



Τεχνολογικό
Πανεπιστήμιο
Κύπρου

Σχολή Γεωτεχνικών
Επιστημών και
Διαχείρισης
Περιβάλλοντος

Πτυχιακή εργασία

**ΧΡΗΣΗ ΑΜΥΝΤΙΚΩΝ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ DEFENSIN ΚΑΙ
ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΕΝΑΝΤΙ GRAM ΑΡΝΗΤΙΚΩΝ
ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ *XANTHOMONAS CAMPESTRIS PV
CAMPESTRIS* ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑΣ ΡΟΗΣ**

Δημήτριος Γαλάνης

Λεμεσός, 2022

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ, ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Πτυχιακή εργασία

**ΧΡΗΣΗ ΑΜΥΝΤΙΚΩΝ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ DEFENSIN ΚΑΙ ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ
ENANTI GRAM ΑΡΝΗΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ *XANTHOMONAS CAMPESTRIS*
PV CAMPESTRIS ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑΣ ΡΟΗΣ**

του

Δημήτριου Γαλάνη

Επιβλέπων Καθηγητής

Δρ. Νικόλαος Νικολουδάκης

Λεμεσός, 2022

Πνευματικά δικαιώματα

Copyright © Δημήτριος Γαλάνης, 2022

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Η έγκριση της πτυχιακής εργασίας από το Τμήμα Γεωπονικών Επιστημών,
Βιοτεχνολογίας και Επιστήμης Τροφίμων του Τεχνολογικού Πανεπιστημίου Κύπρου
δεν υποδηλώνει απαραίτητως και αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα εκ μέρους του
Τμήματος.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον Δρ. Νικόλαο Νικολουδάκη, για τον προσωπικό χρόνο που αφιέρωσε για την επίλυση αποριών ως προς την κατανόηση τόσο της πειραματικής διαδικασίας όσο και της καινοφανούς τεχνικής με την οποία ήρθα αντιμέτωπος κατά την συγγραφή της συγκεκριμένης πτυχιακή. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα μέλη της οικογένειάς μου, που ο καθένας με τον δικό του τρόπο, μου συμπαραστάθηκαν ψυχολογικά και με στήριξαν οικονομικά, δίνοντας μου σημαντική ώθηση ώστε να ολοκληρώσω την πτυχιακή μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι Defensins είναι αντιμικροβιακά πεπτίδια τα οποία εντοπίζονται σε όλους τους ζωντανούς οργανισμούς. Αποτελούνται από 45 έως 54 αμινοξέα. Εξαιτίας του μεγάλου αριθμού των Κυστεϊνών που υπάρχουν, οι δισουλφιδικοί δεσμοί που δημιουργούνται προσδίδουν στις Defensins αντοχή και σταθερότητα σε δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες. Επίσης, περιέχουν μία συγκεκριμένη αλληλουχία αμινοξέων που ξεκινούν από Γλυκίνη και καταλήγουν σε Κυστεΐνη, αλληλουχία η οποία ονομάζεται γ – μοτίβο. Με βάση διάφορες μελέτες, θεωρείται πως ο μηχανισμός δράσης των Defensins, σχετίζεται με την διαταραχή της Κυτταρικής Μεμβράνης μέσω της δέσμευσης μορίων όπως τα Φωσφολιπίδια. Το γεγονός πως δεν υπάρχουν αρκετά δεδομένα που να τον επεξηγούν αποτέλεσε και τον λόγο διεξαγωγής του συγκεκριμένου πειράματος. Σε αυτό το πείραμα, εφαρμόστηκαν 7 πεπτίδια της ίδιας συγκέντρωσης, σε κύτταρα που πάρθηκαν από μονή αποικία του Gram – αρνητικού βακτηρίου *Xanthomonas campestris pv campestris*. Με την τεχνική της Κυτταρομετρίας ροής και χρωστικών που διαχωρίζουν νεκρά και ζωντανά κύτταρα (Propidium Iodine και Thiazole Orange αντίστοιχα) τα 7 πεπτίδια ελέγχθηκαν ως προς την αντιμικροβιακή τους ικανότητα καθώς και τη χρονική τους διάρκεια. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν, έδειξαν πως 5 από τα 7 πεπτίδια λειτούργησαν αποτελεσματικά έναντι των κυττάρων του βακτηρίου και μάλιστα η αποδοτικότητά τους αυξάνονταν με το πέρασμα του χρόνου. Τέλος, αναλύθηκαν οι λόγοι που ενδέχεται να εξηγούν τα συγκεκριμένα αποτελέσματα καθώς και τον τρόπο λειτουργίας αυτών των αντιμικροβιακών πεπτιδίων.

Λέξεις κλειδιά: Defensins, γ – μοτίβο, Κυτταρόμετρο ροής, Κυτταρική Μεμβράνη

ABSTRACT

Defensins are antimicrobial peptides that are found in all living organisms. They consist of 45 to 54 amino acids. Due to the large number of Cysteines present, the disulfide bonds that are created give Defensins strength and stability in adverse environmental conditions. They also contain a specific amino acid sequence that starts with Glycine and ends with Cysteine, a sequence called the γ -pattern. Based on various studies, it is believed that the mechanism of action of Defensins is related to the Disruption of the Cell Membrane through the binding of molecules such as Phospholipids. The fact that there is not enough data to explain it was the reason for conducting this experiment. In this experiment, 7 peptides of the same concentration were applied to cells taken from a single colony of Gram-negative bacterium *Xanthomonas campestris* pv *campestris*. With the technique of flow cytometry and dyes that separate dead and living cells (Propidium Iodine and Thiazole Orange respectively) the 7 peptides were tested for their antimicrobial capacity as well as their duration. The results showed that 5 of the 7 peptides functioned effectively against the bacterial cells and in fact their efficiency increased over time. Finally, the reasons that may explain the specific results as well as how these antimicrobial peptides work were analyzed.

Keywords : Defensins, γ -core motif, Flow Cytometer, Cell membrane