

# 25<sup>ο</sup> Συνέδριο

## Ελληνικής Εταιρείας

# Επιστήμης Οπωροκηπευτικών



01-04 Κύπρος  
Νοεμβρίου Λεμεσός



Τεύχος Περιλήψεων

Α. Γεωργιάδου<sup>1</sup>, Α. Μολασιώτης<sup>2</sup> & Β. Φωτόπουλος<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τμήμα Γεωπονικών Επιστημών, Βιοτεχνολογίας & Επιστήμης Τροφίμων, Τεχνολογικό Πανεπιστήμιο Κύπρου, 3603 Λεμεσός

<sup>2</sup>Γεωπονική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Πανεπιστημιούπολη, 54124 Θεσσαλονίκη

Η απομόνωση RNA είναι απαραίτητη προϋπόθεση για τη μελέτη της γονιδιακής έκφρασης και κατά συνέπεια διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην κατανόηση των γενετικών διαφοροποιήσεων των φυτικών κυττάρων. Παρόλο αυτά, η απομόνωση RNA είναι ιδιαίτερα δύσκολη σε νωπούς καρπούς, κυρίως γιατί περιέχουν αυξημένα επίπεδα πολυσακχαριτών και πολυφαινολικών ενώσεων. Εξαιτίας της αυξημένης περιεκτικότητας αυτών των ενώσεων σε καρπούς ακτινιδιάς (*Actinidia deliciosa*), τα κοινά πρωτόκολλα για την απομόνωση RNA συνήθως δίνουν χαμηλές συγκεντρώσεις και αυξανόμενες προσμίξεις στα δείγματα. Στην παρούσα εργασία έγινε προσπάθεια συνδυασμού διαφόρων μεθόδων από δημοσιευμένα πρωτόκολλα, και παρουσιάζεται ένα βελτιωμένο πρωτόκολλο για απομόνωση αυξημένης ποιότητας και ποσότητας ολικού RNA από καρπούς ακτινιδιάς. Η διαδικασία περιλαμβάνει την απομάκρυνση πρωτεϊνών, πολυφαινολών και πολυσακχαριτών μέσω διαδοχικών εκχυλίσεων με φαινόλη/χλωροφόρμιο και διαδοχική κατακρήμνιση με οξικό νάτριο/αιθανόλη και χλωριούχο λίθιο, αντίστοιχα. Ο έλεγχος του προτεινόμενου πρωτοκόλλου για την ποιοτική και ποσοτική ανάλυση RNA πραγματοποιήθηκε ελέγχοντας την καθαρότητα του RNA φασματοφωτομετρικά καθώς και μέσω ηλεκτροφόρησης σε πηκτή αγαρόζης. Επιπρόσθετα, πραγματοποιήθηκε σύνθεση συμπληρωματικού DNA (cDNA) και επακόλουθη ανάλυση αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR), χρησιμοποιώντας δομικά γονίδια αναφοράς ως δείκτης υψηλής ποιότητας RNA καθώς η αντίστροφη μεταγραφή είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη σε προσμίξεις.