

25^ο Συνέδριο

Ελληνικής Εταιρείας

Επιστήμης Οπωροκηπευτικών



01-04 Κύπρος
Νοεμβρίου Λεμεσός



Τεύχος Περιλήψεων

PP-04

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΥΨΗΛΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΟΛΙΚΟΥ RNA ΚΑΙ/Η ΓΕΝΩΜΙΚΟΥ DNA ΑΠΟ ΙΣΤΟΥΣ ΦΡΑΟΥΛΑΣ ΜΕΣΩ ΚΟΙΝΗΣ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ

Α. Χρίστου^{1,2}, Π. Φιλίππου¹, Α. Mlynaarczyk¹, Γ.Α. Μαγγανάρης¹ & Β. Φωτόπουλος¹

¹Τμήμα Γεωπονικών Επιστημών, Βιοτεχνολογίας & Επιστήμης Τροφίμων, Τεχνολογικό Πανεπιστήμιο Κύπρου, 3603 Λεμεσός

²Ινστιτούτο Γεωργικών Ερευνών, 1516 Λευκωσία

Η απομόνωση υψηλής ποιότητας νουκλεϊκών οξέων από διαφορετικούς ιστούς φράουλας συχνά επηρεάζεται από την παρουσία υψηλών επιπέδων πολυσακχαριτών και φαινολικών ενώσεων. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται ένα βελτιστοποιημένο πρωτόκολλο για την ακριβή και αξιόπιστη απομόνωση υψηλής ποιότητας ολικού RNA καθώς επίσης και γενωμικού DNA από φύλλα και ρίζες φυτών φράουλας. Η ταυτόχρονη απομόνωση RNA και DNA από ιστούς φράουλας μέσω του πρωτοκόλλου αυτού αποδείχθηκε η καταλληλότερη για τις μετέπειτα μοριακές αναλύσεις. Χρησιμοποιώντας μια τροποποιημένη μέθοδο βασιζόμενη σε δημοσιευμένα πρωτόκολλα, απομονώθηκαν μεγάλες ποσότητες RNA και DNA μέσω κοινής εκχύλισης. Ακολούθησε κατεργασία των δειγμάτων με ριβονουκλεάση (RNase) και δεοξυριβονουκλεάση (DNase) με σκοπό την απομόνωση καθαρού gDNA και ολικού RNA αντίστοιχα. Η συγκέντρωση του συνόλου των νουκλεϊκών οξέων, καθώς επίσης και ξεχωριστά του DNA (έπειτα από την πέψη με RNase) και του RNA (έπειτα από την πέψη με DNase) καθορίστηκε φασματοφωτομετρικά. Επιπρόσθετα, η ικανότητα της απομόνωσης νουκλεϊκών οξέων (ποσοτικά και ποιοτικά) ήταν ιδιαίτερα υψηλή όπως αποδείχθηκε από τους φασματοφωτομετρικούς λόγους A_{260}/A_{280} και A_{260}/A_{230} σε ND-1000 φασματοφωτόμετρο (Nano-Drop Technologies) και περαιτέρω ηλεκτροφορητική ανάλυση σε πηκτή αγαρόζης. Ο προσδιορισμός της λειτουργικότητας του απομονωμένου RNA και DNA έγινε μέσω της αντίδρασης αντίστροφης μεταγραφής για τη δημιουργία συμπληρωματικού DNA και της επακόλουθης αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) για την ενίσχυση των προϊόντων των γονιδίων αναφοράς *18S* και *GAPDH*. Με αυτό τον τρόπο διαπιστώθηκε πως το προτεινόμενο πρωτόκολλο δίνει παράλληλα και μεμονωμένα RNA και DNA υψηλής ποιότητας ικανά για περαιτέρω downstream μοριακές αναλύσεις.