A useful clue to post-transplant polyoma virus infection. *J Cytol* 2012;29(2):133-134.
117. Egli A, Dumoulin A, Köhli S, Hirsch HH. Polyomavirus BK after kidney transplantation – role of molecular and immunologic markers. *Trends in Transplant* 2009;3:85-102.
118. Pilmore H, Manley P. *BKV polyomavirus. CARI Adaptation of KDIGO Clinical Practise Guideline for the Care of Kidney Transplant Recipients* (İnternette) 2011. Erişim 08.04.2013, http://www.cari.org.au/DNT%20workshop%202011/Ch13.1%20BKV%20POLYOMA%20VIRUS%20CARI_KDIGO%20v%2022-02-2011.pdf
119. Hirsch HH, Drachenberg CB, Steiger J, Ramos E. Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation: critical issues of screening and management. *Adv Exp Med Biol* 2006;577:160-173.
120. Trofe-Clark J, Sparkes T, Gentile C, Van Deerlin V, Sawinski D, Bloom RD. BK virus genotype variance and discordant BK viremia PCR assay results. *Am J Transplant* 2013;13:1112-1113.
121. Sar A, Worawichawong S, Benediktsson H, Zhang J, Yilmaz S, Trpkov K. Interobserver agreement for Polyomavirus nephropathy grading in renal allografts using the working proposal from the 10th Banff Conference on Allograft Pathology. *Hum Pathol* 2011;42:2018-2024.
122. Nishi S. Polyomavirus nephropathy - recent pathological diagnostic problems and the report from the 2011 Banff meeting. *Clin Transplant* 2012;26(Suppl 24):9-12.
123. Kasiske BL, Zeier MG, Craig JC, Ekberg H, Garvey CA, Green MD ve ark. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2009;9(Suppl 3):S1-155.
124. Heemann U, Abramowicz D, Spasovski G, Vanholder R. Endorsement of the Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) guidelines on kidney transplantation: a European Renal Best Practice (ERBP) position statement. *Nephrol Dial Transplant* 2011;0:1–8.

125. T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, *Organ Nakli ve Diyaliz Hizmetleri Daire Başkanlığı* (İnternette) 2013. Erişim 08.04.2013, <https://organ.saglik.gov.tr/tr/istatistikler/guncel-bekleme-listesi>
126. Astegiano S, Bergallo M, Terlizzi ME, Sidoti F, Gambarino S, Messina M ve ark. Combined measurement of serum DNA and urine VP1 messenger RNA in monitoring BK virus replication in kidney graft recipients. *Transplant Proc* 2011;43:1052-1054.
127. Schaub S, Hirsch HH, Dickenmann M, Steiger J, Mihatsch MJ, Hopfer H ve ark. Reducing immunosuppression preserves allograft function in presumptive and definitive polyomavirus-associated nephropathy. *Am J Transplant* 2010;10:2615-2623.
128. Renoult E, Coullée F, Pâquet M, St Louis G, Girardin C, Fortin MC ve ark. Evaluation of a preemptive strategy for BK Polyomavirus-associated nephropathy based on prospective monitoring of BK viremia: A kidney transplantation center experience. *Transplant Proc* 2010;42:4083-4087.
129. Leca N. Leflunomide use in renal transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 2009;14:370-374.
130. Johnston O, Jaswal D, Gill JS, Doucette S, Fergusson DA, Knoll GA. Treatment of Polyomavirus infection in kidney transplant recipients: A systematic review. *Transplantation* 2010;89:1057-1070.
131. Santos CAQ, Brennan DC. Infections in kidney transplant recipients. İçinde *Kidney Transplantation: A Guide to the Care of Kidney Transplant Recipients*. McKay DB, Steinberg SM, editörler. New York, USA: Springer Science+Business media, LLC 2010. pp. 277-309.
132. Cela-Conde CJ, Ayala FJ. *Human Evolution. Trails from the Past*. New York: Oxford University Press; 2007.
133. Stoneking M. Human origins, the molecular perspective. *EMBO Reports* 2008;9:46-50.
134. Disotell TR. Discovering human history from stomach bacteria. *Genome Biol* 2003;4:213.
135. Erek CM. Antakya'da paleolitik çağ araştırmaları tarihi. *Tarih İncelemeleri Dergisi*. 2008;13:75-108.

136. Dinçer H, Güleç E, Kuhn S, Stiner M. 1999 yılı Üçağızlı Mağarası Kazısı. İçinde Olşen K, Bayram F, Dönmez H, Ataş K, Güder N, Toy N, editörler. *T.C. Kültür Bakanlığı Anıtlar ve Müzeler Genel Müdürlüğü. 22. Kazı Sonuçları Toplantısı*. Ankara: T.C. Kültür Bakanlığı Yayınları, 2001. pp. 1-8.
137. Yalçinkaya I, Taşkiran H, Kartal M, Özçelik K, Kösem MB. 2010 Yılı Karain Mağarası Kazıları. Dönmez H, Ötgün Ö, editörler. *T.C. Kültür Bakanlığı Anıtlar ve Müzeler Genel Müdürlüğü. 33. Kazı Sonuçları Toplantısı 2. Cilt*. Ankara: T.C. Kültür Bakanlığı Yayınları, 2012. pp. 373-392.
138. Dinçer B, Slimak L. Trakya'nın Paleolitik Çağ Kültürleri. *Arkeoloji ve Sanat* 2007;124:1-12.
139. Wirth T, Meyer A, Achtman M. Deciphering host migrations and origins by means of their microbes. *Mol Ecol* 2005;14:3289-3306.
140. Gilabert A, Wirth T. Elucidating human migrations by means of their pathogens. İçinde: *Genetics and Evolution of Infectious Diseases*. Tibayrenc M, editör. London, UK. 2011. pp. 173-202.
141. Krumbholz A, Bininda-Emonds OR, Wutzler P, Zell R. Phylogenetics, evolution, and medical importance of polyomaviruses. *Infect Genet Evol* 2009;9:784-799.
142. Mishmar D, Ruiz-Pesini E, Golik P, Macaulay V, Clark AG, Hosseini S, Brandon M, Easley K, Chen E, Brown MD, Sukernik RI, Olckers A, Wallace DC. Natural selection shaped regional mtDNA variation in humans. *Proc Natl Acad Sci* 2003;100:171-176.
143. Nishimoto Y, Zheng HY, Zhong S, Ikegaya H, Chen Q, Sugimoto C, Kitamura T, Yogo Y. An Asian origin for subtype IV BK virus based on phylogenetic analysis. *J Mol Evol* 2007;65:103-111.
144. Nukuzuma S, Takasaka T, Zheng HY, Zhong S, Chen Q, Kitamura T ve ark. Subtype I BK polyomavirus strains grow more efficiently in human renal epithelial cells than subtype IV strains. *J Gen Virol* 2006;87:1893-1901.

145. Tremolada S, Delbue S, Larocca S, Carloni C, Elia F, Khalili K ve ark. Polymorphisms of the BK virus subtypes and their influence on viral *in vitro* growth efficiency. *Virus Res* 2010;149:190-196.
146. Roche Diagnostics. *High Pure Viral Nucleic Acid Kit* (İnternette) 2013. Erişim 08.04.2013, https://www.roche-applied-science.com/PROD_INF/index.jsp?id=iforu&iforu_page=search&catalogNumber=11858874001&instruction_version=Version+15
147. TIB Molbiol. *LightMix for the detection of Polyomaviruses JC and BK* (İnternette) 2013. Erişim 08.04.2013, <http://www.tib-molbiol.de/diagnostic-kits/products/polyoma-jc-bk-ic.html>
148. Roche Diagnostics. *LightCycler FastStart DNA Master HybProbe* (İnternette) 2013. 08.04.2013, <http://www.roche-applied-science.com/shop/products/lightcycler-faststart-dna-master-hybprobe>
149. Roche Diagnostics. *FastStart Taq DNA Polymerase, dNTPack* (İnternette) 2013. Erişim 08.04.2013, https://www.roche-applied-science.com/PROD_INF/index.jsp?id=iforu&iforu_page=search&catalogNumber=04738381001
150. Thermo Scientific. *GeneRuler 50 bp DNA Ladder, ready-to-use* (İnternette) 2013. Erişim 08.04.2013, <http://www.thermoscientificbio.com/nucleic-acid-electrophoresis/generuler-50-bp-dna-ladder-ready-to-use/>
151. Carestream Molecular Imaging. *Gel Logic 212 PRO* (İnternette) 2013. Erişim 08.04.2013, <http://www.carestream.com/PublicContent.aspx?langType=1033&id=442036>
152. Roche Diagnostics. *High Pure PCR Pruduct Purification Kit* (İnternette) 2013. Erişim 08.04.2013, <http://www.roche-applied-science.com/shop/products/high-pure-pcr-product-purification-kit>
153. Applied Biosystems. *BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit* (İnternette) 2013. Erişim 08.04.2013, <http://products.invitrogen.com/ivgn/product/4337455>
154. BioEdit. (İnternette) 2013. Erişim 08.04.2013, <http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html>

155. Luo C, Bueno M, Kant J, Martinson J, Randhawa P. Genotyping schemes for polyomavirus BK, using gene-specific phylogenetic trees and single nucleotide polymorphism analysis. *J Virol* 2009;83:2285-2297.
156. Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res* 1994;22: 4673-4680.
157. Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 1987;4:406-425.
158. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 1985;39:783-791.
159. Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evol* 1980;16:111-120.
160. Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol Biol Evol* 2011;28: 2731-2739.
161. Tremolada S, Delbue S, Castagnoli L, Allegrini S, Miglio U, Boldorini R et al. Mutations in the external loops of BK virus VP1 and urine viral load in renal transplant recipients. *J Cell Physiol* 2010;222:195-199.
162. Sharma PM, Gupta G, Vats A, Shapiro R, Randhawa P. Phylogenetic analysis of polyomavirus BK sequences. *J Virol* 2006;80:8869-8879.
163. Krumbholz A, Bininda-Emonds OR, Wutzler P, Zell R. Evolution of four BK virus subtypes. *Infect Genet Evol* 2008;8:632-643.
164. Rice P, Longden I, Bleasby A. EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite. *Trends Genet* 2000;16:276-277.
165. UniProt Consortium. *Major capsid protein VP1* (İnternette). 2013. Erişim 08.04.2013, <http://www.uniprot.org/uniprot/P03088>
166. Krautkramer E, Klein TM, Sommerer C, Schnitzler P, Zeier M. Mutations in the BC-loop of the BKV VP1 region do not influence viral load in renal transplant patients. *J Med Virol* 2009;81:75-81.

167. Leigh G.J, editör. *Principles of Chemical Nomenclature: A Guide to IUPAC Recommendations*. Cornwall, UK: Blackwell Science Ltd; 1998.
168. Hickey GI, Fletcher HL, Winter P. *Genetics (BIOS instant notes)* 3. ed. New York, USA: Taylor & Francis Group; 2007.
169. Chen F, Kong LI, Chen J, Jannatipour M. *Methods and compositions for detecting BK virus*. (İnternette) 2011, Erişim 08.04.2013, <http://www.faqs.org/patents/app/20110143349>
170. Freund R, Garcea RL, Sahli R, Benjamin TL. A single-amino-acid substitution in polyomavirus VP1 correlates with plaque size and hemagglutination behavior. *J Virol* 1991;65:350-355.
171. Takasaka T, Goya N, Ishida H, Tanabe K, Toma H, Fujioka T ve ark. Stability of the BK polyomavirus genome in renal-transplant patients without nephropathy. *J Gen Virol* 2006;87:303-306.
172. Darwin C. *The descent of man and selection in relation to sex*. London: John Murray Vol. I: 1871. pp. 219-220.
173. Reed DL, Smith VS, Hammond SL, Rogers AR, Clayton DH. Genetic analysis of lice supports direct contact between modern and archaic humans. *PLoS Biol* 2004;2:1972-1983.
174. Chen Q, Zheng HY, Zhong S, Ikegaya H, He HX, Wei W ve ark. Subtype IV of the BK polyomavirus is prevalent in East Asia. *Arch Virol* 2006;151:2419-2429.
175. Pérez-Losada M, Christensen RG, McClellan DA, Adams BJ, Viscidi RP, Demma JC ve ark. Comparing phylogenetic codivergence between polyomaviruses and their hosts. *J Virol* 2006;80:5663-5669.
176. Carr MJ, McCormack GP, Mutton KJ, Crowley B. Unique BK virus non-coding control region (NCCR) variants in hematopoietic stem cell transplant recipients with and without hemorrhagic cystitis. *J Med Virol* 2006;78:485-493.
177. Motazakker M, Bagheri M, Imani M. Subtyping of BK Virus in Iranian Turkish renal transplant recipients by RFLP-PCR. *Maedica (Buchar)* 2012;7:10-13.

178. Slavov S, Tsekov I, Kalvatchev Z. Sequence variations of the VP1 gene of Polyomavirus hominis 1 among Bulgarians. *J Med Virol* 2010;82:325-330.
179. Momynaliev KT, Gorbatenko EV, Shevtsov AB, Gribanov OG, Babenko NN, Kaabak MM. Prevalence and subtypes of BK virus in pediatric renal transplant recipients in Russia. *Pediatr Transplantation* 2012;16:151–159.
180. Boukoum H, Nahdi I, Foulongne V, Zallema D, Aloui S, Achour A ve ark. Distribution of BK polyomavirus genotypes in Tunisian renal transplant recipients. *J Med Virol* 2011;83:725–730.
181. Zalona AC, Lopes GS, Schrago CG, Gonçalves RT, Zalis MG, Varella RB. Molecular characterization of BK polyomavirus subtypes in renal transplant recipients in Brazil. *J Med Virol* 2011;83:1401-1405.
182. Espy MJ, Uhl JR, Sloan LM, Buckwalter SP, Jones MF, Vetter EA ve ark. Real-time PCR in clinical microbiology: applications for routine laboratory testing. *Clin Microbiol Rev* 2006;19:165–256.
183. Funk GA, Gosert R, Comoli P, Ginevri F, Hirsch HH. Polyomavirus BK replication dynamics in vivo and in silico to predict cytopathology and viral clearance in kidney transplants. *Am J Transplant* 2008;8:2368-2377.

HAM VERİLER

BKPyV Suşlarının Gen Bankasındaki Dizilerle Karşılaştırılması Ve Dizilerde Saptanan Bildirimi Yapılmamış Mutasyonların Analizi

TRY-1*,2,3,4,5,7,11,13,14,18,20,22,24,27,32,33,35,38,41,42,45,47,49,51,52,53,54,57,58,60, 61,62, 63,64,66,70,71,73,74,76,77,79,83,85,92,93 (BKPyV Ib-2)

NCBI GenBank AB211370 suşu ile dizi benzerlik oranı = %100

TRY-1* ve AB211370 suşlarının nükleotid dizilerinin karşılaştırılması:

Download GenBank Graphics

BK polyomavirus DNA, complete genome, isolate: JL
Sequence ID: [djl|AB211370.1](#) Length: 5102 Number of Matches: 1

Range 1: 1500 to 1797 GenBank Graphics

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
551 bits(298)	1e-153	298/298(100%)	0/298(0%)	Plus/Plus
Query 1	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAACCTGGGCTAGATGCTATAACAGAGGTAGAATGCTTCCT	60		
Sbjct 1500	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAACCTGGGCTAGATGCTATAACAGAGGTAGAATGCTTCCT	1559		
Query 61	AAACCCAGAAATGGGGATCCAGATGAAAACTTAGGGCTTTAGTCTAAAAGCTAAGTGC	120		
Sbjct 1560	AAACCCAGAAATGGGGATCCAGATGAAAACTTAGGGCTTTAGTCTAAAAGCTAAGTGC	1619		
Query 121	TGAAAATGACTTTAGCAGTGTAGCCAGAAAAGAAAATGCTTCCCTGTTACAGCACAGC	180		
Sbjct 1620	TGAAAATGACTTTAGCAGTGTAGCCAGAAAAGAAAATGCTTCCCTGTTACAGCACAGC	1679		
Query 181	AAGAATCCCTCCCAATTTAAATGAGGACCTAACCTGTGAAATCTACTGATGTGGGA	240		
Sbjct 1680	AAGAATCCCTCCCAATTTAAATGAGGACCTAACCTGTGAAATCTACTGATGTGGGA	1739		
Query 241	GGCTGTACAGTACAAACAGAGTCAATGGAAATACTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	298		
Sbjct 1740	GGCTGTACAGTACAAACAGAGTCAATGGAAATACTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	1797		

TRY-6*,17,29,37,67,80 (BKPyV IVc-2)

NCBI GenBank AB269630 suşu ile dizi benzerlik oranı = %99

a) TRY-6* ve AB269630 suşlarının nükleotid dizilerinin karşılaştırılması:

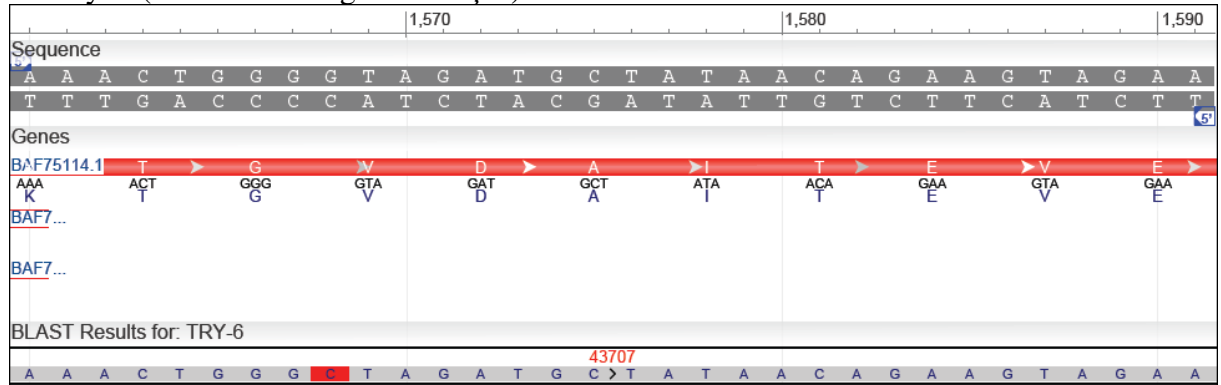
Download GenBank Graphics

BK polyomavirus DNA, complete genome, strain: GRC-4
Sequence ID: [djl|AB269630.1](#) Length: 5146 Number of Matches: 1

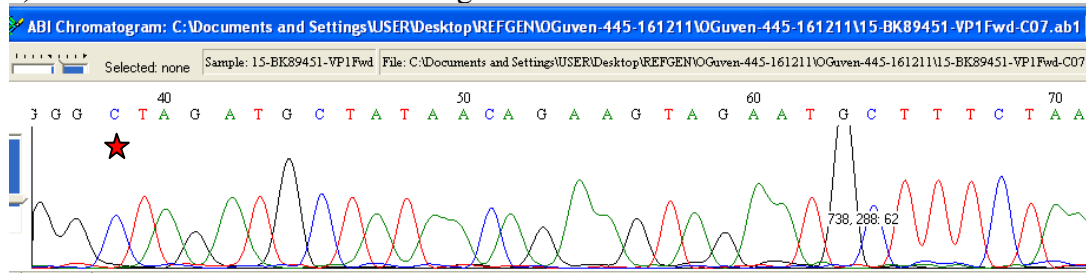
Range 1: 1540 to 1837 GenBank Graphics

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
545 bits(295)	6e-152	297/298(99%)	0/298(0%)	Plus/Plus
Query 1	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAACCTGGGCTAGATGCTATAACAGAAAGTAGAATGCTTTCT	60		
Sbjct 1540	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAACCTGGGCTAGATGCTATAACAGAAAGTAGAATGCTTTCT	1599		
Query 61	AAATCCAGAAATGGGGATCCAGATAATGACCTTAGGGCTATAGTCTAAGACTAACTGC	120		
Sbjct 1600	AAATCCAGAAATGGGGATCCAGATAATGACCTTAGGGCTATAGTCTAAGACTAACTGC	1659		
Query 121	TGAAACTGCCTTTGAGAGTGTAGCCAGACAGAAAATGCTTCCCTGTTACAGCACAGC	180		
Sbjct 1660	TGAAACTGCCTTTGAGAGTGTAGCCAGACAGAAAATGCTTCCCTGTTACAGCACAGC	1719		
Query 181	AAGAATCCCACTACCTAATTTGAATGAGGATCTAACCTGTGAAATCTACTAATGTGGGA	240		
Sbjct 1720	AAGAATCCCACTACCTAATTTGAATGAGGATCTAACCTGTGAAATCTACTAATGTGGGA	1779		
Query 241	GGCTGTGACTGTAAAAACAGAGTATTGGAAATACTAGTATGCTTAACCTTCATGCA	298		
Sbjct 1780	GGCTGTGACTGTAAAAACAGAGTATTGGAAATACTAGTATGCTTAACCTTCATGCA	1837		

b) AB269630 suşunun nükleotid ve aminoasit dizileri ile TRY-6* dizisinde saptanan mutasyon (kırmızı renkle gösterilmiştir):



c) TRY-6 DNA Dizileme Kromatogramı:



★ Mutasyonun saptandığı nükleotid

d) Mutasyon Analizi:

Nükleotid pozisyonu	Nükleotid değişimi	Kodon değişimi	Mutasyon Türü	Aminoasit pozisyonu	Aminoasit değişimi
1687	G→C	GTA→CTA	Yanlış anlamlı mutasyon	42	V→L

TRY-8 (BKPyV Ib-2)

NCBI GenBank AB263936 suşu ile dizi benzerlik oranı = %99

a) TRY-8 ve AB263936 suşlarının nükleotid dizilerinin karşılaştırılması:

Download GenBank Graphics

BK polyomavirus DNA, complete genome, isolate: TUR-5
Sequence ID: [gb|AB263936.1](#) Length: 5142 Number of Matches: 1

Range 1: 1539 to 1836 GenBank Graphics Next Match Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
540 bits(292)	3e-150	296/298(99%)	0/298(0%)	Plus/Plus

Query 1 AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAACCTGGGCTAGATGCTATAACAGAGGTAGAATGCTTCCT 60
Sbjct 1539 AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAACCTGGGCTAGATGCTATAACAGAGGTAGAATGCTTCCT 1598

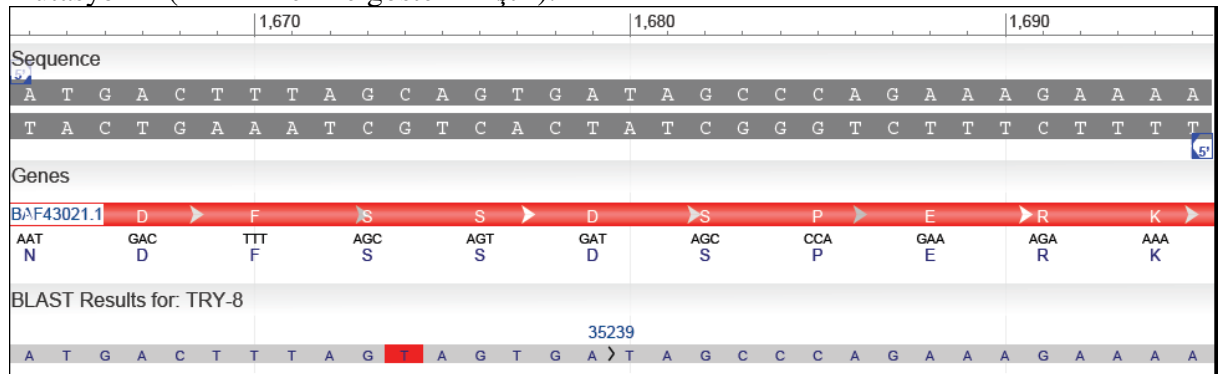
Query 61 AAACCCAGAAAATGGGGATCCAGATGAAAACCTTAGGGCTTTAGTCTAAAAGCTAAAGTGC 120
Sbjct 1599 AAACCCAGAAAATGGGGATCCAGATGAAAACCTTAGGGCTTTAGTCTAAAAGCTAAAGTGC 1658

Query 121 TGAAAATGACTTTAGTACTGATAGCCAGAAAAGAAAATGCTTCCCTGTTACAGCACAGC 180
Sbjct 1659 TGAAAATGACTTTAGTACTGATAGCCAGAAAAGAAAATGCTTCCCTGTTACAGCACAGC 1718

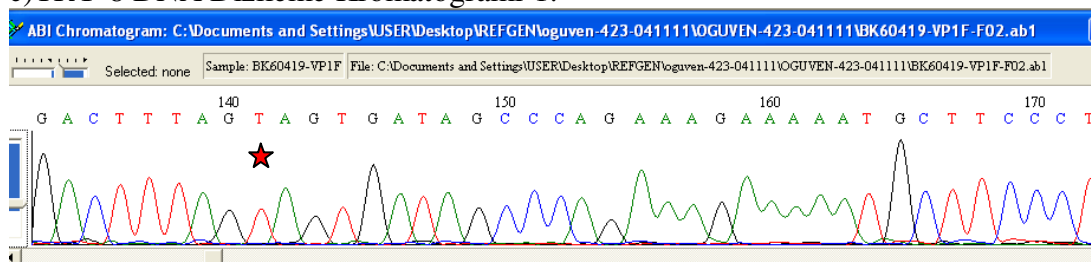
Query 181 AAGAATCCCTCCCAATTTAAATGAGGACCTAACCTGTGAAATCTACTAATGTGGGA 240
Sbjct 1719 AAGAATCCCTCCCAATTTAAATGAGGACCTAACCTGTGAAATCTACTAATGTGGGA 1778

Query 241 GGCTGTAACAGTACAAACAGAGGTCATTGGAAATAAGCATGCTTAACCTTCATGCA 298
Sbjct 1779 GGCTGTAACAGTACAAACAGAGGTCATTGGAAATAAGCATGCTTAACCTTCATGCA 1836

b) AB263936 suşunun nükleotid ve aminoasit dizileri ile TRY-8 dizisinde saptanan mutasyon-1 (kırmızı renkle gösterilmiştir):

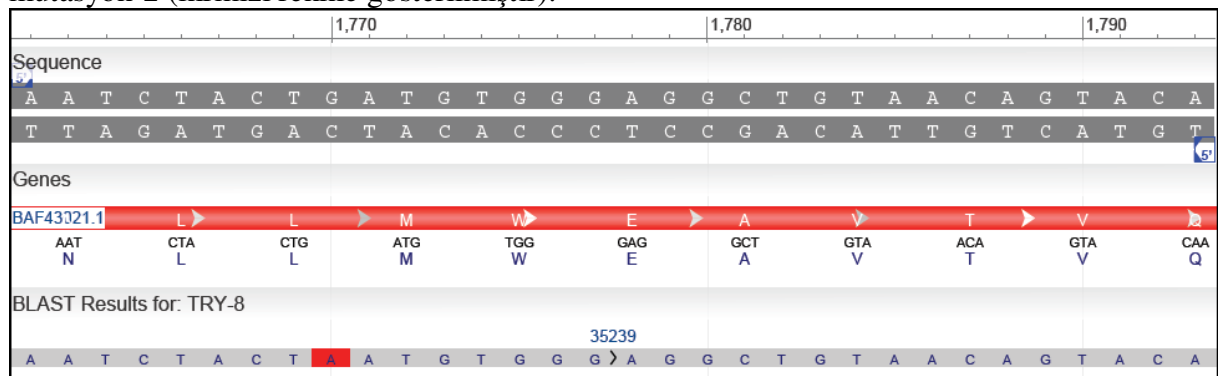


c) TRY-8 DNA Dizileme Kromatogramı-1:

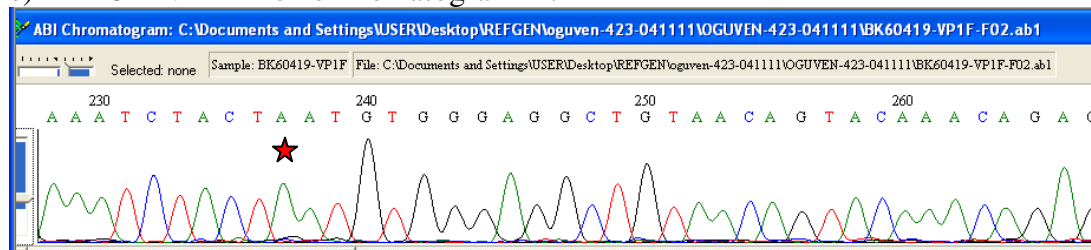


★ Mutasyonun saptandığı nükleotid

d) AB263936 suşunun nükleotid ve aminoasit dizileri ile TRY-8 dizisinde saptanan mutasyon-2 (kırmızı renkle gösterilmiştir):



e) TRY-8 DNA Dizileme Kromatogramı-2:



★ Mutasyonun saptandığı nükleotid

f) Mutasyon Analizi:

Nükleotid pozisyonu	Nükleotid değişimi	Kodon değişimi	Mutasyon türü	Aminoasit pozisyonu	Aminoasit değişimi
1794	C→T	AGC→AGT	Sessiz mutasyon	77	S
1890	G→A	CTG→CTA	Sessiz mutasyon	109	L

TRY-9*,28,39,55,75,88,90 (BLPyV Ib-1)

NCBI GenBank AB211369 suşu ile dizi benzerlik oranı = %100

TRY-9* ve AB211369 suşlarının nükleotid dizilerinin karşılaştırılması:

Download GenBank Graphics

BK polyomavirus DNA, complete genome, isolate: Dik
Sequence ID: [gb|AB211369.1](#) Length: 5141 Number of Matches: 1

Range 1: 1539 to 1836 GenBank Graphics

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
551 bits(298)	1e-153	298/298(100%)	0/298(0%)	Plus/Plus

Query	1	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAACCTGGGGTAGATGCTATAACAGAGGTAGAATGCTTCCT	60
Sbjct	1539	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAACCTGGGGTAGATGCTATAACAGAGGTAGAATGCTTCCT	1598
Query	61	AAACCCAGAAATGGGGGATCCAGATGAAAACCTTAGGGGCTTTAGTCTAAAAGCTAAAGTGC	120
Sbjct	1599	AAACCCAGAAATGGGGGATCCAGATGAAAACCTTAGGGGCTTTAGTCTAAAAGCTAAAGTGC	1658
Query	121	TGAAAATGACTTTAGCAGTGTATAGCCCGAAGAAAAATGCTTCCCTGTACAGCACAGC	180
Sbjct	1659	TGAAAATGACTTTAGCAGTGTATAGCCCGAAGAAAAATGCTTCCCTGTACAGCACAGC	1718
Query	181	AAGAATTCCTCCCAATTTAAATGAGGACCTAACCTGTGAAATCTACTGATGTGGGA	240
Sbjct	1719	AAGAATTCCTCCCAATTTAAATGAGGACCTAACCTGTGAAATCTACTGATGTGGGA	1778
Query	241	GGCTGTAACCTGTACAAACAGAGGTCATTGGAATAACTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	298
Sbjct	1779	GGCTGTAACCTGTACAAACAGAGGTCATTGGAATAACTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	1836

TRY-10*,19,31,43,50,56,65,69 (II)

NCBI GenBank JX195559 suşu ile dizi benzerlik oranı = %100

TRY-10* ve JX195559 suşlarının nükleotid dizilerinin karşılaştırılması:

Download GenBank Graphics

BK polyomavirus isolate VP1M3 major capsid protein (VP1) gene, complete cds
Sequence ID: [gb|JX195559.1](#) Length: 1089 Number of Matches: 1

Range 1: 96 to 393 GenBank Graphics

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
551 bits(298)	1e-153	298/298(100%)	0/298(0%)	Plus/Plus

Query	1	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAACCTGGGGTAGATGCTATAACAGAGGTAGAATGCTTTCT	60
Sbjct	96	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAACCTGGGGTAGATGCTATAACAGAGGTAGAATGCTTTCT	155
Query	61	AAACCCAGAAATGGGGGATCCAGATGATAACCTTAGGGGCTATAGTCTAAAAGCTAACTGC	120
Sbjct	156	AAACCCAGAAATGGGGGATCCAGATGATAACCTTAGGGGCTATAGTCTAAAAGCTAACTGC	215
Query	121	TGAAAATGCTTTGACAGTGTATAGCCCGACAGCAAGGCTTCTTCTTTACAGCACAGC	180
Sbjct	216	TGAAAATGCTTTGACAGTGTATAGCCCGACAGCAAGGCTTCTTCTTTACAGCACAGC	275
Query	181	AAGAATTCCTCCCAATTTAAATGAGGACCTAACCTGTGAAATCTACTAATGTGGGA	240
Sbjct	276	AAGAATTCCTCCCAATTTAAATGAGGACCTAACCTGTGAAATCTACTAATGTGGGA	335
Query	241	GGCTGTAACCTGTAAAAACAGAGGTTATTGGAATAACTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	298
Sbjct	336	GGCTGTAACCTGTAAAAACAGAGGTTATTGGAATAACTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	393

TRY-12 (BKPyV Ib-2)

NCBI GenBank JX195576 suşu ile dizi benzerlik oranı = %99

a) TRY-12 ve JX195576 suşlarının nükleotid dizilerinin karşılaştırılması:

Download GenBank Graphics

BK poliovirus isolate VP1M20 major capsid protein (VP1) gene, complete cds
Sequence ID: [gb|JX195576.1](#) Length: 1089 Number of Matches: 1

Range 1: 96 to 393 GenBank Graphics Next Match Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
545 bits(295)	6e-152	297/298(99%)	0/298(0%)	Plus/Plus

Query 1 ACTAGAACTTCTAGAACTTAAACTGGGCTAGATGCTATAACAGAGGTAGAATGCTTCCT 60
Sbjct 96 ACTAGAACTTCTAGAACTTAAACTGGGCTAGATGCTATAACAGAGGTAGAATGCTTCCT 155

Query 61 AAACCCAGAAATGGGGATCCAGATGAAAACCTTAGGGGCTTTAGTCTAAAGCTAAGTGC 120
Sbjct 156 AAACCCAGAAATGGGGATCCAGATGAAAACCTTAGGGGCTTTAGTCTAAAGCTAAGTGC 215

Query 121 TGAAAATGACTTTAGCAGTGATAGCCCAAGAAAAATGCTTCCTGTTACAGCACAGC 180
Sbjct 216 TGAAAATGACTTTAGCAGTGATAGCCCAAGAAAAATGCTTCCTGTTACAGCACAGC 275

Query 181 AAGAATCCCTCCCAATTTAAATGAGGACCTAACCTGTGAAATCTACTGATGTGGGA 240
Sbjct 276 AAGAATCCCTCCCAATTTAAATGAGGACCTAACCTGTGAAATCTACTGATGTGGGA 335

Query 241 GGCTGTAACAGTACAAACAGAGGTCATTGGAATAACTAGCATGCTTAACCTTCATGCA 298
Sbjct 336 GGCTGTAACAGTACAAACAGAGGTCATTGGAATAACTAGCATGCTTAACCTTCATGCA 393

b) JX195576 suşunun nükleotid ve aminoasit dizileri ile TRY-12 dizisinde saptanan mutasyon (kırmızı renkle gösterilmiştir):

Sequence

A G T G A T A G C C C A G A A A G A A A A A T G C T T C C C T G
T C A C T A T C G G G T C T T T C T T T T A C G A A G G G A C

Genes

AFQ31654.1

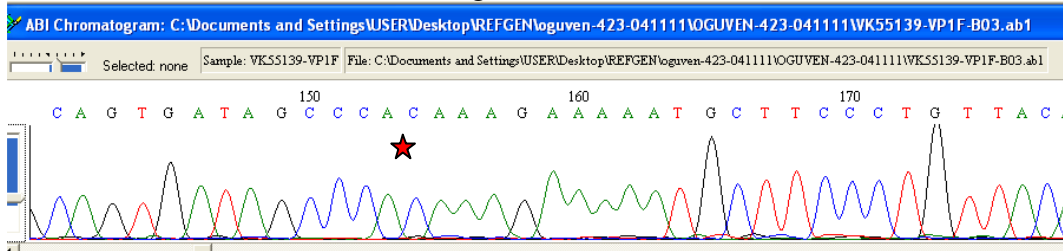
S D S P E R K M L P E
AGT S GAT D AGC S CCA P GAA E AGA R AAA K ATG M CTT L CCC P TGT C

BLAST Results for: TRY-12

42827

A G T G A T A G C C C A C A A A G A A A A A T G C T T C C C T G

c) TRY-12 DNA Dizileme Kromatogramı:



★ Mutasyonun saptandığı nükleotid

d) Mutasyon Analizi:

Nükleotid pozisyonu	Nükleotid değişimi	Kodon değişimi	Mutasyon türü	Aminoasit pozisyonu	Aminoasit değişimi
1807	G→C	GAA→CAA	Yanlış anlamlı mutasyon	82	E→Q

TRY-15*,23,86 (BKPyV IVc-2)

NCBI GenBank AB269830 suşu ile dizi benzerlik oranı = %100

TRY-15 ve AB269830 suşlarının nükleotid dizilerinin karşılaştırılması:

Download GenBank Graphics

BK polyomavirus DNA, complete genome, strain: GRC-4
Sequence ID: [d|j|AB269830.1](#) Length: 5146 Number of Matches: 1

Range 1: 1540 to 1837 GenBank Graphics

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
551 bits(298)	1e-153	298/298(100%)	0/298(0%)	Plus/Plus

```

Query 1      AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAACTGGGGTAGATGCTATAACAGAAAGTAGAATGCTTTCT 60
Sbjct 1540   AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAACTGGGGTAGATGCTATAACAGAAAGTAGAATGCTTTCT 1599

Query 61     AAATCCAGAAATGGGGGATCCAGATAATGACCTTAGGGGCTATAGTCTAAGACTAACTGC 120
Sbjct 1600   AAATCCAGAAATGGGGGATCCAGATAATGACCTTAGGGGCTATAGTCTAAGACTAACTGC 1659

Query 121    TGAAACTGCCCTTTGACAGTGATAGCCACAGAAAAATGCTTCCCTGTTACAGCACAGC 180
Sbjct 1660   TGAAACTGCCCTTTGACAGTGATAGCCACAGAAAAATGCTTCCCTGTTACAGCACAGC 1719

Query 181    AAGAATCCACTACCTAATTTGAATGAGGATCTAACCTGTGGAATCTACTAATGTGGGA 240
Sbjct 1720   AAGAATCCACTACCTAATTTGAATGAGGATCTAACCTGTGGAATCTACTAATGTGGGA 1779

Query 241    GGCTGTGACTGTAAAAACAGAGGTTATTGGAATAACTAGTATGCTTAACCTTCATGCA 298
Sbjct 1780   GGCTGTGACTGTAAAAACAGAGGTTATTGGAATAACTAGTATGCTTAACCTTCATGCA 1837

```

TRY-16*,21,34,40,59,68,82,94 (BKPyV IVc-2)

NCBI GenBank AB269833 suşu ile dizi benzerlik oranı = %100

TRY-16* ve AB269833 suşlarının nükleotid dizilerinin karşılaştırılması:

Download GenBank Graphics

BK polyomavirus DNA, complete genome, strain: ITA-4
Sequence ID: [d|j|AB269833.1](#) Length: 5146 Number of Matches: 1

Range 1: 1540 to 1837 GenBank Graphics

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
551 bits(298)	1e-153	298/298(100%)	0/298(0%)	Plus/Plus

```

Query 1      AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAACTGGGGTAGATGCTATAACAGAAAGTAGAATGCTTTCT 60
Sbjct 1540   AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAACTGGGGTAGATGCTATAACAGAAAGTAGAATGCTTTCT 1599

Query 61     AAATCCAGAAATGGGGGATCCAGATAATGACCTTAGGGGCTATAGTCTAAGACTAACTGC 120
Sbjct 1600   AAATCCAGAAATGGGGGATCCAGATAATGACCTTAGGGGCTATAGTCTAAGACTAACTGC 1659

Query 121    TGAAACTGCCCTTTGACAGTGATAGCCACAGAAAAATGCTTCCCTGTTACAGCACAGC 180
Sbjct 1660   TGAAACTGCCCTTTGACAGTGATAGCCACAGAAAAATGCTTCCCTGTTACAGCACAGC 1719

Query 181    AAGAATCCACTACCTAATTTGAATGAGGATCTAACCTGTGGAATCTACTAATGTGGGA 240
Sbjct 1720   AAGAATCCACTACCTAATTTGAATGAGGATCTAACCTGTGGAATCTACTAATGTGGGA 1779

Query 241    GGCTGTGACTGTAAAAACAGAGGTTATTGGAATAACTAGTATGCTTAACCTTCATGCA 298
Sbjct 1780   GGCTGTGACTGTAAAAACAGAGGTTATTGGAATAACTAGTATGCTTAACCTTCATGCA 1837

```

TRY-25*,44,91 (BKPyV Ib-2)

NCBI GenBank AB263936 suşu ile dizi benzerlik oranı = %99

a) TRY-25* ve AB263936 suşlarının nükleotid dizilerinin karşılaştırılması:

Download GenBank Graphics

BK polyomavirus DNA, complete genome, isolate: TUR-5
Sequence ID: [dbj|AB263936.1](#) Length: 5142 Number of Matches: 1

Range 1: 1539 to 1836 GenBank Graphics

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
545 bits(295)	6e-152	297/298(99%)	0/298(0%)	Plus/Plus

Query 1 AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAACCTGGGCTAGATGCTATAACAGAGGTAGAATGCTTCCT 60
Sbjct 1539 AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAACCTGGGCTAGATGCTATAACAGAGGTAGAATGCTTCCT 1598

Query 61 AAACCCAGAAATGGGGATCCAGATGAAAACCTTAGGGCTTTACTCTAAAGCTAAGTGC 120
Sbjct 1599 AAACCCAGAAATGGGGATCCAGATGAAAACCTTAGGGCTTTACTCTAAAGCTAAGTGC 1658

Query 121 TGAAAATGACTTTAGCAGTGATAGCCAGAAAAGAAAATGCTTCCCTGTTACAGCACAGC 180
Sbjct 1659 TGAAAATGACTTTAGCAGTGATAGCCAGAAAAGAAAATGCTTCCCTGTTACAGCACAGC 1718

Query 181 AAGAATTCCTCCCAATTTAAATGAGGACCTAACCTGTGAAAATCTACTAATGTGGGA 240
Sbjct 1719 AAGAATTCCTCCCAATTTAAATGAGGACCTAACCTGTGAAAATCTACTAATGTGGGA 1778

Query 241 GGCTGTAACAGTACAAACAGAGGTCATTGGAATAACTAGCATGCTTAACCTTCATGCA 298
Sbjct 1779 GGCTGTAACAGTACAAACAGAGGTCATTGGAATAACTAGCATGCTTAACCTTCATGCA 1836

b) AB263936 suşunun nükleotid ve aminoasit dizileri ile TRY-25* dizisinde saptanan mutasyon (kırmızı renkle gösterilmiştir):

Sequence

G A A A T C T A C T G A T G T G G G A G G C T G T A A C A G T A
C T T T A G A T G A C T A C A C C C T C C G A C A T T G T C A T

Genes

BAF43021.1 N L L M W E A V T V

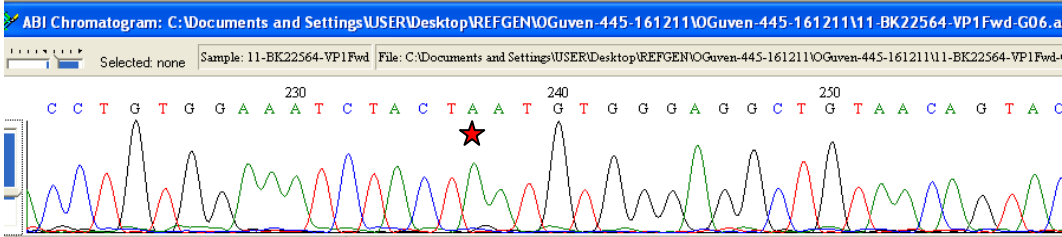
GGA AAT CTA CTG ATG TGG GAG GCT GTA ACA GTA
G N L M W E A V T V

BLAST Results for: TRY-25

30863

G A A A T C T A C T A A T G T G G G A G G C T G T A A C A G T A

c) TRY-25 DNA Dizileme Kromatogramı:



★ Mutasyonun saptandığı nükleotid

d) Mutasyon Analizi:

Nükleotid pozisyonu	Nükleotid değişimi	Kodon değişimi	Mutasyon türü	Aminoasit pozisyonu	Aminoasit değişimi
1890	G→A	CTG→CTA	Sessiz mutasyon	109	L

TRY-26*,30,36,81 (BKPyV Ib-2)

NCBI GenBank JN794024 suşu ile dizi benzerlik oranı = %100

TRY-26* ve JN794024 suşlarının nükleotid dizilerinin karşılaştırılması:

Download GenBank Graphics

BK polyomavirus isolate KT9 major protein capsid (VP1) gene, complete cds
Sequence ID: [gb|JN794024.1](#) Length: 1089 Number of Matches: 1

Range 1: 96 to 393 GenBank Graphics Next Match Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
551 bits(298)	1e-153	298/298(100%)	0/298(0%)	Plus/Plus
Query 1	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAACCTGGGCTAGATGCTATAACAGAGGTAGAATGCTTCCT	60		
Sbjct 96	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAACCTGGGCTAGATGCTATAACAGAGGTAGAATGCTTCCT	155		
Query 61	AAACCCAGAAATGGGGATCCAGATGAAAACCTTAGGGCTTTAGTCTAAAGCTAAGTGC	120		
Sbjct 156	AAACCCAGAAATGGGGATCCAGATGAAAACCTTAGGGCTTTAGTCTAAAGCTAAGTGC	215		
Query 121	TGAAAATGACTTTAGCAGTGATAGCCAGACAGAAAAATGCTTCCCTGTTACAGCACAGC	180		
Sbjct 216	TGAAAATGACTTTAGCAGTGATAGCCAGACAGAAAAATGCTTCCCTGTTACAGCACAGC	275		
Query 181	AAGAATTCCTCCCAATTTAAATGAGGACCTAACCTGTGAAATCTACTGATGTGGGA	240		
Sbjct 276	AAGAATTCCTCCCAATTTAAATGAGGACCTAACCTGTGAAATCTACTGATGTGGGA	335		
Query 241	GGCTGTAAACAGTACAAACAGAGGTCATTGGAATAACTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	298		
Sbjct 336	GGCTGTAAACAGTACAAACAGAGGTCATTGGAATAACTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	393		

TRY-46 (BKPyV Ib-2)

NCBI GenBank AB263936 suşu ile dizi benzerlik oranı = %99

a) TRY-46 ve AB263936 suşlarının nükleotid dizilerinin karşılaştırılması:

Download GenBank Graphics

BK polyomavirus DNA, complete genome, isolate: TUR-5
Sequence ID: [gb|AB263936.1](#) Length: 5142 Number of Matches: 1

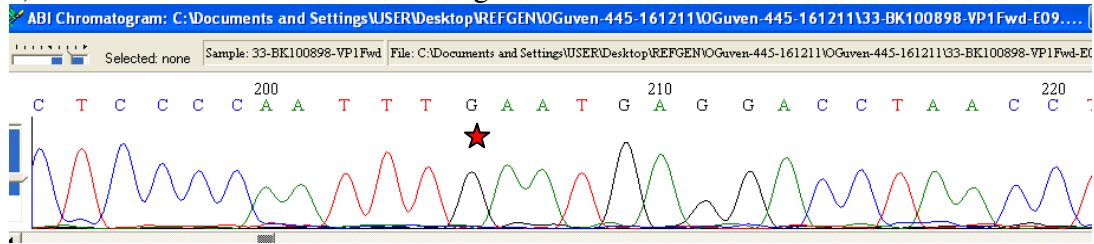
Range 1: 1539 to 1836 GenBank Graphics Next Match Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
545 bits(295)	6e-152	297/298(99%)	0/298(0%)	Plus/Plus
Query 1	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAACCTGGGCTAGATGCTATAACAGAGGTAGAATGCTTCCT	60		
Sbjct 1539	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAACCTGGGCTAGATGCTATAACAGAGGTAGAATGCTTCCT	1598		
Query 61	AAACCCAGAAATGGGGATCCAGATGAAAACCTTAGGGCTTTAGTCTAAAGCTAAGTGC	120		
Sbjct 1599	AAACCCAGAAATGGGGATCCAGATGAAAACCTTAGGGCTTTAGTCTAAAGCTAAGTGC	1658		
Query 121	TGAAAATGACTTTAGCAGTGATAGCCAGAAAAGAAAAATGCTTCCCTGTTACAGCACAGC	180		
Sbjct 1659	TGAAAATGACTTTAGCAGTGATAGCCAGAAAAGAAAAATGCTTCCCTGTTACAGCACAGC	1718		
Query 181	AAGAATTCCTCCCAATTTGAATGAGGACCTAACCTGTGAAATCTACTGATGTGGGA	240		
Sbjct 1719	AAGAATTCCTCCCAATTTGAATGAGGACCTAACCTGTGAAATCTACTGATGTGGGA	1778		
Query 241	GGCTGTAAACAGTACAAACAGAGGTCATTGGAATAACTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	298		
Sbjct 1779	GGCTGTAAACAGTACAAACAGAGGTCATTGGAATAACTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	1836		

b) AB263936 suşunun nükleotid ve aminoasit dizileri ile TRY-46 dizisinde saptanan mutasyon (kırmızı renkle gösterilmiştir):

Sequence	1,730	1,740	1,750
C C T C C C C A A T T T A A A T G A G G A C C T A A C C T G T G			
G G A G G G G T T A A A T T T A C T C C T G G A T T G G A C A C			
Genes			
BAF43021.1	P	N	L
CTC	CCC	AAT	TTA
L	P	N	L
BLAST Results for: TRY-46			
		28059	
C C T C C C C A A T T T G A A T T G A G G A C C T A A C C T G T G			

c) TRY-46 DNA Dizileme Kromatogramı:



★ Mutasyonun saptandığı nükleotid

d) Mutasyon Analizi:

Nükleotid pozisyonu	Nükleotid değişimi	Kodon değişimi	Mutasyon türü	Aminoasit pozisyonu	Aminoasit değişimi
1860	A→G	TTA→TTG	Sessiz mutasyon	99	L

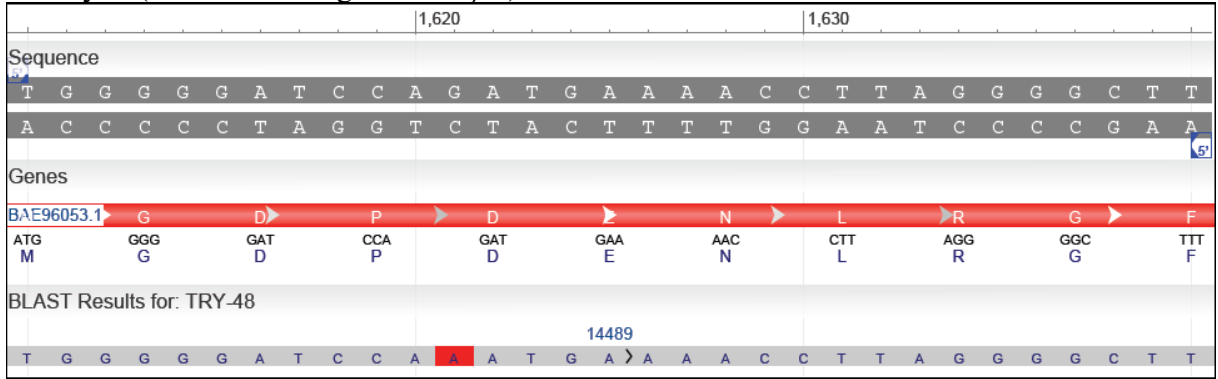
TRY-48 (BKPyV Ib-1)

NCBI GenBank AB211369 suşu ile dizi benzerlik oranı = %99

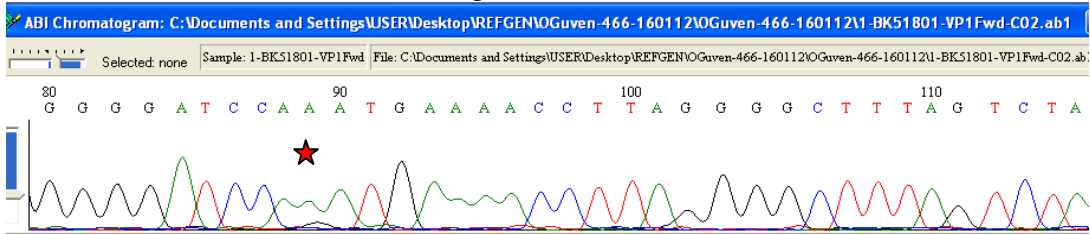
a) TRY-48 ve AB211369 suşlarının nükleotid dizilerinin karşılaştırılması:

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
545 bits(295)	6e-152	297/298(99%)	0/298(0%)	Plus/Plus
Query 1	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAACTGGGGTAGATGCTATAACAGAGGTAGAATGCTTCCT	60		
Sbjct 1539	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAACTGGGGTAGATGCTATAACAGAGGTAGAATGCTTCCT	1598		
Query 61	AAACCCAGAAATGGGGATCCAAATCAAAACCTTAGGGGCTTTAGTCTAAAGCTAAAGTGC	120		
Sbjct 1599	AAACCCAGAAATGGGGATCCAGATCAAAACCTTAGGGGCTTTAGTCTAAAGCTAAAGTGC	1658		
Query 121	TGAAAATGACTTTAGCAGTGATAGCCAGAAAAGAAAATGCTTCCCTGTTACAGCACAGC	180		
Sbjct 1659	TGAAAATGACTTTAGCAGTGATAGCCAGAAAAGAAAATGCTTCCCTGTTACAGCACAGC	1718		
Query 181	AAGAATTCCTCCCAATTTAAATCAGGACCTAACCTGTGAAATCTACTGATGTGGGA	240		
Sbjct 1719	AAGAATTCCTCCCAATTTAAATCAGGACCTAACCTGTGAAATCTACTGATGTGGGA	1778		
Query 241	GGCTGTAACTGTACAAACAGAGGTCATTGGAATAACTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	298		
Sbjct 1779	GGCTGTAACTGTACAAACAGAGGTCATTGGAATAACTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	1836		

b) AB211369 suşunun nükleotid ve aminoasit dizileri ile TRY-48 dizisinde saptanan mutasyon (kırmızı renkle gösterilmiştir):



c) TRY-48 DNA Dizileme Kromatogramı:



★ Mutasyonun saptandığı nükleotid

d) Mutasyon Analizi:

Nükleotid pozisyonu	Nükleotid değişimi	Kodon değişimi	Mutasyon türü	Aminoasit pozisyonu	Aminoasit değişimi
1741	G→A	GAT→AAT	Yanlış anlamlı mutasyon	60	D→N

TRY-72 (BKPyV Ib-2)

NCBI GenBank AB263936 suşu ile dizi benzerlik oranı = %99

a) TRY-72 ve AB263936 suşlarının nükleotid dizilerinin karşılaştırılması:

Download GenBank Graphics

BK polyomavirus DNA, complete genome, isolate: TUR-5
Sequence ID: [gb|AB263936.1](#) Length: 5142 Number of Matches: 1

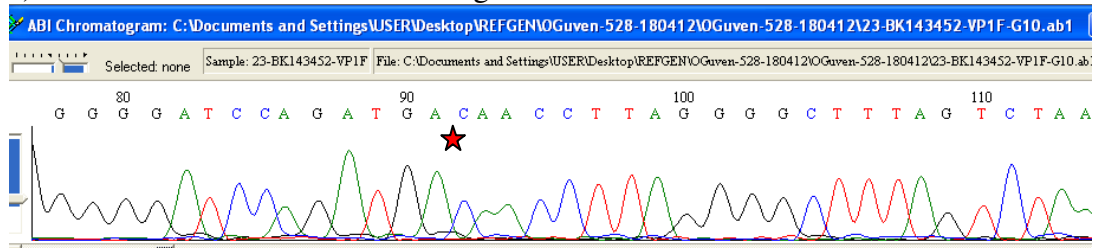
Range 1: 1539 to 1836 GenBank Graphics Next Match Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
545 bits(295)	6e-152	297/298(99%)	0/298(0%)	Plus/Plus
Query 1	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAACTGGGCTAGATGCTATAACAGAGGTAGAATGCTTCCT	60		
Sbjct 1539	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAACTGGGCTAGATGCTATAACAGAGGTAGAATGCTTCCT	1598		
Query 61	AAACCCAGAAATGGGGATCCAGATGACAACTTAGGGCTTTAGTCTAAAGCTAAAGTGC	120		
Sbjct 1599	AAACCCAGAAATGGGGATCCAGATGACAACTTAGGGCTTTAGTCTAAAGCTAAAGTGC	1658		
Query 121	TGAAAATGACTTTAGCAGTCATAGCCAGAAAGAAAATGCTTCCCTGTACAGCACAGC	180		
Sbjct 1659	TGAAAATGACTTTAGCAGTCATAGCCAGAAAGAAAATGCTTCCCTGTACAGCACAGC	1718		
Query 181	AAGAATTCCTCCCAATTTAAATGAGGACCTAACCTGTGGAAATCTACTGATGTGGGA	240		
Sbjct 1719	AAGAATTCCTCCCAATTTAAATGAGGACCTAACCTGTGGAAATCTACTGATGTGGGA	1778		
Query 241	GGCTGTAAACAGTACAAACAGAGGTCATTGGAAATAACTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	298		
Sbjct 1779	GGCTGTAAACAGTACAAACAGAGGTCATTGGAAATAACTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	1836		

b) AB263936 suşunun nükleotid ve aminoasit dizileri ile TRY-72 dizisinde saptanan mutasyon (kırmızı renkle gösterilmiştir):

	1,620		1,630		1,640					
Sequence										
A T C C A G A T G A A A A C C T T A G G G G C T T T A G T C T A										
T A G G T C T A C T T T T G G A A T C C C C G A A A T C A G A T										
Genes										
BAF43021.1 P D E N L R G F S L										
GAT	CCA	GAT	GAA	AAC	CCT	AGG	GGC	TTT	AGT	CTA
D	P	D	E	N	L	R	G	F	S	L
BLAST Results for: TRY-72										
1585										
A T C C A G A T G A C A A C C T T A G G G G C T T T A G T C T A										

c) TRY-72 DNA Dizileme Kromatogramı:



★ Mutasyonun saptandığı nükleotid

d) Mutasyon Analizi:

Nükleotid pozisyonu	Nükleotid değişimi	Kodon değişimi	Mutasyon türü	Aminoasit pozisyonu	Aminoasit değişimi
1746	A→C	GAA→GAC	Yanlış anlamlı mutasyon	61	E→D

TRY-78 (BKPyV IVc-2)

NCBI GenBank AB269830 suşu ile dizi benzerlik oranı = %99

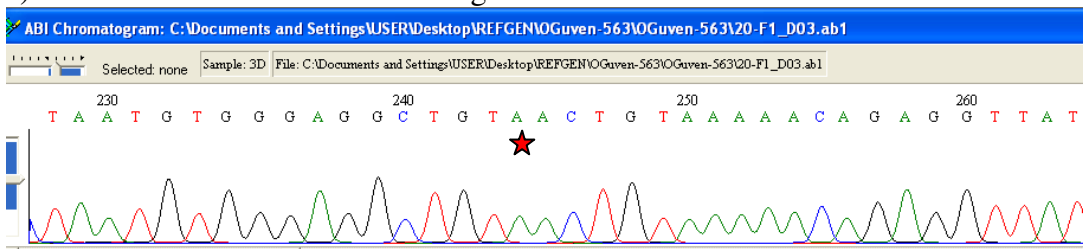
a) TRY-78 ve AB269830 suşlarının nükleotid dizilerinin karşılaştırılması:

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
545 bits(295)	6e-152	297/298(99%)	0/298(0%)	Plus/Plus
Query 1	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAACCTGGGGTAGATGCTATAACAGAAGTAGAATGCTTTCT	60		
Sbjct 1540	AGTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAACCTGGGGTAGATGCTATAACAGAAGTAGAATGCTTTCT	1599		
Query 61	AAATCCAGAAATGGGGATCCAGATAATGACCTTAGGGGCTATAGTCTAAGACTAACTGC	120		
Sbjct 1600	AAATCCAGAAATGGGGATCCAGATAATGACCTTAGGGGCTATAGTCTAAGACTAACTGC	1659		
Query 121	TGAAACTGCTTTGAGAGTGTATAGCCAGACAGAAAAATGCTTCCCTGTTACAGCACAGC	180		
Sbjct 1660	TGAAACTGCTTTGAGAGTGTATAGCCAGACAGAAAAATGCTTCCCTGTTACAGCACAGC	1719		
Query 181	AAGAATCCACTACCTAATTTGAATGAGGATCTAACCTGTGGAAATCTACTAATGTGGGA	240		
Sbjct 1720	AAGAATCCACTACCTAATTTGAATGAGGATCTAACCTGTGGAAATCTACTAATGTGGGA	1779		
Query 241	GGCTGTAAGTGTAAAAACAGAGGTTATTGGAAATAACTAGTATGCTTAACCTTCATGCA	298		
Sbjct 1780	GGCTGTAAGTGTAAAAACAGAGGTTATTGGAAATAACTAGTATGCTTAACCTTCATGCA	1837		

b) AB269830 suşunun nükleotid ve aminoasit dizileri ile TRY-78 dizisinde saptanan mutasyon (kırmızı renkle gösterilmiştir):

1,780	1,790	1,800
Sequence		
G G G A G G C T G T G A C T G T A A A A A C A G A G G T T A T T		
C C C T C C G A C A C T G A C A T T T T T G T C T C C A A T A A		
Genes		
BAF75114.1 E A T V K T E V I		
TGG	GAG	GCT
W	E	A
GTG	ACT	GTA
V	T	V
AAA	ACA	GAG
K	T	E
ATT	GTT	ATT
I	V	I
BLAST Results for: TRY-78		
39395		
G G G A G G C T G T A A C T G T A A A A A C A G A G G T T A T T		

c) TRY-78 DNA Dizileme Kromatogramı:



★ Mutasyonun saptandığı nükleotid

d) Mutasyon Analizi:

Nükleotid pozisyonu	Nükleotid değişimi	Kodon değişimi	Mutasyon türü	Aminoasit pozisyonu	Aminoasit değişimi
1905	G→A	GTG→GTA	Sessiz mutasyon	114	V

TRY-84 (BKPyV Ib-2)

NCBI GenBank JX195576 suşu ile dizi benzerlik oranı = %99

a) TRY-84 ve JX195576 suşlarının nükleotid dizilerinin karşılaştırılması:

Download GenBank Graphics

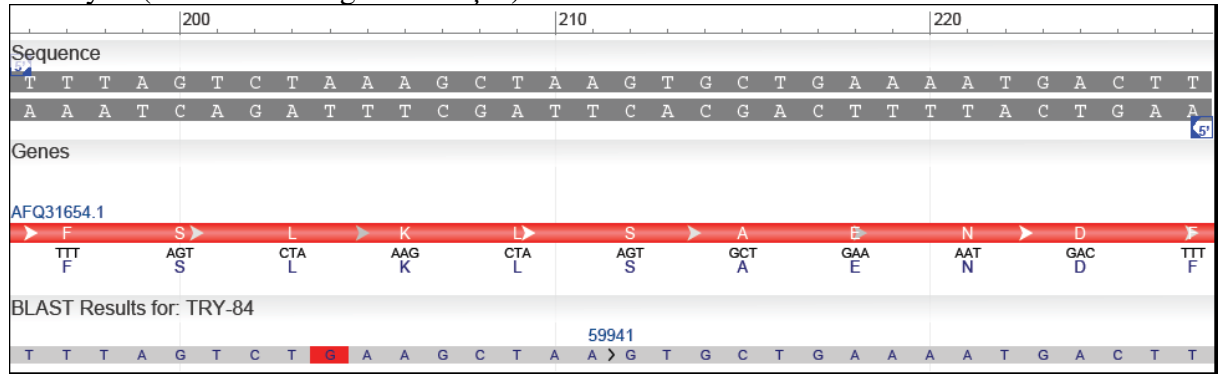
BK polyomavirus isolate VP1M20 major capsid protein (VP1) gene, complete cds
Sequence ID: [gb|JX195576.1](#) Length: 1089 Number of Matches: 1

Range 1: 96 to 393 GenBank Graphics

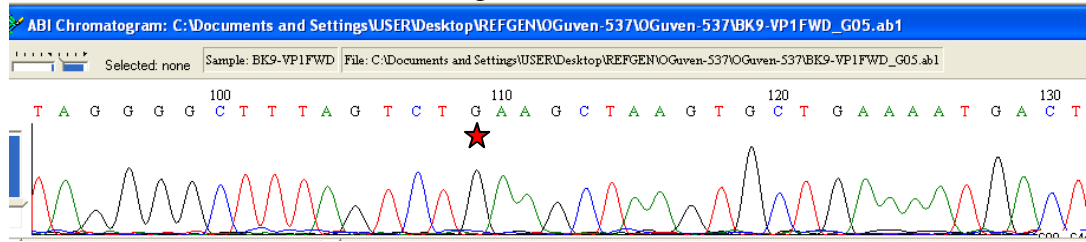
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
545 bits(295)	6e-152	297/298(99%)	0/298(0%)	Plus/Plus

Query	1	ACTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAACCTGGGCTAGATGCTATAACAGAGGTAGAATGCTTCCT	60
Sbjct	96	ACTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAACCTGGGCTAGATGCTATAACAGAGGTAGAATGCTTCCT	155
Query	61	AAACCCAGAAATGGGGATCCAGATGAAAACCTTAGGGGCTTTAGTCTGAAGCTAAGTGC	120
Sbjct	156	AAACCCAGAAATGGGGATCCAGATGAAAACCTTAGGGGCTTTAGTCTGAAGCTAAGTGC	215
Query	121	TGAAAATGACTTTAGCAGTGATAGCCAGAAAAGAAAATGCTCCCTGTTACAGCACAGC	180
Sbjct	216	TGAAAATGACTTTAGCAGTGATAGCCAGAAAAGAAAATGCTCCCTGTTACAGCACAGC	275
Query	181	AAGAAATCCCTCCCAATTTAAATGAGGACCTAACCTGTGAAATCTACTGATGTGGGA	240
Sbjct	276	AAGAAATCCCTCCCAATTTAAATGAGGACCTAACCTGTGAAATCTACTGATGTGGGA	335
Query	241	GGCTGTAAACAGTACAACAGAGGTCATTGGAATAACTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	298
Sbjct	336	GGCTGTAAACAGTACAACAGAGGTCATTGGAATAACTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	393

b) JX195576 suşunun nükleotid ve aminoasit dizileri ile TRY-84 dizisinde saptanan mutasyon (kırmızı renkle gösterilmiştir):



c) TRY-84 DNA Dizileme Kromatogramı:



★ Mutasyonun saptandığı nükleotid

d) Mutasyon Analizi:

Nükleotid pozisyonu	Nükleotid değişimi	Kodon değişimi	Mutasyon türü	Aminoasit pozisyonu	Aminoasit değişimi
1767	A→G	CTA→CTG	Sessiz mutasyon	68	L

TRY-87 (BKPyV Ib-1)

NCBI GenBank JX195582 suşu ile dizi benzerlik oranı = %99

a) TRY-87 ve JX195582 suşlarının nükleotid dizilerinin karşılaştırılması:

Download GenBank Graphics

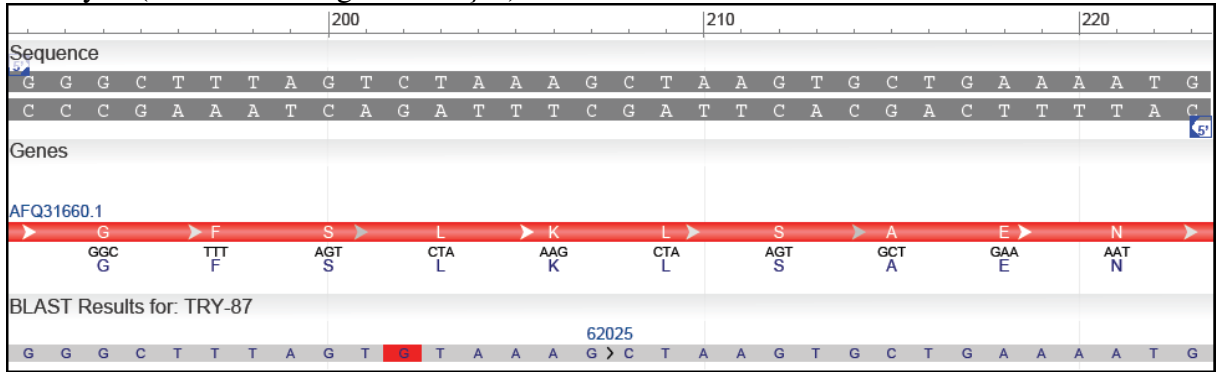
BK polyomavirus isolate VP1M26 major capsid protein (VP1) gene, complete cds
Sequence Id: [gb|JX195582.1](#) Length: 1089 Number of Matches: 1

Range 1: 96 to 393 GenBank Graphics

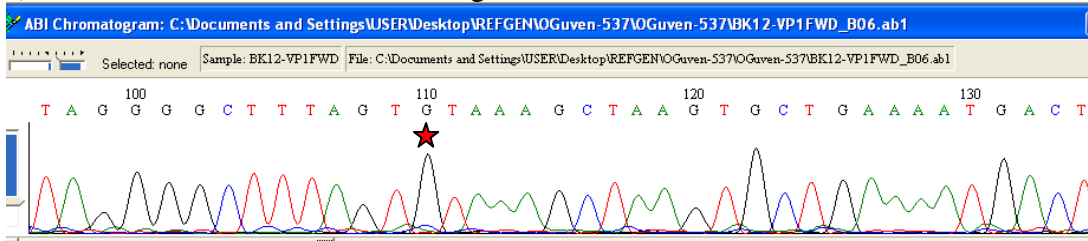
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
545 bits(295)	6e-152	297/298(99%)	0/298(0%)	Plus/Plus

Query	1	ACTAGAAGTTCTAGAAAGTTAAAACTGGGGTAGATGCTATAACAGAGGTAGAATGCTTCCT	60
Sbjct	96	ACTAGAAGTTCTAGAAAGTTAAAACTGGGGTAGATGCTATAACAGAGGTAGAATGCTTCCT	155
Query	61	AAACCCAGAAATGGGGATCCAGATGAAAACCTTAGGGGCTTTAGTGTAAAAGCTAAGTGC	120
Sbjct	156	AAACCCAGAAATGGGGATCCAGATGAAAACCTTAGGGGCTTTAGTGTAAAAGCTAAGTGC	215
Query	121	TGAAAATGACTTTAGCAGTGATAGCCAGAAAAGAAAAATGCTTCCCTGTTACAGCACAGC	180
Sbjct	216	TGAAAATGACTTTAGCAGTGATAGCCAGAAAAGAAAAATGCTTCCCTGTTACAGCACAGC	275
Query	181	AAGAAATCCCTCCCAATTTAAATGAGGACCTAACCTGTGGAAATCTACTGATGTGGGA	240
Sbjct	276	AAGAAATCCCTCCCAATTTAAATGAGGACCTAACCTGTGGAAATCTACTGATGTGGGA	335
Query	241	GCGTGAACGTACAAACAGAGGTCATTGGAATAACTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	298
Sbjct	336	GCGTGAACGTACAAACAGAGGTCATTGGAATAACTAGCATGCTTAACCTTCATGCA	393

b) JX195582 suşunun nükleotid ve aminoasit dizileri ile TRY-87 dizisinde saptanan mutasyon (kırmızı renkle gösterilmiştir):



c) TRY-87 DNA Dizileme Kromatogramı:



★ Mutasyonun saptandığı nükleotid

d) Mutasyon Analizi:

Nükleotid pozisyonu	Nükleotid değişimi	Kodon değişimi	Mutasyon türü	Aminoasit pozisyonu	Aminoasit değişimi
1765	C→G	CTA→GTA	Yanlış anlamlı mutasyon	68	L→V

TRY-89 (BKPyV IVc-2)

NCBI GenBank JX195582 suşu ile dizi benzerlik oranı = %99

a) TRY-89 ve JX195582 suşlarının nükleotid dizilerinin karşılaştırılması:

Download GenBank Graphics

BK polyomavirus isolate VP1M19 major capsid protein (VP1) gene, complete cds
Sequence ID: [gb|JX195575.1](#) Length: 1089 Number of Matches: 1

Range 1: 96 to 393 GenBank Graphics Next Match Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
545 bits(295)	6e-152	297/298(99%)	0/298(0%)	Plus/Plus

Query 1 ACTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAGTGGGGTAGATGCTATAACAGAAGTACAATGCTTTCT 60
Sbjct 96 ACTAGAAGTTCTAGAAGTTAAAAGTGGGGTAGATGCTATAACAGAAGTACAATGCTTTCT 155

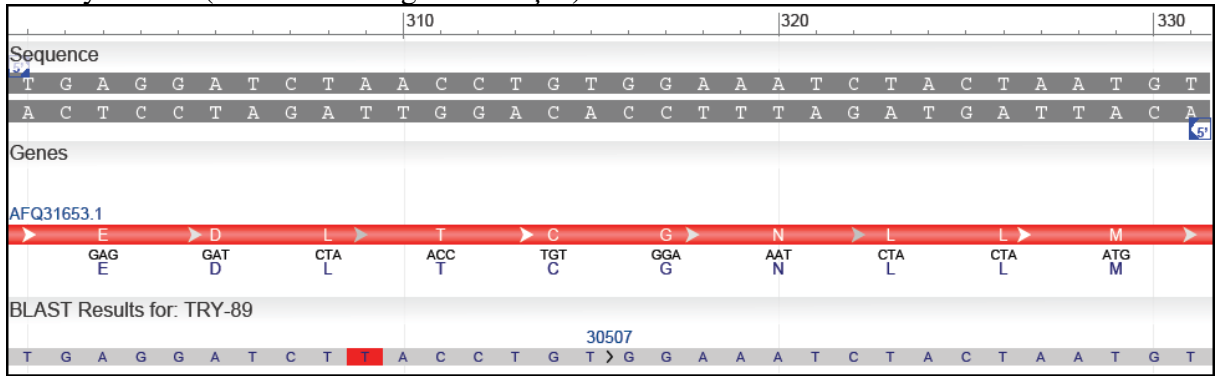
Query 61 AAATCCAGAAATGGGGATCCAGATAATGACCTTAGGGGCTATAGTCTAAGACTAAGTGC 120
Sbjct 156 AAATCCAGAAATGGGGATCCAGATAATGACCTTAGGGGCTATAGTCTAAGACTAAGTGC 215

Query 121 TGAAGTGCCTTTGACAGTGATAGCCAGACAGAAAAATGCTTCCCTGTTACAGCACAGC 180
Sbjct 216 TGAAGTGCCTTTGACAGTGATAGCCAGACAGAAAAATGCTTCCCTGTTACAGCACAGC 275

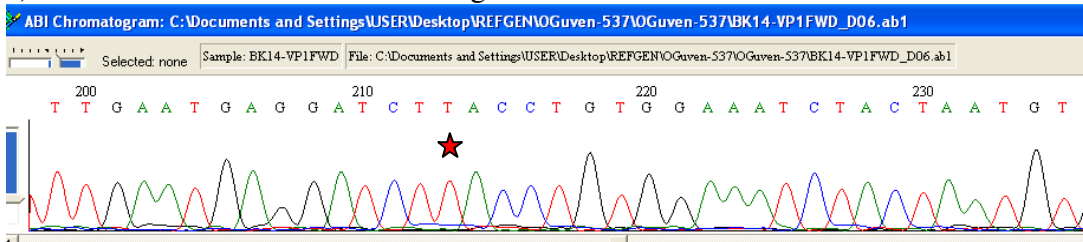
Query 181 AAGAAATCCACTACCTAAATTTGAATGAGGATCTTACCTGTGAAAATCTACTAATGTGGGA 240
Sbjct 276 AAGAAATCCACTACCTAAATTTGAATGAGGATCTTACCTGTGAAAATCTACTAATGTGGGA 335

Query 241 GGCTGTGACTGTAAAAACAGAGGTTATTGGAATAACTAGTATGCTTAACCTTCATGCA 298
Sbjct 336 GGCTGTGACTGTAAAAACAGAGGTTATTGGAATAACTAGTATGCTTAACCTTCATGCA 393

b) JX195582 suşunun nükleotid ve aminoasit dizileri ile TRY-89 dizisinde saptanan mutasyon (kırmızı renkle gösterilmiştir):



c) TRY-89 DNA Dizileme Kromatogramı:



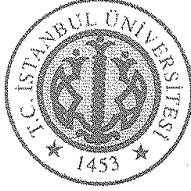
★ Mutasyonun saptandığı nükleotid

d) Mutasyon Analizi:

Nükleotid pozisyonu	Nükleotid değişimi	Kodon değişimi	Mutasyon türü	Aminoasit pozisyonu	Aminoasit değişimi
1872	A→T	CTA→CTT	Sessiz mutasyon	103	L

* Aynı nükleotid dizisine sahip suşların oluşturduğu grubu temsil eden suşu ifade etmektedir.

Nükleotid pozisyonları Dunlop suşu (GenBank no: NC_001538) referans alınarak verilmiştir.

ETİK KURUL KARARI

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
İSTANBUL 2 NO'LU KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU



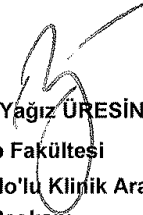
Sayı : 64

Tarih : 12/01/2010

Konu : Prof.Dr. Salih TÜRKOĞLU hk,

Sayın Prof.Dr. Salih TÜRKOĞLU
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi
İlgi : 10.11.2009 tarihli 966 sayılı yazınız

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Doktora Öğrencisi M.Sc. Özlem GÜVEN'in yürüteceği 2009/2849-85 protokol numaralı "Böbrek Transplantasyonu Yapılan Hastalarda Polyomavirus BK Altıplarının Saptanması" başlıklı doktora tez çalışması kurumumuzun 18.11.2009 tarihli 05 sayılı toplantısında onaylanmış olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.
Bilgilerinize saygılarımla rica ederim.


Prof.Dr. A. Yağız ÜRESİN
İstanbul Tıp Fakültesi
İstanbul 2 No'lu Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

Eki: Tutanak



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
İSTANBUL 2 NO'LU KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURUL TUTANAĞI**

Toplantı Tarihi : 18/11/2009

Toplantı Yeri : Behçet Kütüphanesi Etik Kurul Toplantı Salonu

Toplantı Sayısı : 05

Sorumlu araştırmacılığını Fakültemiz Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr. Salih TÜRKOĞLU'nun üstlendiği ve Doktora Öğrencisi M.Sc. Özlem GÜVEN'in yürüteceği 2009/2849-85 protokol numaralı "Böbrek Transplantasyonu Yapılan Hastalarda Polyomavirus BK Altıplarının Saptanması" başlıklı doktora tez çalışması kurulumuzda incelendi. Etik yönden bir sakınca taşımadığı görüldü, uygulamaya konulabileceğine karar verildi.

Prof.Dr. A. Yağız ÜRESİN
İ.Ü. Farmakoloji ve Klinik Far. A.D.
Etik Kurul Başkanı

Prof.Dr. Ayşen BULUT
Halk Sağlığı (Emekli)

Prof.Dr. Berrin UMMAN (T. Katılmadı)
İ.Ü. Kardiyoloji A.D. (Bşk. Yardımcısı)

Doç.Dr. Tufan TÜKEK
Vakıf Gureba E. ve Araş. Hst. İç Hast.

Prof.Dr. Ahmet GÜL
İ.Ü. İç Hastalıkları A. D.

Prof.Dr. Ünal KUZGUN
Şişli Etfal Eğitim ve Araş. Hst. Ortopedi

Prof.Dr. Oğuzhan ÇOBAN
İ.Ü. Nöroloji A. D.

Prof.Dr. Ahmet O. ARAMAN
İ.Ü. Eczacılık Fakültesi Eczacı

Prof.Dr. Pınar SAİP
İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü

Prof.Dr. Demir TIRYAKI
Biyofizik (Emekli)

Prof.Dr. Rukiye Eker ÖMEROĞLU (T. Katılmadı)
İ.Ü. Çocuk Sağ. ve Hast. A. D.

Av. Dilek TEMİZ ÖZBEK
İstanbul Üniversitesi

Uzm.Dr. Ahmet Rıza URAS
Vakıf Gureba E. ve Araş. Hst. Biyokimya

M. Kerim AKMAN
İİBF İktisat Bölümü (Özel)

Doç.Dr. H. Hanzade DOĞAN
İ.Ü. Cerrahpaşa T.F. Deontoloji

(Handwritten signature)

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	ÖZLEM	Soyadı	GÜVEN
Doğ. Yeri	İSTANBUL	Doğ. Tar.	27.01.1981
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	40591553530
Email	bioozlemguven@gmail.com	Tel	0536 271 74 00

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İ.Ü. İ.T.F. TIBBİ MİKROBİYOLOJİ A.D.	
Yük. Lis.	İ.Ü. C.T.F. MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ A.D.	2007
Lisans	ANKARA Ü. FEN FAKÜLTESİ BİYOLOJİ BÖLÜMÜ	2003
Lise	BEHÇET KEMAL ÇAĞLAR LİSESİ (Y. DİL AĞIRLIKLİ)	1999

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	ÜDS Puanı
İNGİLİZCE	ÇOK İYİ	ÇOK İYİ	ÇOK İYİ	83.75

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	77	77	68

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MICROSOFT OFFICE	ÇOK İYİ

Yayımları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Bahar H, Halis AN, Karatoka B, Asik L, **Güven O**, Gemicioglu B, Mamal Torun M. Anaerobic bacteria in pleural empyema: antimicrobial resistance and prevalence evaluated from 107 Turkish patients. Anaerobe 2006, poster no PII-6, Boise USA 2006.

Özlem Güven, Derya Ünver, Sinem Özdemir, Nevriye Gönüllü, Ömer Küçükbasmacı, Kemal Altaş. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen Pseudomonas aeruginosa kökenlerinin antibiyotiklere duyarlılıkları. ANKEM Derg 2006; 20 (Ek1) (P3); 7.

Özlem Güven, Emine Parlar, Kenan Ak, Mustafa Samastı, Hatice Yaşar, Gökhan Aygün, Recep Öztürk. Sağlık çalışanlarının cep telefonu sürüntü örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar. ANKEM Derg 2007; 21 (Ek 1) (P7);12.

Hatice Yaşar, **Özlem Güven**, Gökhan Aygün, Kenan Ak, Linda Aşık, Defne Gümüş, Ayşen Gargılı. İlköğretim çocuklarında vankomisine dirençli enterokok araştırılması. ANKEM Derg 2007; 21 (Ek 1) (P41);31.

Kenan Midilli, **Özlem Güven**, Ahmet Balıkçı, Mert Ahmet Kuşkucu, Derya Aydın. Kinolon Dirençli *Neisseria gonorrhoeae* Kökenlerinde *gyrA*, *gyrB*, *parC*, *parE* Mutasyonlarının Araştırılması. ANKEM Derg 2009;23(Ek 1) (S7);7.

Özlem Güven, Derya Ünver, Sinem Özdemir, Nevriye Gönüllü, Ömer Küçükbasmacı, Kemal Altaş. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* kökenlerinin antibiyotiklere duyarlılıkları ve beta-laktam direnç fenotipleri. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2008; 38:112-116.

Ömer Küçükbasmacı, Kenan Midilli, Ghassan Issa, **Özlem Güven**, Nevriye Gönüllü. 2010, VIM ve IMP Tipi Metallo Beta Laktamaz Genlerinin Hızlı Saptanması İçin Yeni Bir Multipleks PZR Metodu. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2010;30(4):1312-6

Özlem Güven, Wendy L. J. Hansen, Astrid Oude Lashof, Frank van Tiel, Cathrien A. Bruggeman, Petra F. G. Wolffs. Rapid identification of *Candida* species in blood cultures by multiprobe TaqMan PCR assay. (İnternette) <http://arno.unimaas.nl/show.cgi?fid=25432> (*Manuscript in preparation*)

Burslar:

2005-2006- TÜBİTAK-BİDEB 2210 Yurt İçi Yüksek Lisans Programı Bursu

2007-2012 TÜBİTAK- BİDEB 2211 Yurt İçi Doktora Programı Bursu

2010 ERASMUS

Özel İlgi Alanları (Hobileri):

Tiyatro, yüzme, kürek