

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΟΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ ΣΧΟΛΗ
ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ & ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ



**Νέο ρυθμιστικό διάλυμα απομόνωσης πυρήνων για εκτίμηση μεγέθους
γονιδιώματος του αμπελιού με κυτταρομετρία ροής: Σύγκριση με
κοινά ρυθμιστικά διαλύματα απομόνωσης**

Κυριάκος Μιχαήλ

Λεμεσός, Μάης 2022

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ, ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ
ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Πτυχιακή εργασία

ΝΕΟ ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟ ΔΙΑΛΥΜΑ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗΣ ΠΥΡΗΝΩΝ ΓΙΑ
ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΑΜΠΕΛΙΟΥ ΜΕ
ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ: ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΚΟΙΝΑ ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΑ
ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗΣ

του

Κυριάκου Μιχαήλ

Επιβλέπων Καθηγητής

Δρ. Νικόλαος Νικολουδάκης

Λεμεσός, Μάης 2022

Πνευματικά δικαιώματα

Copyright © Όνομα επίθετο φοιτητή, έτος ολοκλήρωσης πτυχιακής

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Η έγκριση της πτυχιακής εργασίας από το Τμήμα [Γεωπονικών Επιστημών και Διαχείρισής Πειβάλλοντος] του Τεχνολογικού Πανεπιστημίου Κύπρου δεν υποδηλώνει απαραίτητως και αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα εκ μέρους του Τμήματος.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η κυτταρομετρία ροής (FCM) είναι μία τεχνική η οποία χρησιμοποιείται κατά κόρον για τη μελέτη εκατοντάδων-χιλιάδων κυτταρικών χαρακτηριστικών ανά δευτερόλεπτο και ως εκ τούτου είναι η τεχνική που επιλέγεται για αναλύσεις υψηλής απόδοσης λόγω ακρίβειας μετρήσεων και ταχύτητας. Τα φυτά όμως περιέχουν αρκετούς μεταβολίτες οι οποίοι μπορεί να παρεμποδίσουν την κυτταρική νηματική ροή και να αλληλοεπιδράσουν με χρωστικές που χρησιμοποιούνται στην κυτταρομετρία ροής για τη μελέτη μεγεθών γονιδιωμάτων (C-values). Ο στόχος της παρούσας μελέτης ήταν να αναπτυχθεί ένα καινούριο διάλυμα απομόνωσης πυρήνων από αμπέλι το οποίο να μη δημιουργεί προβλήματα παρεμπόδισης.

Το φυτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε ήταν φύλλα (νεαρά και ώριμα) από ποικιλία Ξυνιστέρι. Για το διάλυμα χρησιμοποιήθηκαν σορβιτόλη/γλυκίνη και δείχθηκε η ικανότητα τους να εξουδετερώνουν τις ταννίνες/τανικά οξέα που προκαλούν παρεμβολές στην τεχνική. Το καινοφανές διάλυμα συγκρίθηκε με άλλα τρία διαλύματα τα οποία χρησιμοποιούνται για απομόνωση πυρήνων και βρέθηκε να υπερτερεί. Η σύγκριση μεταξύ των συντελεστών παραλλακτικότητας (CV) έδειξε ότι το διάλυμα σορβιτόλης/γλυκίνης είχε CV=4.06 %, γεγονός που υποδηλώνει καλύτερη απομάκρυνση μεταβολιτών σε σύγκριση με τα άλλα τρία διαλύματα [WPB (CV=7,69%), LB01(CV=6,69%) και Leal 2006(CV=7,13%)].

Λέξεις κλειδιά: κυτταρομετρία ροής, ρυθμιστικά διαλύματα απομόνωσης, μεταβολίτες, ταννικό οξύ, συντελεστής παραλλακτικότητας.

ABSTRACT

Flow cytometry (FCM) is a technique that is widely used to study hundreds-thousands of cell characteristics per second and is therefore the technique of choice for high-performance assays due to measurement accuracy and speed. Plants, however, contain several metabolites that can inhibit cellular laminar flow and interact with dyes used in flow cytometry to study genome sizes (C-values). The aim of the present study was to develop a new buffer for vine nuclei isolation that does not cause interference problems.

The plant material used was leaves (young and mature) from the Xinisteri variety. Sorbitol / glycine was used for the buffer and their ability to neutralize tannins / tannic acids that interfere with the technique was demonstrated. The novel buffer was compared with three other buffers used to isolate nuclei and was found to be superior. The comparison between the coefficients of variability (CV) showed that the sorbitol / glycine buffer had a CV = 4.06%, which indicates a better removal capacity of metabolites compared to the other three buffers [WPB (CV = 7.69%), LB01 (CV = 6.69%) and Leal 2006 (CV = 7.13%)].

Keywords: flow cytometer (FCM), nuclei isolation buffers, metabolites, tannic acid (TA), coefficient of variation (CV)