

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗΣ ΑΕΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΚΑΙΡΟΠΟΙΗΣΗ ΓΝΩΣΕΩΝ ΑΠΟΦΟΙΤΩΝ ΑΕΙ (ΠΕΓΑ)

«Οι σύγχρονες τεχνικές βιο-ανάλυσης στην υγεία, τη γεωργία, το περιβάλλον και τη διατροφή»



Η Συμβολή της Μοριακής Βιολογίας στην Ανίχνευση συστατικών των τροφών

Δρ Ζήσης Μαμούρης
Καθηγητής Γενετικής
Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΕΘΝΙΚΗΣ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΕΠΕΑΕΚ
ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΕΝΩΣΗ
ΣΥΓΧΡΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΤΑΜΕΙΟ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΚΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ




ΠΑΙΔΕΙΑ ΜΠΡΟΣΤΑ
2^ο Επιχειρησιακό Πρόγραμμα
Εκπαίδευσης και Αρχικής
Επαγγελματικής Κατάρτισης

Η Αναγκαιότητα της Ταυτοποίησης

- Διατροφικές Κρίσεις (BSE, γρίπη πουλερικών).
- Νοθεία (ηλιέλαιου, γάλακτος, κρεατοσκευασμάτων).
- Τροφικές αλλεργίες – δηλητηριάσεις.
- Γ.Τ. τρόφιμα.

- ❖ Αύξηση της ανησυχίας και του ενδιαφέροντος των καταναλωτών για την σύσταση & ποιότητα των τροφίμων.
- ❖ Απαραίτητη η ανάπτυξη αξιόπιστων μεθόδων πιστοποίησης της αυθεντικότητας των συστατικών.
- ❖ Προστασία της υγείας των καταναλωτών, οικονομικοί & θρησκευτικοί λόγοι.

Μοριακή Βιολογία και Γενετική

Μηχανική: Μελέτη, Ανάλυση, Τροποποίηση του DNA και του RNA

Έχουμε τα «εργαλεία»



Αντιγραφή



Κόψιμο



Σήμανση

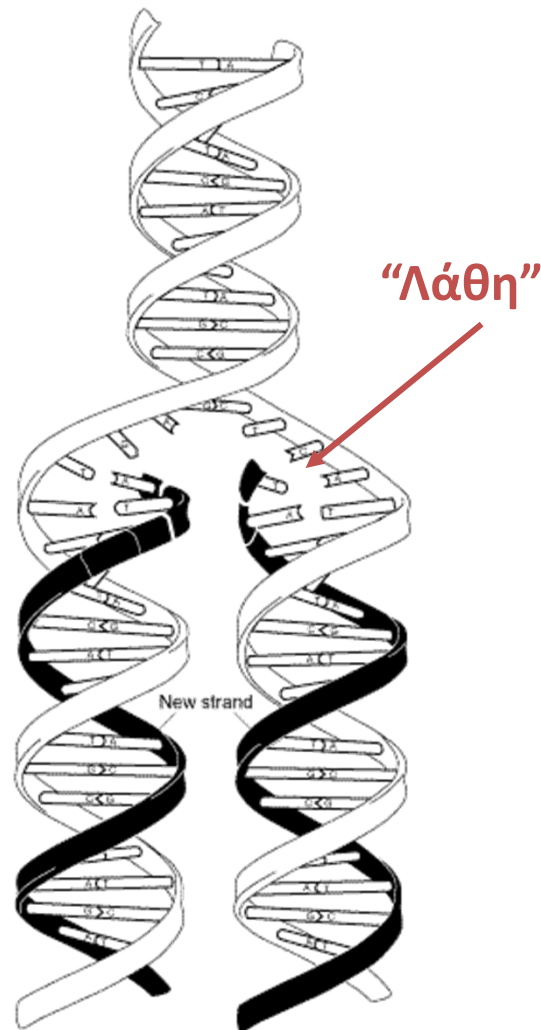


Μοριακοί Δείκτες

Μικρές περιοχές του γονιδιώματος που χρησιμοποιούνται ως δείκτες γενετικής ποικιλομορφίας

Είναι χρήσιμοι μόνο όταν είναι πολυμορφικοί στους πληθυσμούς

Αναδιπλασιασμός του DNA



3 εκατ. πολυμορφικές θέσεις

Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)

...AGTTCGATTGCTCGATAGCACGAT

...AGTTCAATTGCTTGATAGCACGAT...

...AGTTCGATTGCTTGATAGCTCGAT...

Repeats

...AGTTCAATTGCTTGATAGCGCGAT...

...AGTTCAATTGCTTGCTTGCTTGATAGCGCGAT...

Deletions

...AGTTCAATTGATAGCGCGAT...

Γιατί μοριακοί δείκτες;

- Ενυπάρχουν στα άτομα (δεν μπορούν να χαθούν)
- Κληρονομήσιμοι (ταυτοποίηση απογόνων)
- Δεν καταστρέφεται το δείγμα (δεν απαιτείται θανάτωση του ζώου)

Πολλοί διαφορετικοί δείκτες:

Ισοένζυμα

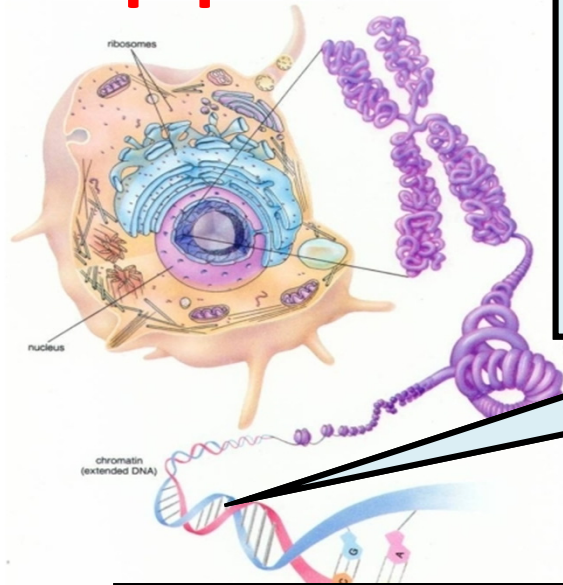
Αλληλουχίες μιτοχονδριακού (mt) DNA

Αλληλουχίες χλωροπλαστικού (cp) DNA

Μικροδορυφορικό DNA

Αλληλουχίες πυρηνικού DNA

Πυρηνικό DNA



Μικροδορυφορικό DNA

“Μικροδορυφόροι” είναι τόποι όπου μικρές αλληλουχίες DNA επαναλαμβάνονται στη σειρά ή μια αμέσως μετά την άλλη.



Μιτοχονδριακό DNA

Το σπέρμα δίνει μόνο mtDNA προέρχεται από το οποίο είναι μητρικής

Χρωμόσωμα Y

Μικρό χρωμόσωμα που προσδιορίζει το φύλο ενός ατόμου. Έμβρυα με χρωμόσωμα Y γίνονται αρσενικά. Έτσι, η γενετική πληροφορία του χρωμοσώματος Y είναι μόνο πατρικής προέλευσης.

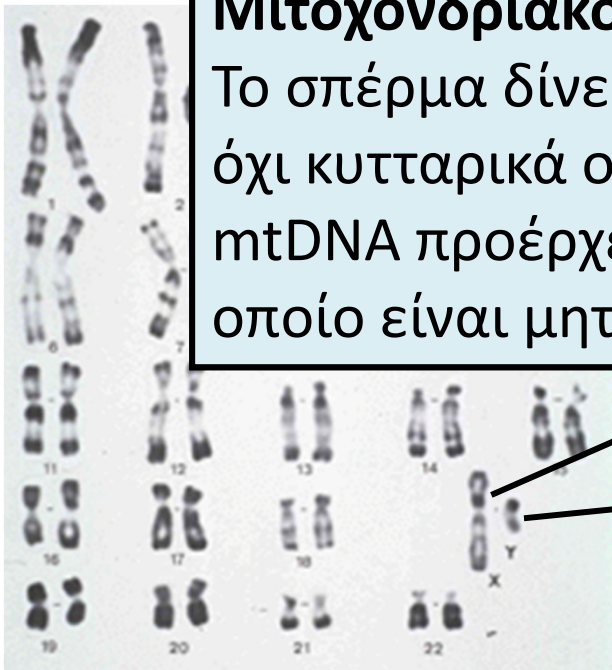
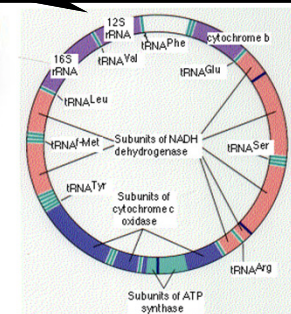


Figure 1

mtDNA



Μέθοδος RFLP

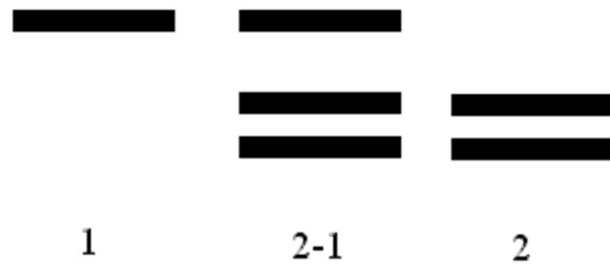
Βασίζεται στα ένζυμα περιορισμού

Variant 1
EcoRI does not cut

GCCGCATTCTA
CGGCGTAAGAT

Variant 2
EcoRI does cut

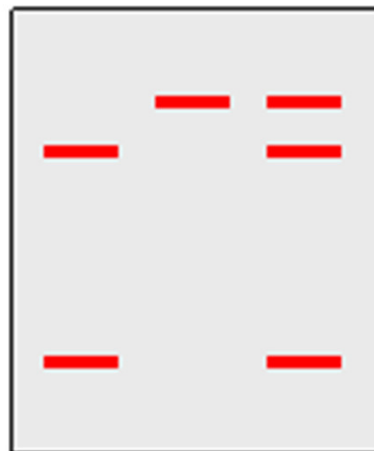
GCCGAATTCTA
CGGCTTAAGAT



Inheritance of RFLP markers

Genotypes

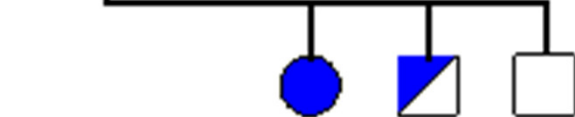
AA aa Aa



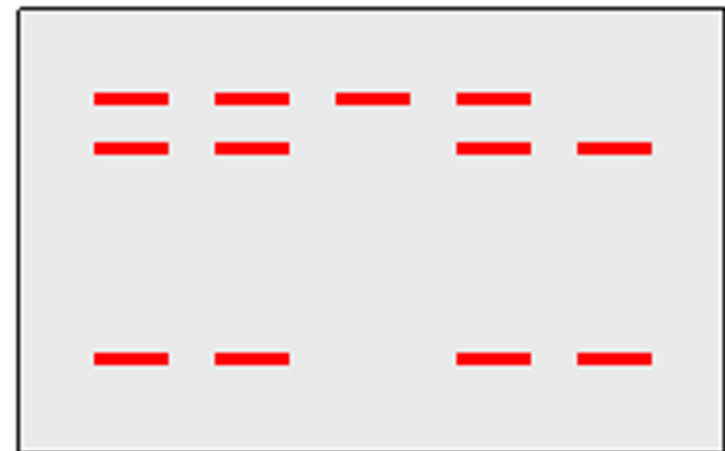
Parents



Siblings



Aa Aa aa Aa AA

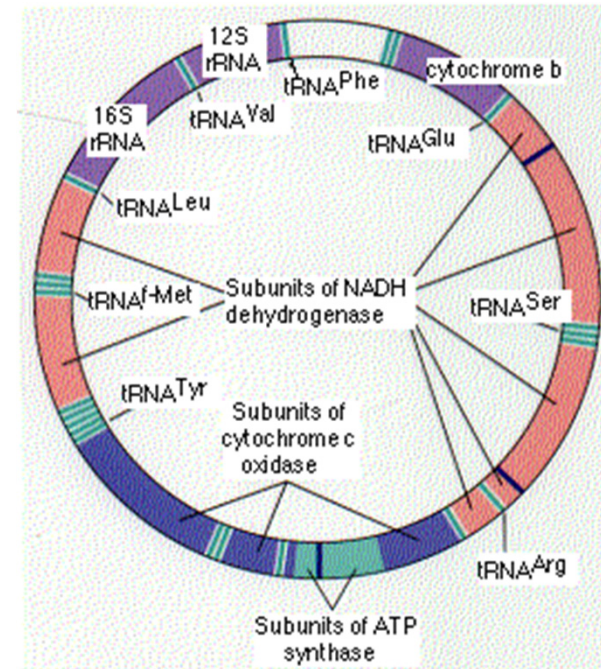


Μιτοχονδριακό DNA

15-20 Kb

37 γονίδια

13 mRNA

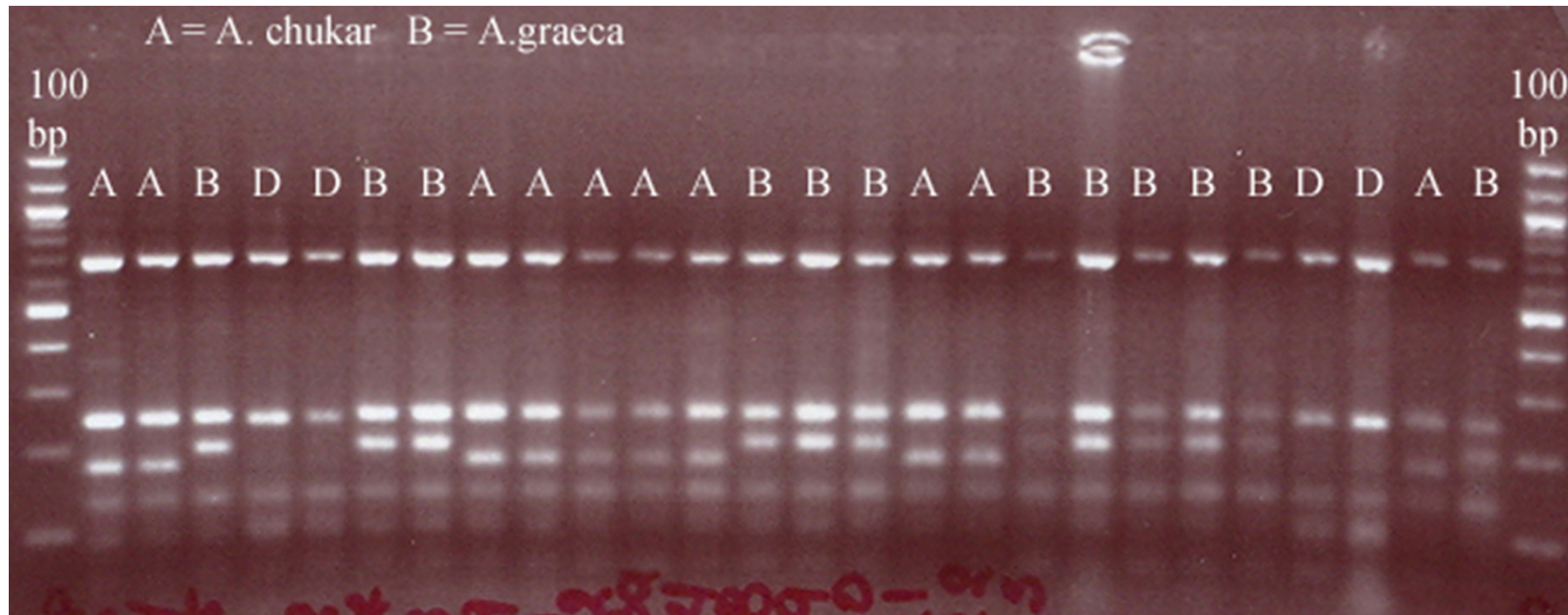


Συντηρημένη Δομή

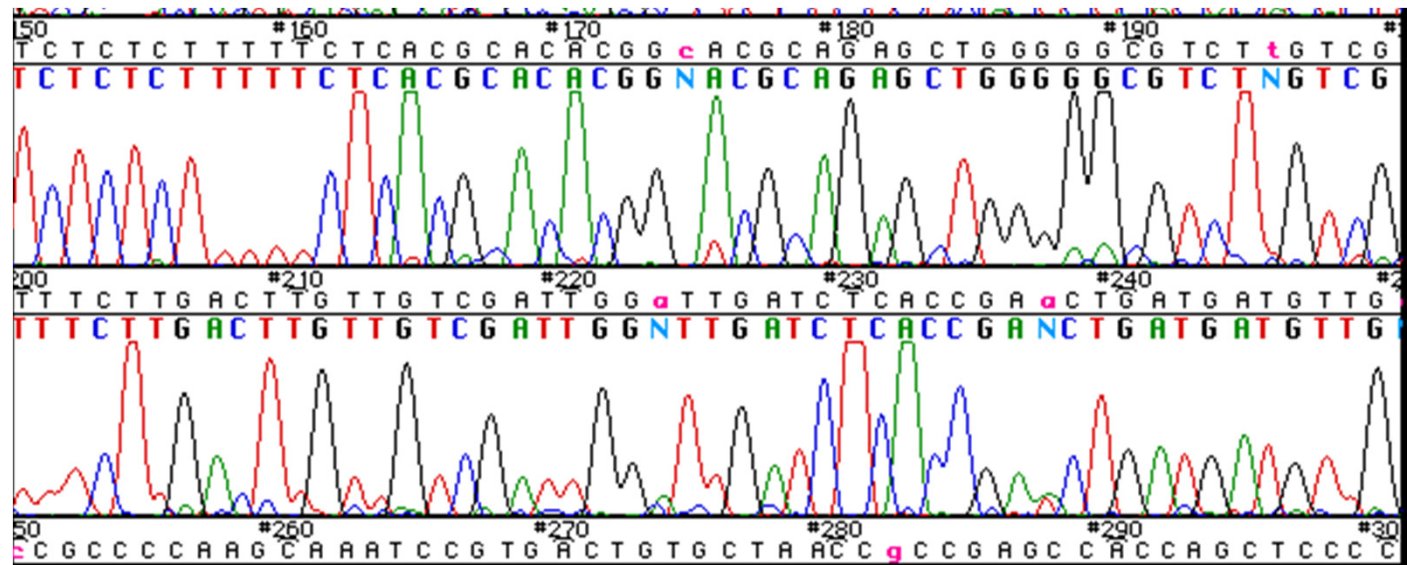
Σημαντικό Μοριακό Εργαλείο

- Γρήγορος ρυθμός μετάλλαξης
- Μητρική κληρονόμηση
- Απουσία ανασυνδυασμού
- Γρήγορη διαφοροποίηση
- Εύκολο στη χρήση

Ανάλυση MtDNA με χρήση

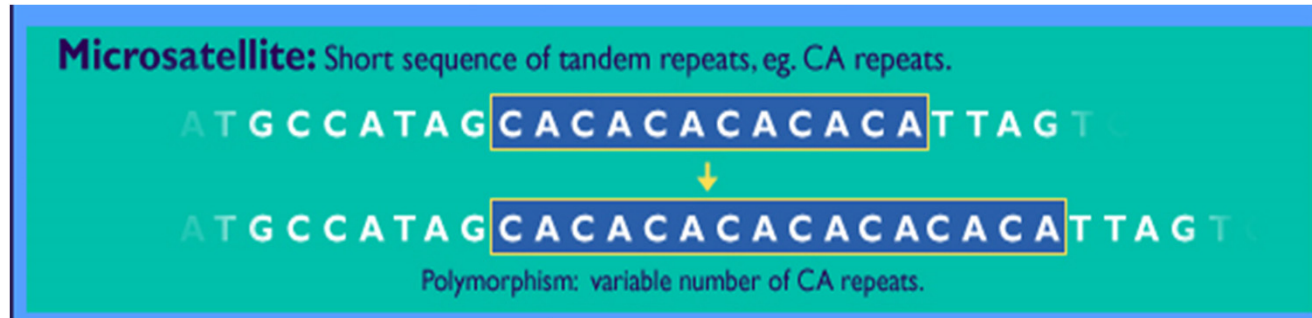


Αλληλούχισης
(Sequencing)

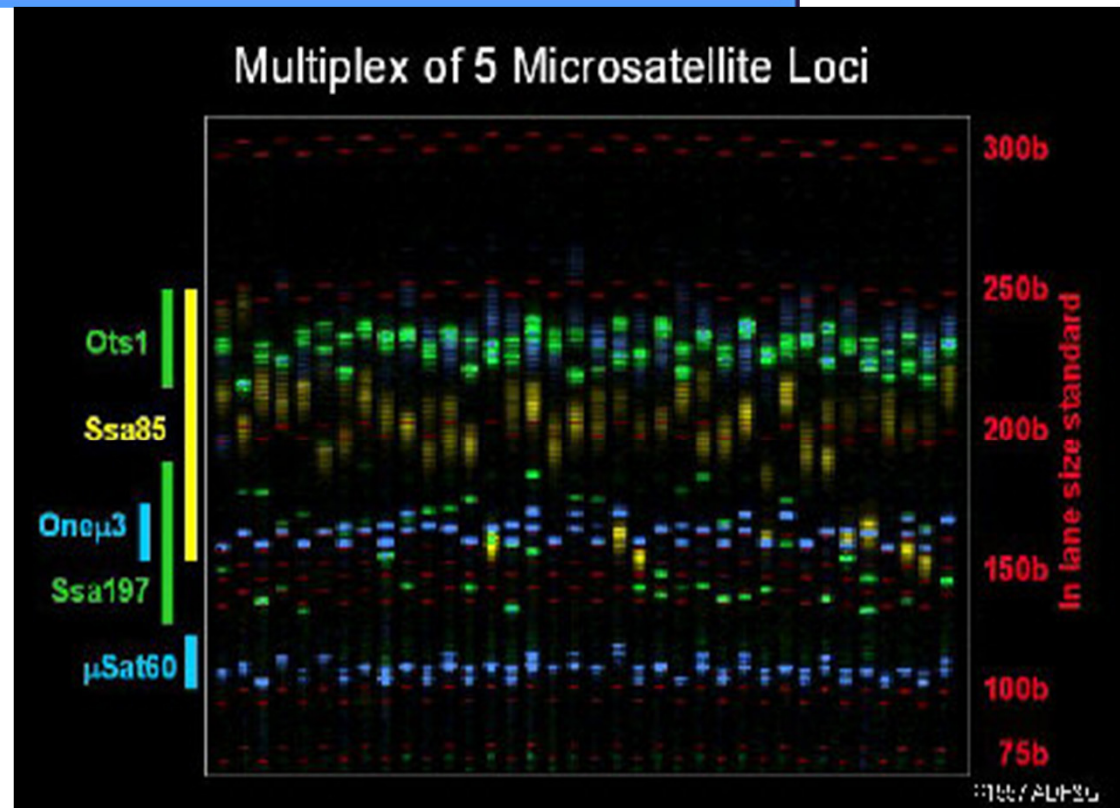


Μικροδορυφόροι (SSR – Simple Sequence Repeats)

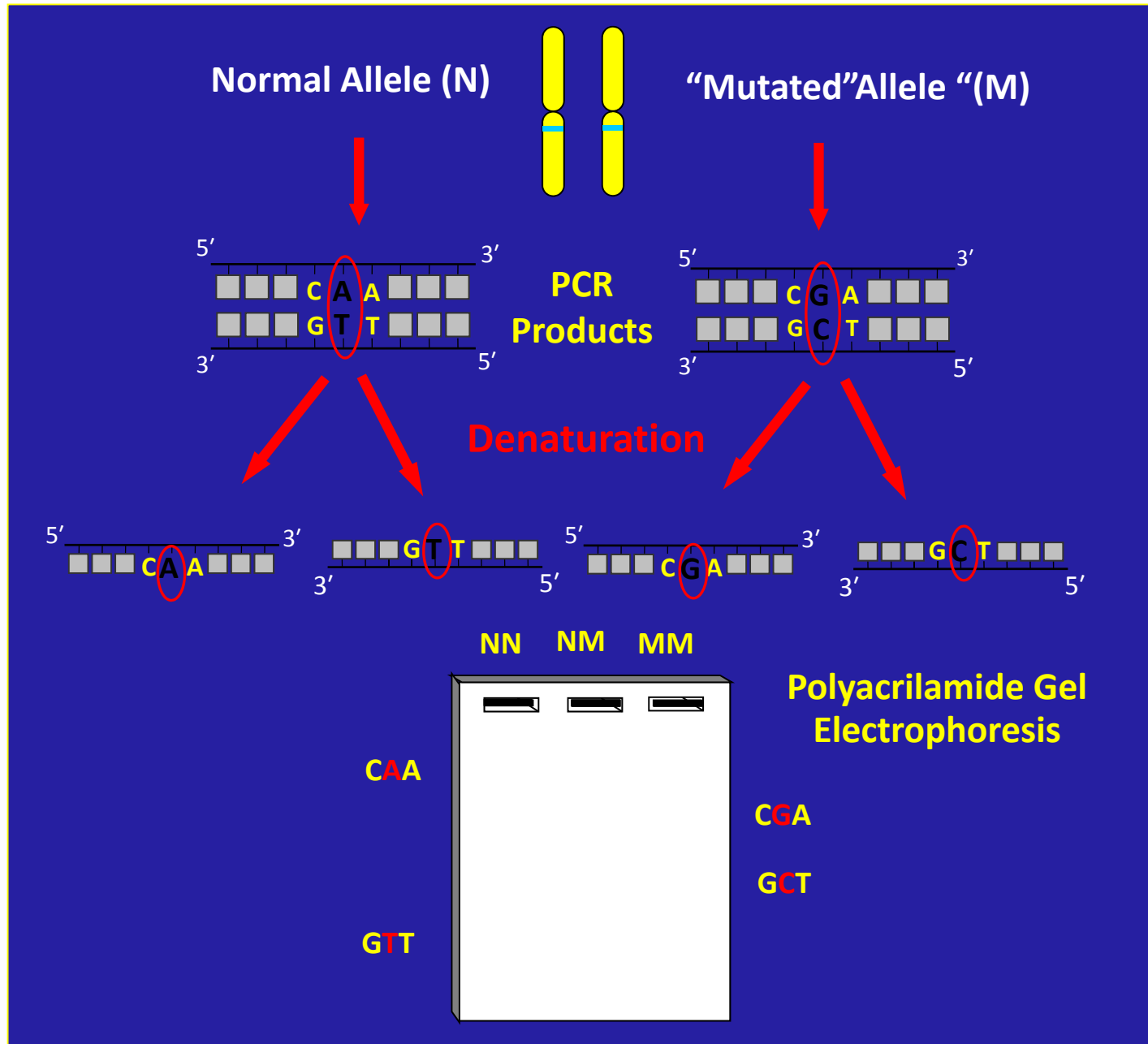
Οι μονάδες επανάληψης είναι συνήθως δι-, τρι-, τετρα-, πεντανουκλεοτίδια



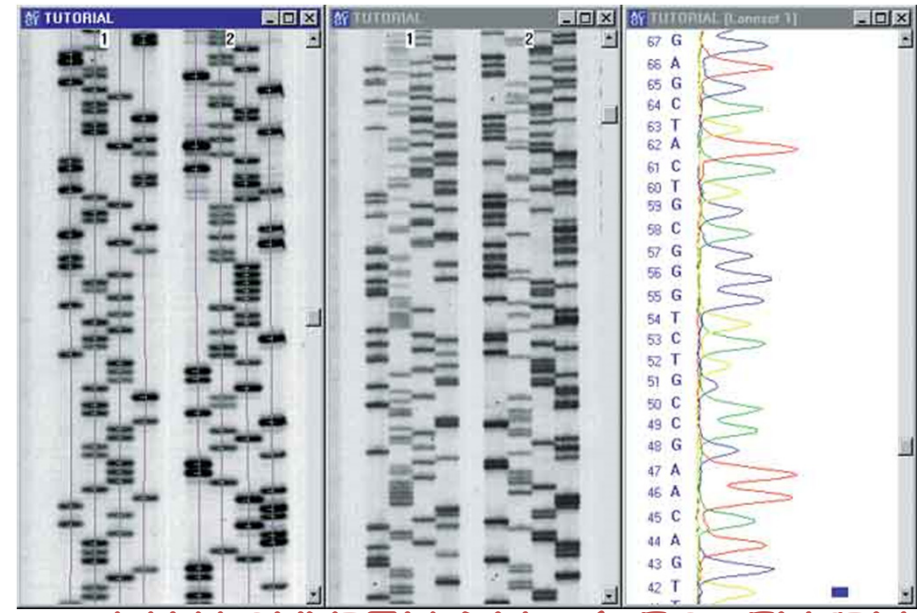
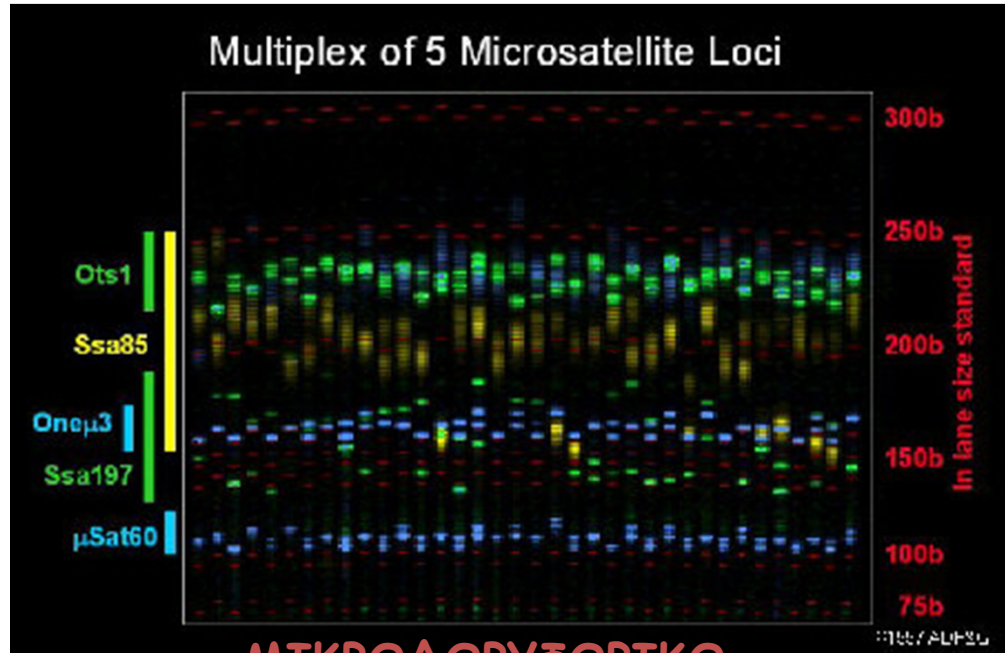
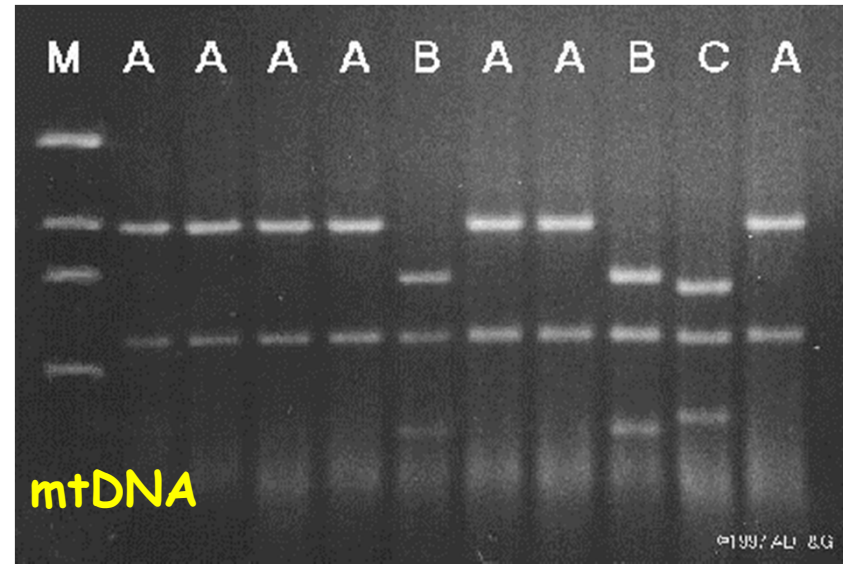
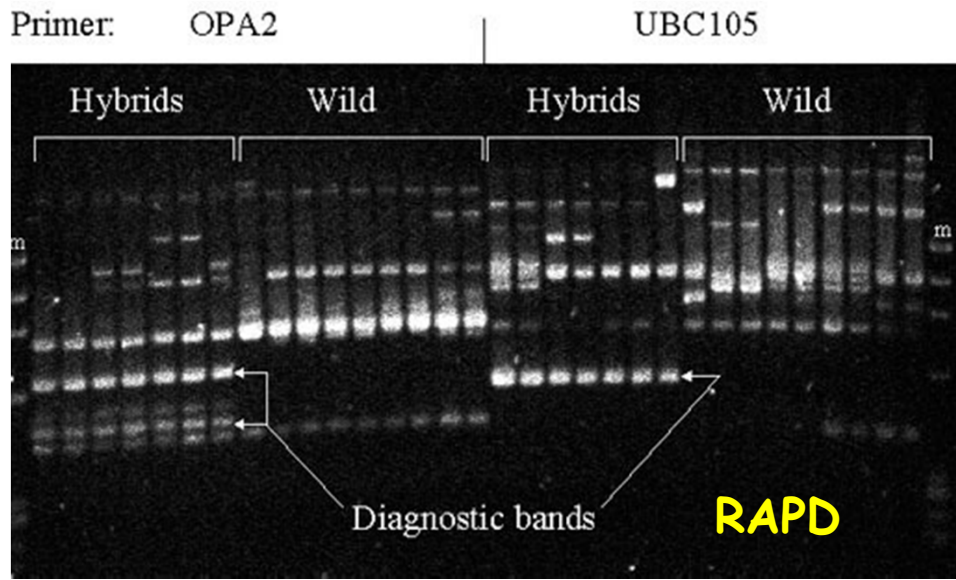
Με τη χρήση διαφόρων μικροδορυφορικών τόπων, μπορεί να παραχθεί ένα μοναδικό γενοτυπικό πρότυπο για κάθε άτομο, επιτρέποντας την ατομική ταυτοποίηση



SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism)



Γενετική ποικιλότητα στο πυρηνικό και το μιτοχονδριακό DNA



Μοριακά εργαλεία για αποκάλυψη απάτης

Γενετική ανάλυση κρέατος φάλαινας



Το πρόβλημα

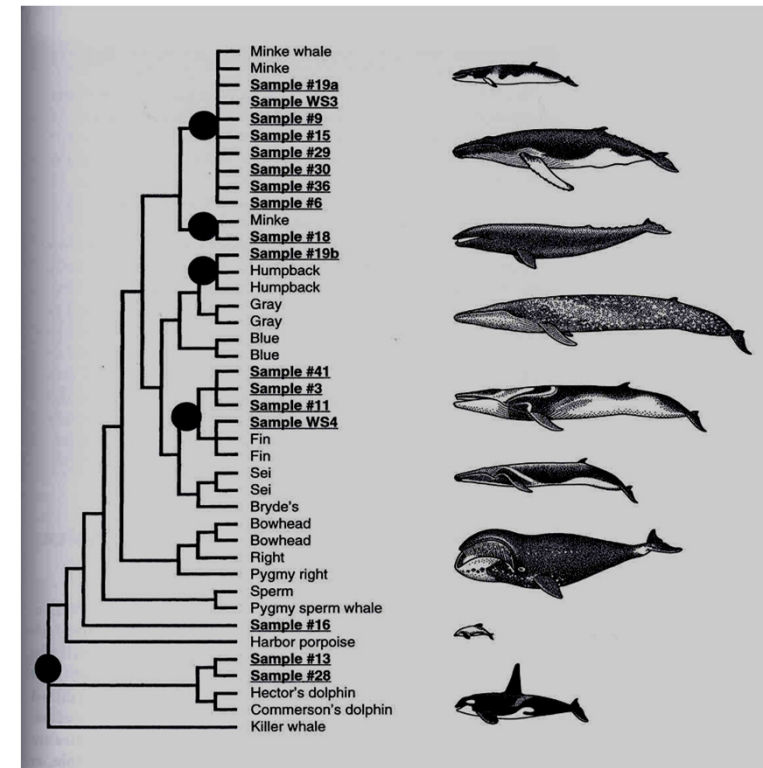
Παράνομη διακίνηση κρέατος στις παγκόσμιες αγορές
Παράνομη διακίνηση ιστών από προστατευόμενα είδη

Οι συνέπειες

Δραματική μείωση των πληθυσμών
Διεθνείς διαμάχες για την προστασία

Η λύση

Ταυτοποίηση είδους με mtDNA ανάλυση



Διάκριση διαφόρων φυλών χοίρων

Το πρόβλημα



X



Οι συνέπειες

Sus scrofa

Sus scrofa domestica

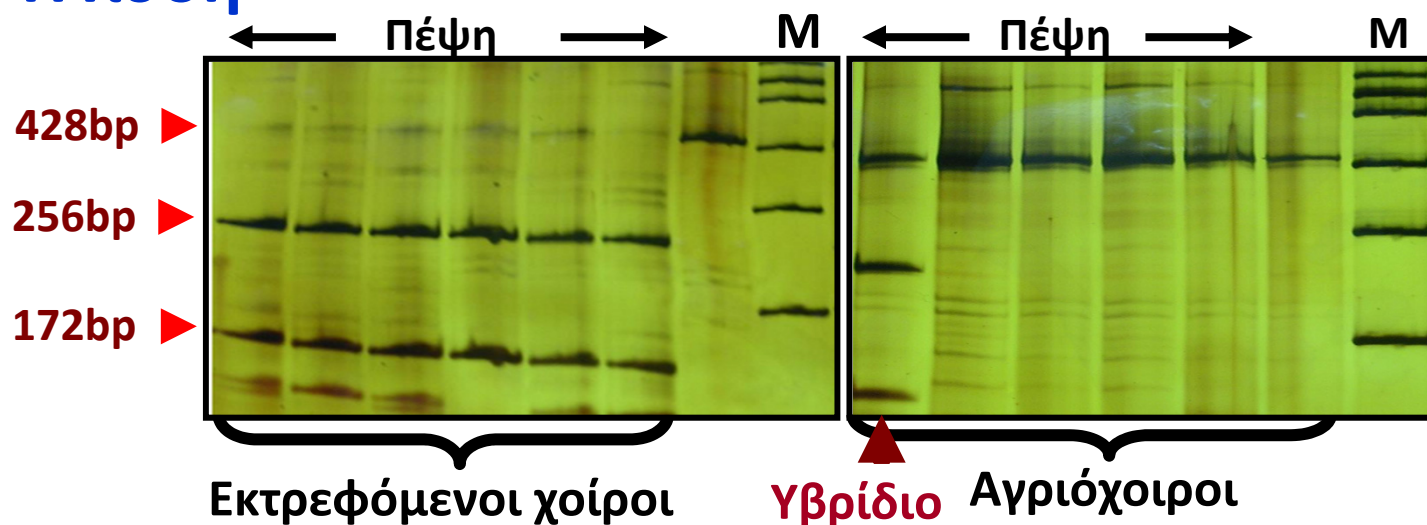
Υβρίδιο



Ανεξέλεγκτη εκτροφή αγριόχοιρων
Γενετική ρύπανση από εμπλουτισμούς
Διατροφική απάτη



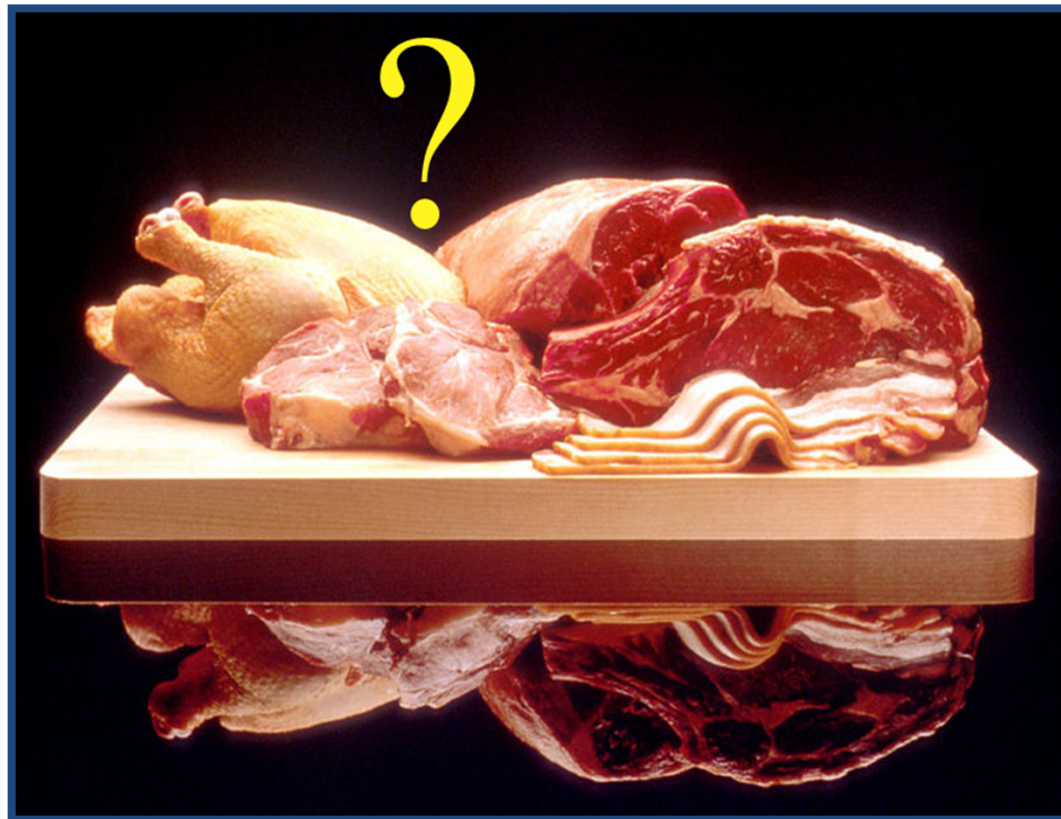
Η λύση



PCR-RFLP και
SSCP ανάλυση
του υποδοχέα της
μελανοκορτίνης
(MC1R)

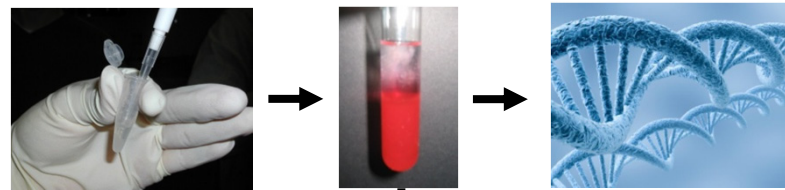
**Ανάπτυξη και Εφαρμογή Μοριακών Δεικτών για την
Ταυτοποίηση Ειδών Κρέατος στην Αλυσίδα
Εμπορίας τους**

ή πιο απλά: Ιχνηλασιμότητα τροφών

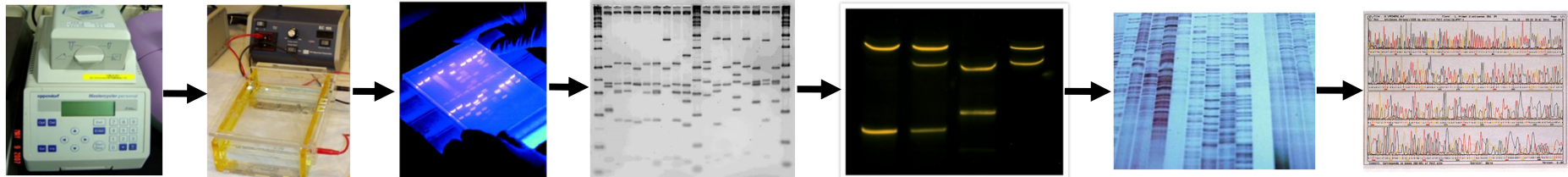


Ιχνηλασιμότητα τροφών

Τροφή (Κονσερβοποιημένη, επεξεργασμένη, ωμή, μαγειρεμένη)



Εξαγωγή και απομόνωση DNA



Επεξεργασία DNA (PCR, πέψη, ηλεκτροφόρηση, ανάλυση)



Ταυτοποίηση των ειδών που περιέχονται στο αρχικό επεξεργασμένο προϊόν