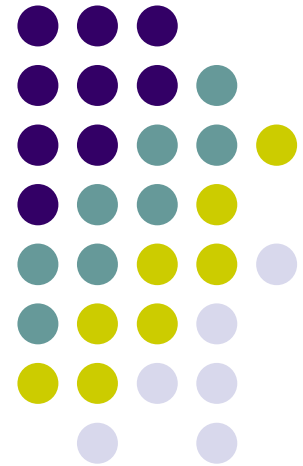


# Ηλεκτροφόρηση & Διαγνωστικές Εφαρμογές



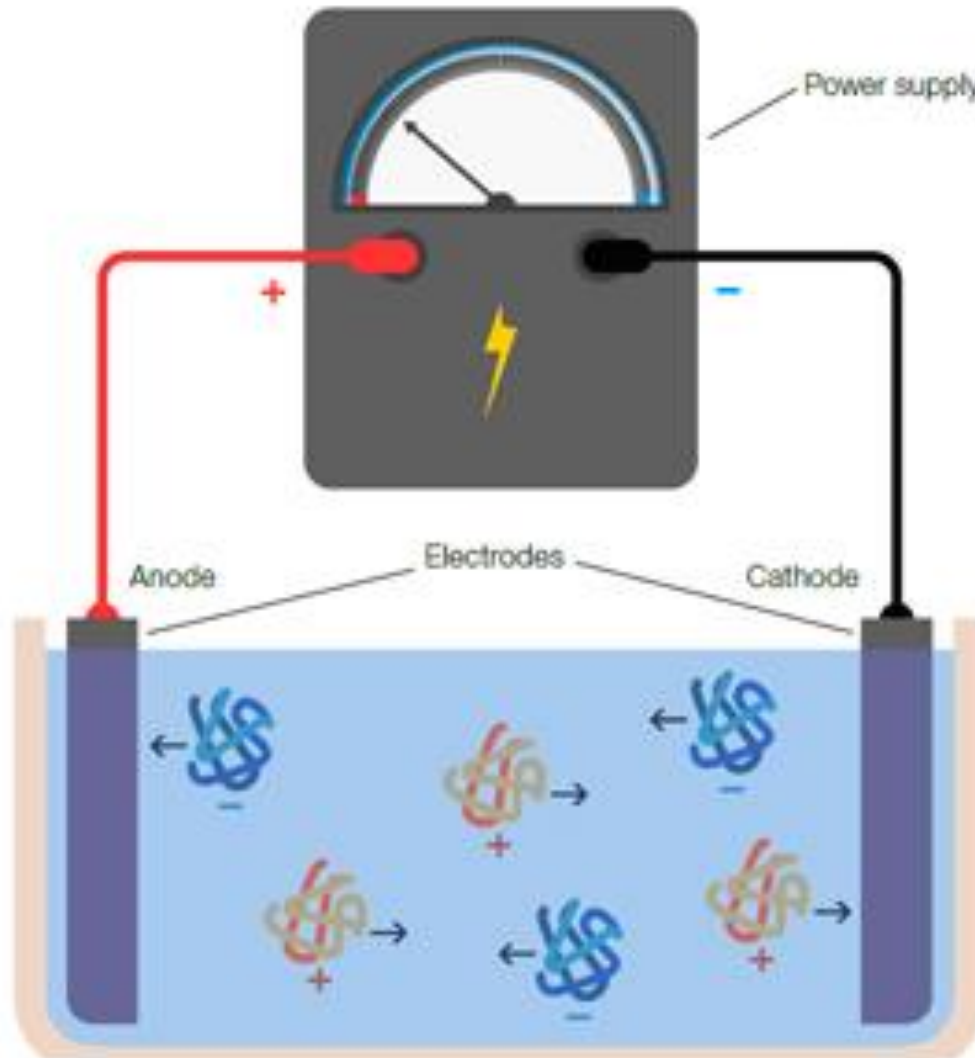
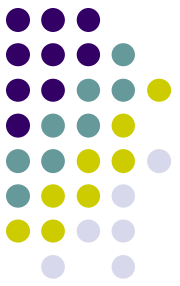
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

## *Πρωτεϊνών και DNA* στην Κτηνιατρική Επιστήμη

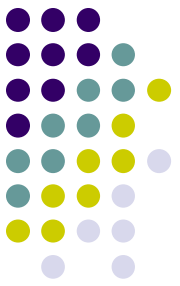


Τμήμα Κτηνιατρικής - Εργαστήριο Βιοχημείας

# Τι είναι ηλεκτροφόρηση;

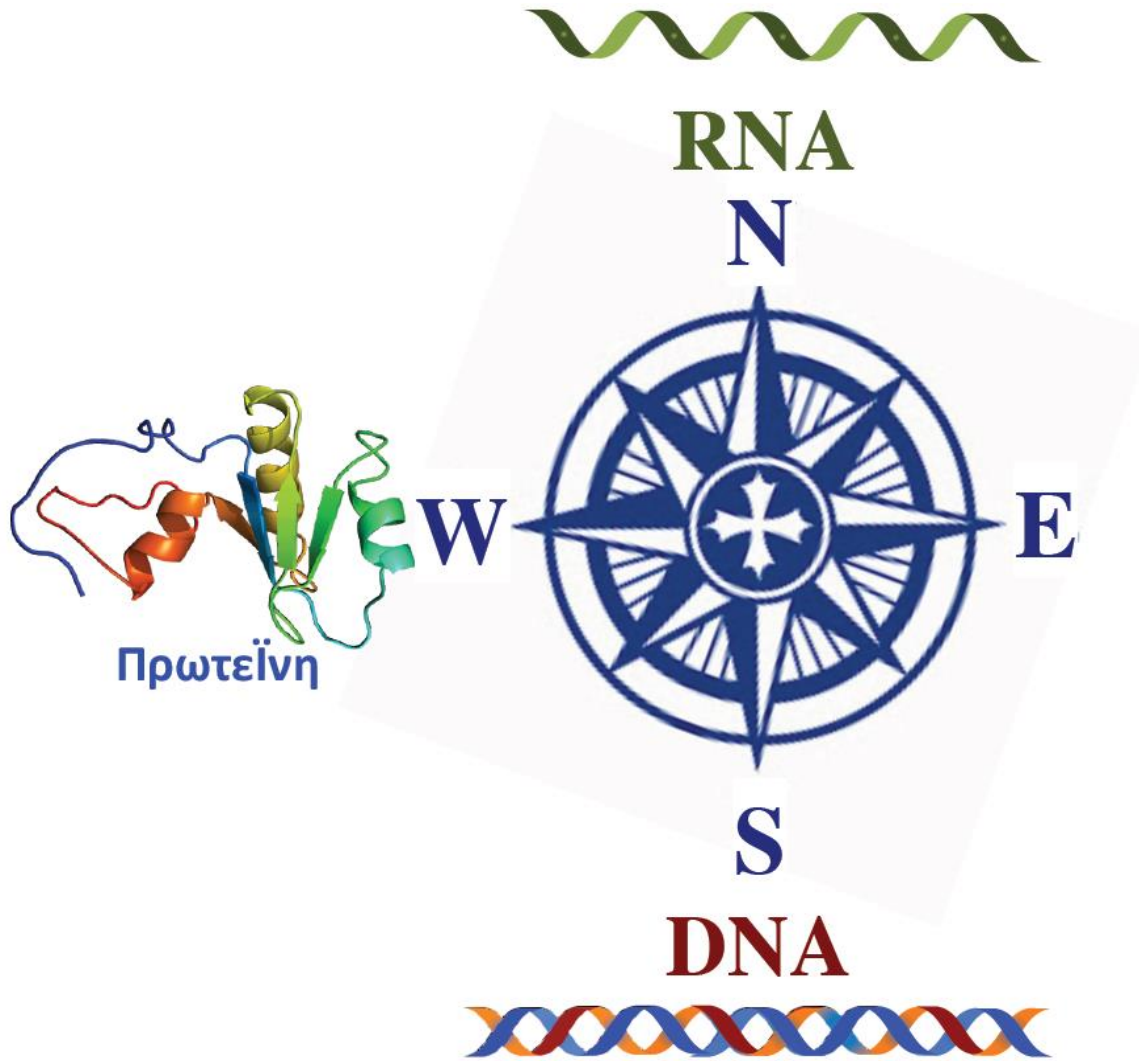
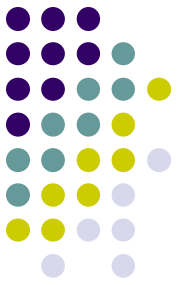


# Η κινητικότητα αυτή εξαρτάται από:

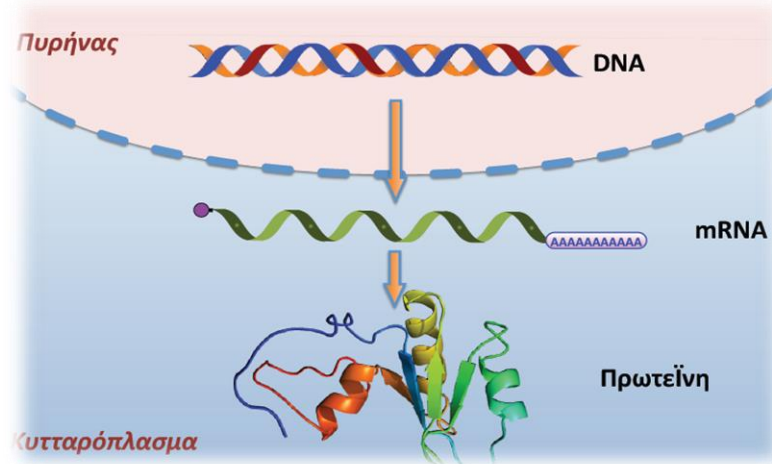


- το  $\rho_h$
- τη θερμοκρασία
- την ένταση του ηλεκτρικού πεδίου
- το μέγεθος και το σχήμα του βιομορίου
- το είδος του ηλεκτροφορητικού υλικού

$$\text{Κινητικότητα μορίου} = \frac{\left( \text{Εφαρμοζόμενη τάση} \right) \left( \text{Καθαρό φορτίο μορίου} \right)}{\text{Τριβή μορίου}}$$

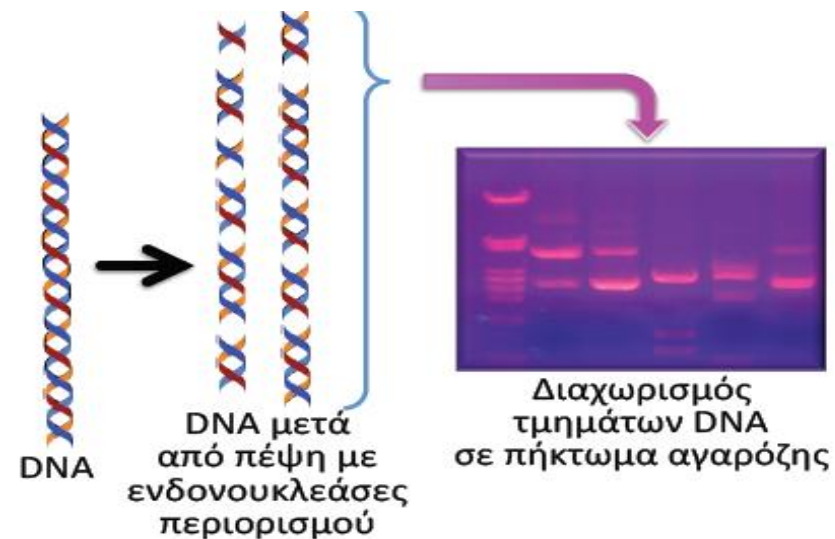


Εικόνα: Βασικές μέθοδοι ανάλυσης των νουκλεϊκών οξέων και των πρωτεϊνών

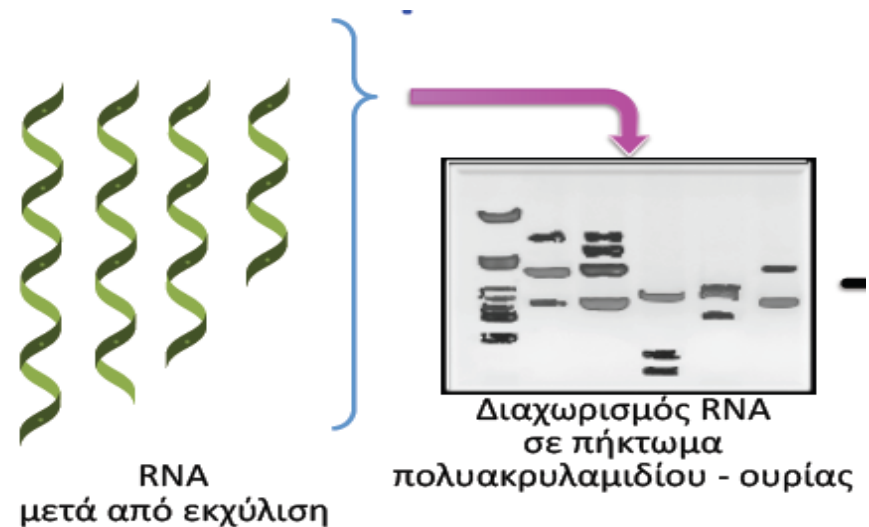


Οι βασικές μέθοδοι ανάλυσης των νουκλεϊκών οξέων και των πρωτεϊνών, αποτελούν:

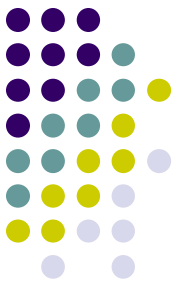
- Την Ανάλυση κατά Southern (S), όπου και γίνεται η ανάλυση του DNA
- Την Ανάλυση κατά Northern (N), όπου και γίνεται η ανάλυση του RNA
- Την ανάλυση κατά Western (W), όπου και γίνεται η ανάλυση των πρωτεϊνών



Ανάλυση κατά Southern: DNA (πήκτωμα αγαρόζης)



Ανάλυση κατά Northern: RNA (πήκτωμα πολυακρυλαμιδίου)

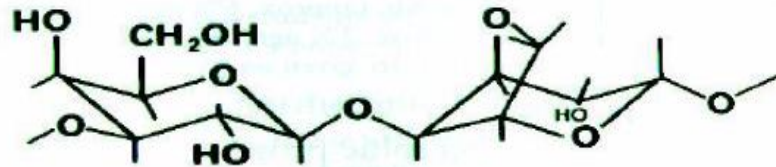
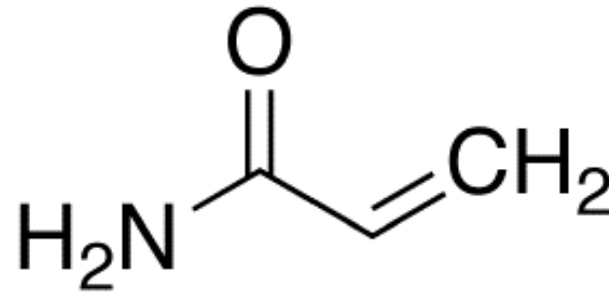


# Που γίνεται η ηλεκτροφόρηση;

- Η ηλεκτροφόρηση μπορεί να γίνει σε χαρτί, film και gel.

Όπου για το gel έχουμε :

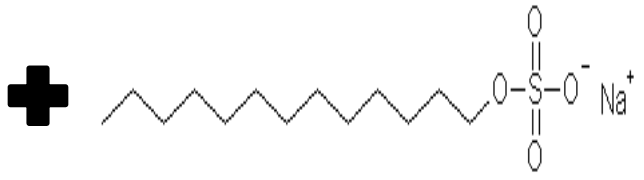
- την πηκτή πολυακρυλαμιδίου-πρωτείνες
- την πηκτή αγαρόζης-DNA





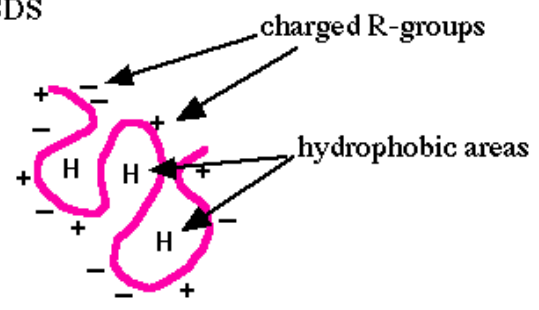
# SDS-PAGE (PolyAcrylamide Gel Electrophoresis )

Polyacrylamide gel

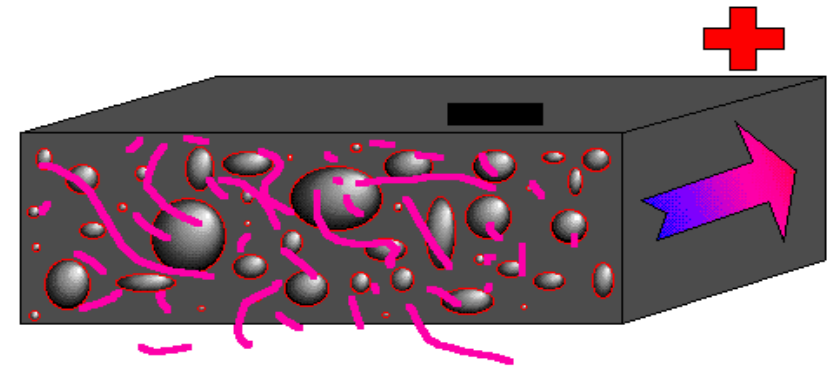
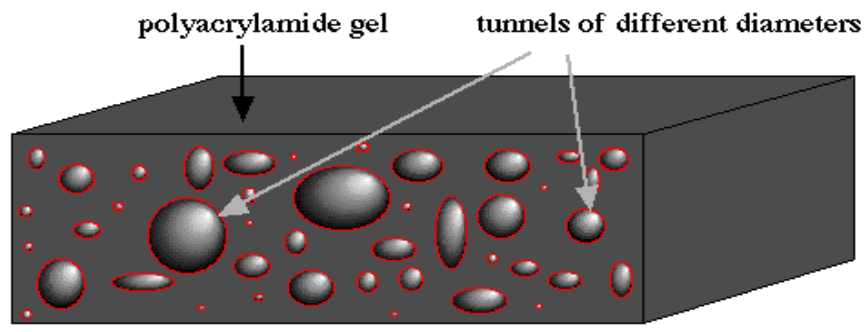


SDS PAGE  
electrophoresis

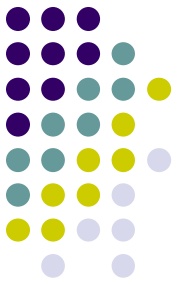
BEFORE SDS



AFTER SDS



# Διαδικασία Ηλεκτροφόρησης Πρωτεϊνών



- Αρχή Ηλεκτροφόρησης:

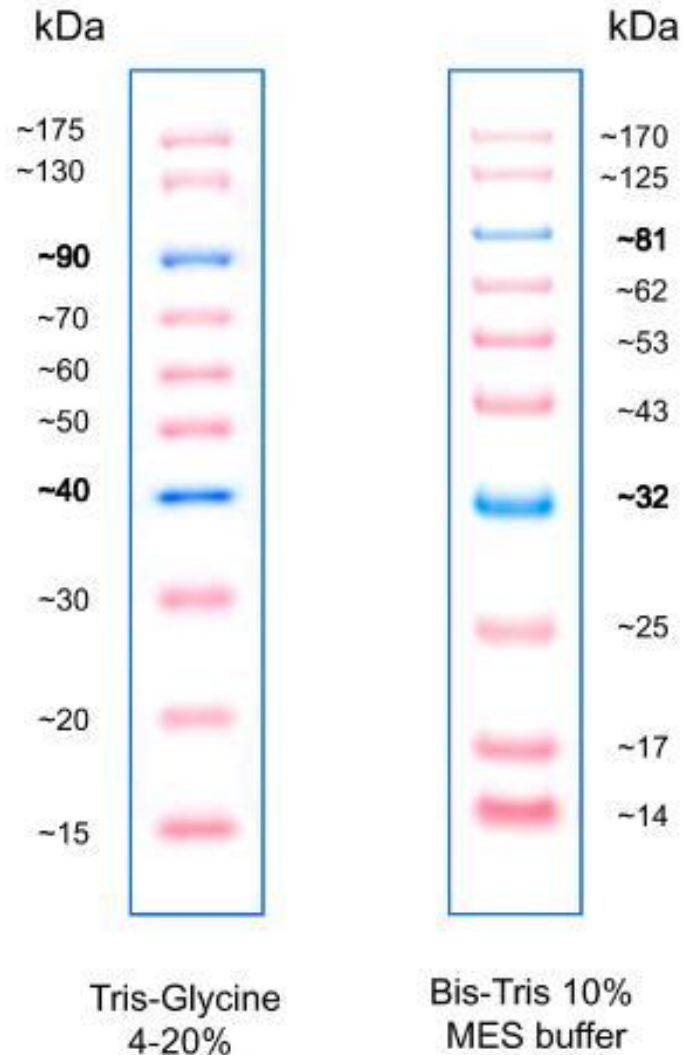
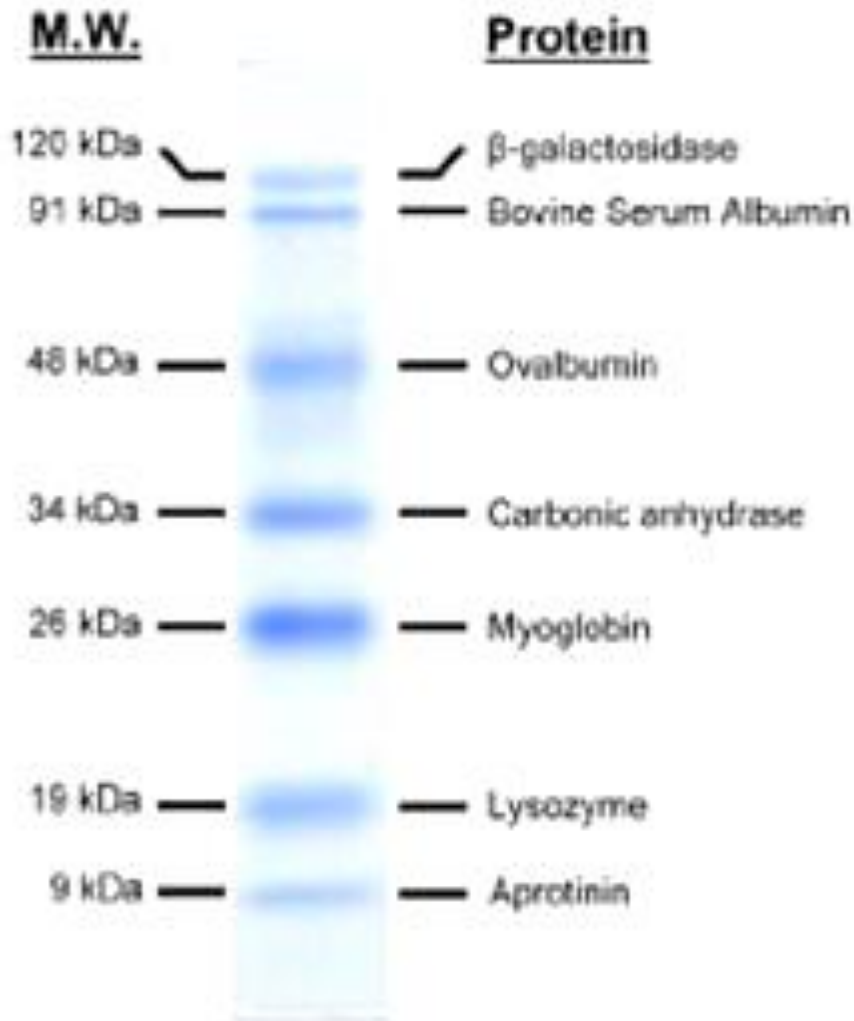
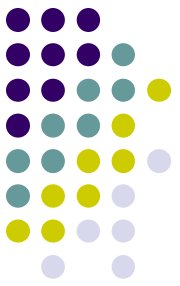
$$\text{Κινητικότητα μορίου} = \frac{(\text{εφαρμοσμένη τάση}) * (\text{καθαρό φορτίο μορίου})}{\text{τριβή μορίου}}$$

Μίγμα Πρωτεϊνών διαχωρίζεται, υπό την επίδραση ηλεκτρικού πεδίου, σε υδατικά διαλύματα, ανάλογα με:

- Φορτίο Πρωτεϊνών
- Μοριακό Βάρος Πρωτεϊνών
- Άλλες χαρακτηριστικές Ιδιότητες



# Μάρτυρες Ηλεκτροφόρησης Πρωτεϊνών



# Παρασκευή Πηκτών (SDS-PAGE)



## • Πηκτή Επιστοίβαξης

Αντιδραστήρια	Όγκος Πηκτής 6ml
Νερό (H <sub>2</sub> O)	4.1
30% Acrylamide Mix	1
Tris-Cl (1.0M, pH 6.8)	0.75
SDS (10%)	0.06
Ammonium Persulfate	0.06
<b>TEMED*</b>	0.006

## • Πηκτή Διαχωρισμού

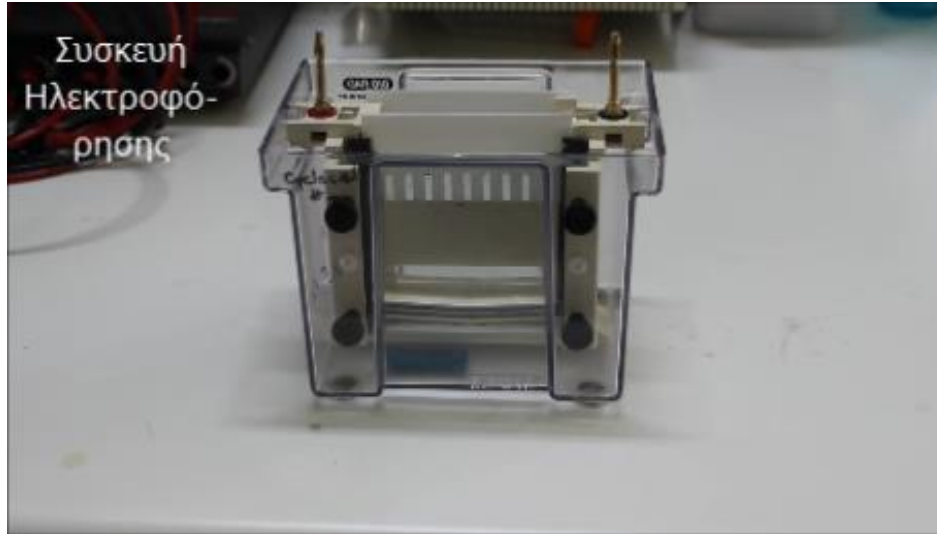
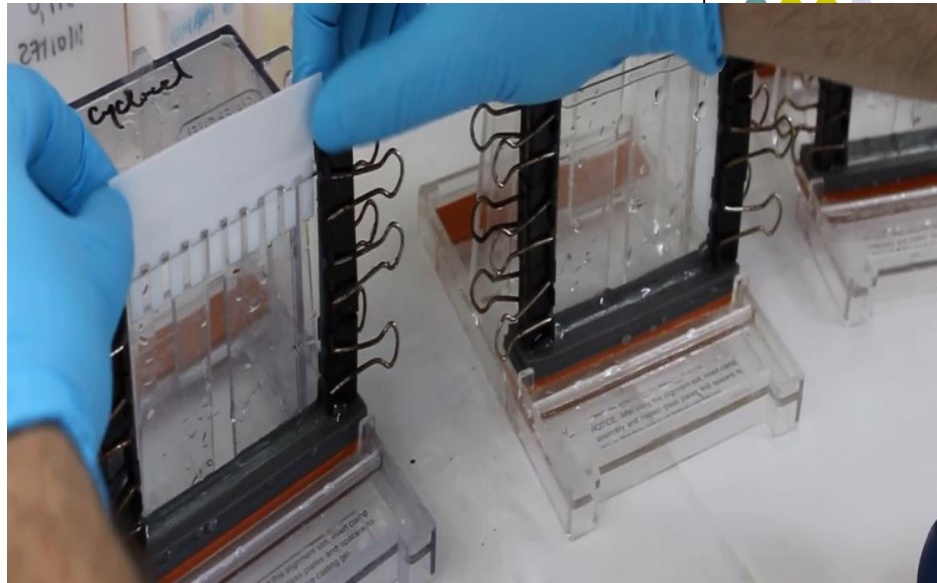
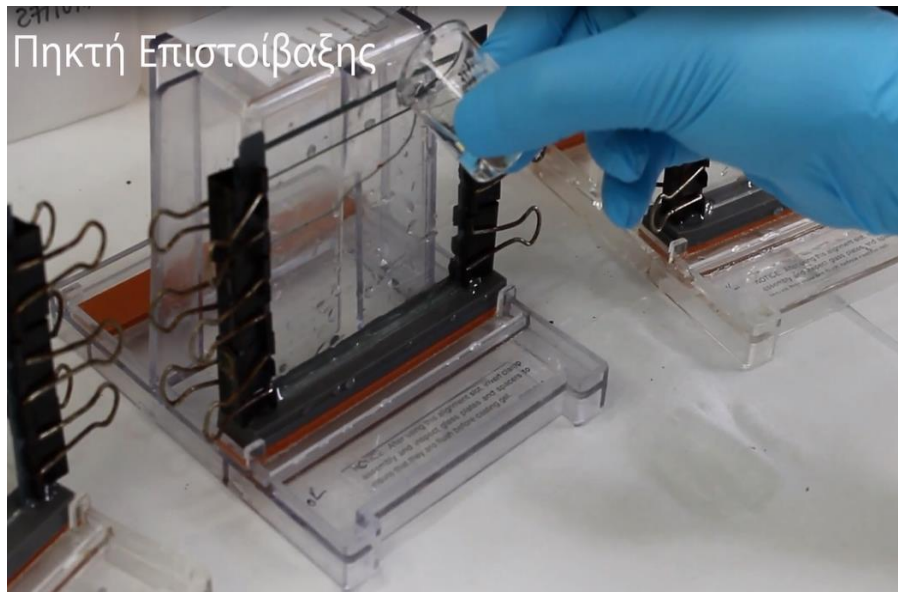
Αντιδραστήρια 12% Gel	Όγκος Πηκτής 20ml
Νερό (H <sub>2</sub> O)	6.6
30% Acrylamide Mix	8.0
Tris-Cl (1.5M, pH 8.8)	5.0
SDS (10%)	0.2
Ammonium Persulfate	0.2
<b>TEMED*</b>	0.008



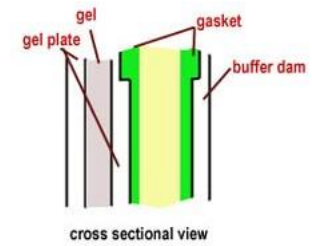
## • Διάλυμα Επιστοίβαξης των Δειγμάτων

(Προκύπτει από τη Πηκτή Επιστοίβαξης, όπου νωρίτερα προστίθεται διάλυμα προπανόλης, για να μην έρθει σε επαφή με τον αέρα το gel, και να αποφευχθεί ο πολυμερισμός του ακρυλαμιδίου.)

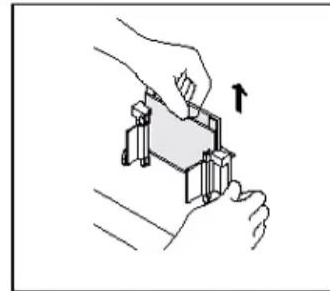
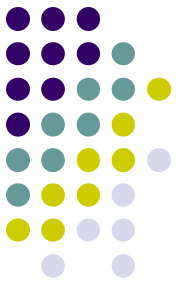
**\*Το TEMED προστίθεται σε κάθε διάλυμα, λίγο πριν αυτό προστεθεί στη Πηκτή.**



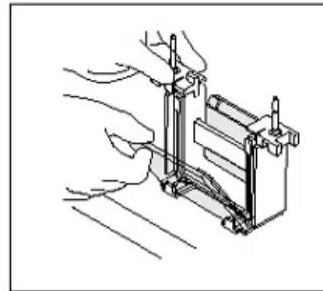
# Στάδια Ηλεκτροφόρησης



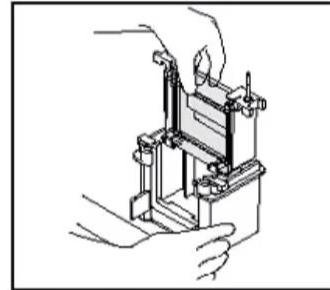
Modified from Bio-Rad's source



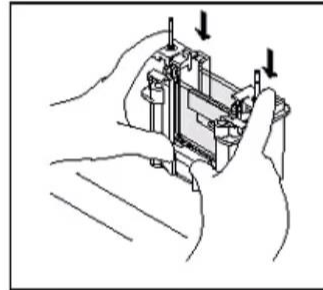
5a. Remove the Gel Cassette Sandwich from the Casting Frame.



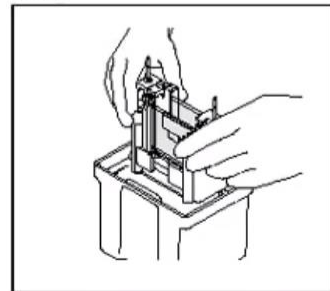
5b. Place Gel Cassette Sandwich into the Electrode Assembly with the Short Plate facing inward.



5c. Slide Gel Cassette Sandwiches and Electrode Assembly into the clamping frame.

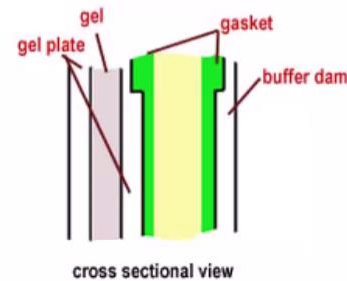


5d. Press down on the Electrode Assembly while closing the two cam levers of the Clamping Frame.



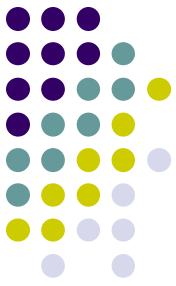
5e. Lower the Inner Chamber into the Mini Tank.

Fig. 5. Mini-PROTEAN 3 assembly.

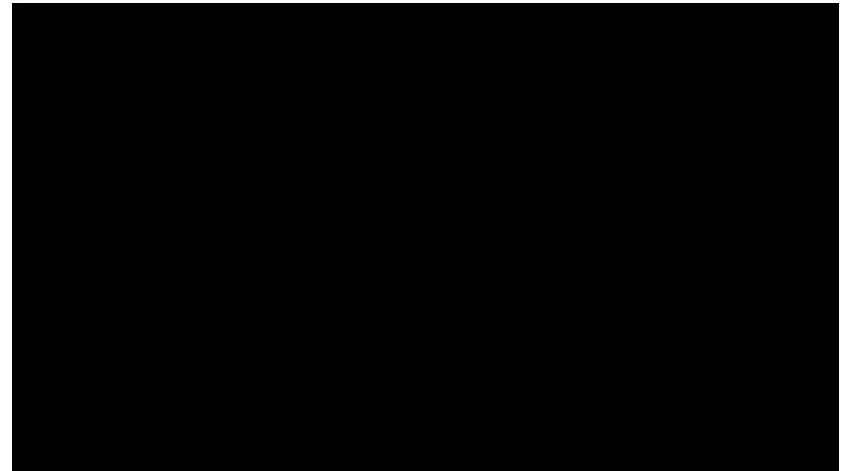
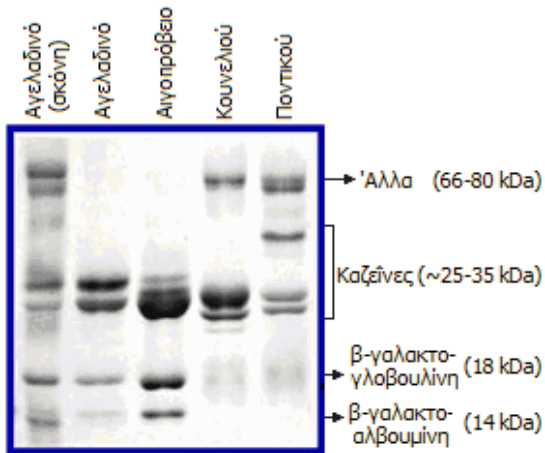


Modified from Bio-Rad's source

# Χρώση του Πηκτώματος



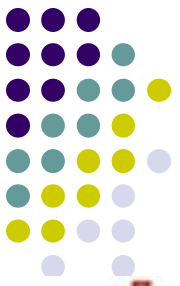
- i. Αφαίρεση του Πηκτώματος, μετά το τέλος της ηλεκτροφόρησης, από τη συσκευή.
- ii. Τοποθέτηση του Πηκτώματος στο πλαίσιο πηκτής (gel frame).
- iii. Χρώση του Πηκτώματος (Αντίδραση Πρωτεϊνών με τη Χρωστική Coomassie Brilliant R-250).



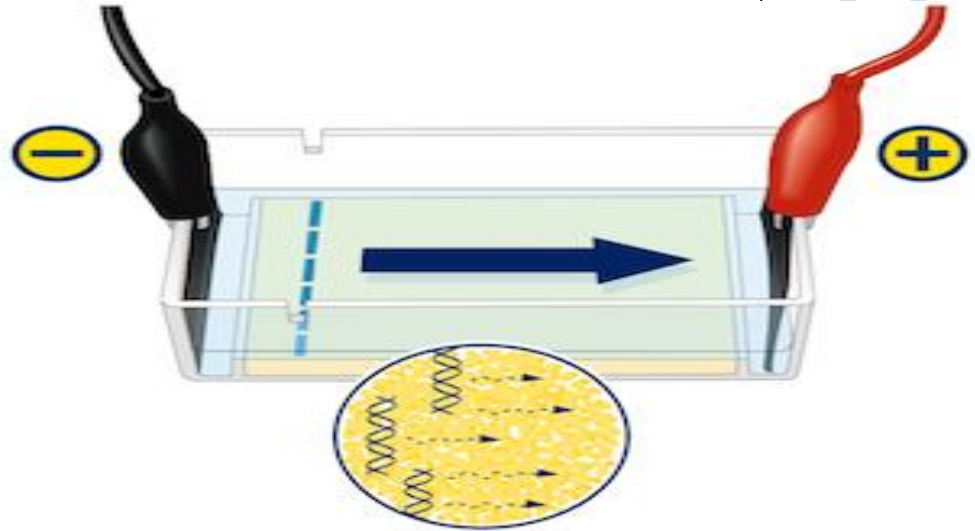
Απεικόνιση του αποτελέσματος.

Τυπικό ηλεκτροφερόγραμμα πρωτεϊνών διαφόρων ειδών γάλακτος μετά την "εμφάνιση" (οι "ελαφρύτερες" πρωτεΐνες βρίσκονται στο κάτω μέρος)

# Διαδικασία Ηλεκτροφόρησης DNA και RNA



➔ Μέθοδος διαχωρισμού κατά την οποία ηλεκτρικά φορτισμένα μακρομόρια όπως πρωτεΐνες ή νουκλεϊκά οξέα κινούνται σε υγρό μέσο υπό την επίδραση ηλεκτρικού πεδίου.



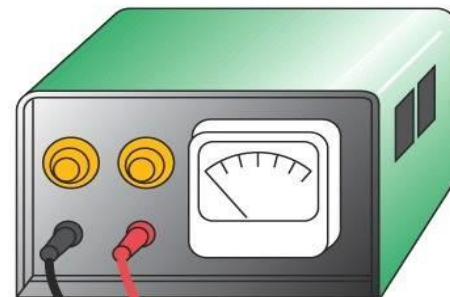
➔ Μόρια πρωτεϊνών ή νουκλεοξέων που διαφέρουν ως προς το:

1. Ηλεκτρικό φορτίο
2. Μέγεθος
3. Σχήμα

Κινούνται με διαφορετικές ταχύτητες στο υγρό μέσο μεταξύ της καθόδου (-) και της ανόδου (+) και έτσι επέρχεται ο διαχωρισμός.



Τροφοδοτικό

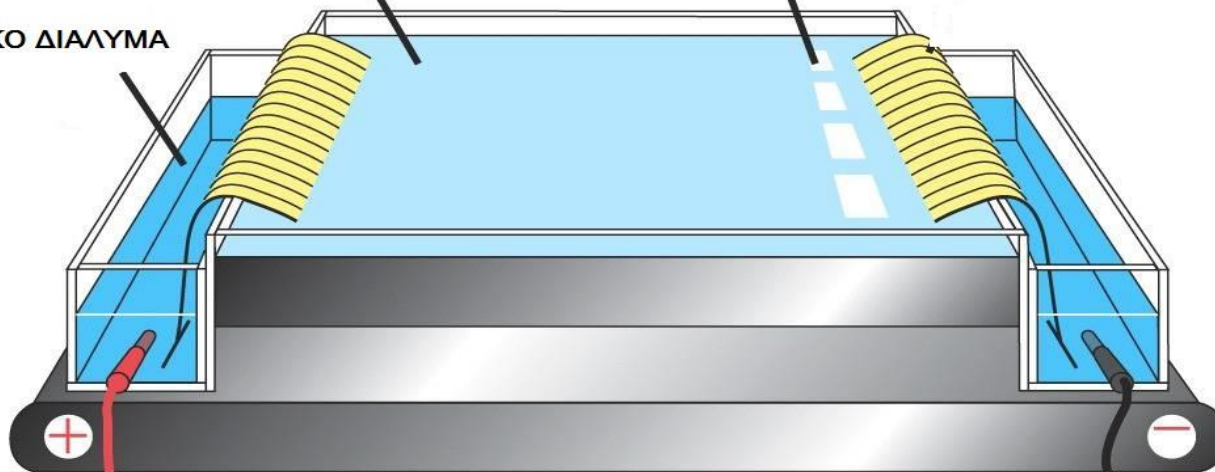


ΠΗΓΑΔΙΑ ΟΠΟΥ  
ΤΟΠΟΘΕΤΕΙΤΑΙ ΤΟ  
ΔΕΙΓΜΑ

Υγρό μέσο

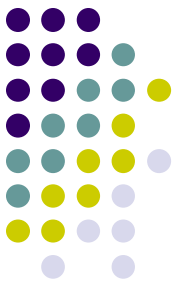
ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟ ΔΙΑΛΥΜΑ

ΑΝΟΔΟΣ



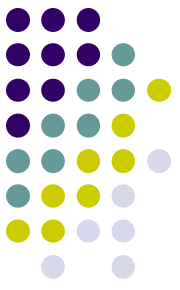
ΚΑΘΟΔΟΣ

# Ηλεκτροφόρηση νουκλεϊκών οξέων



- ⇒ Το DNA και RNA είναι αρνητικά φορτισμένα.
- ⇒ Η ταχύτητα που αναπτύσσουν τα νουκλεϊκά οξέα στο υγρό μέσο είναι ανάλογη του φορτίου τους, του σχήματός τους και του μήκους τους.
- ⇒ Τα μικρά μόρια νουκλεϊκών οξέων κινούνται ΠΙΟ γρήγορα από τα μεγάλα.
- ⇒ Χρησιμοποιούνται διάφορα ηλεκτροφορητικά μέσα ανάλογα με το μέγεθος των τμημάτων των νουκλεϊκών οξέων του θέλουμε να αναλύσουμε.





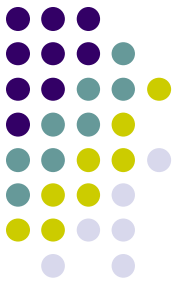
## *Ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης:*

Σε δείγματα του DNA που θέλουμε να αναλύσουμε μεγέθους 100 ζεύγη βάσεων έως αρκετές χιλιάδες ζεύγη βάσεων.

## *Ηλεκτροφόρηση σε πηκτή πολυακρυλαμίδης:*

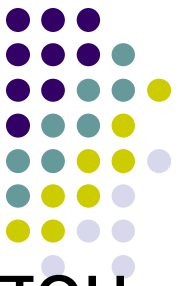
- Μικρά τμήματα DNA -δεκάδων έως εκατοντάδων βάσεων- ακόμα και όταν αυτά διαφέρουν ακόμα και κατά 1 νουκλεοτίδιο
- όταν θέλουμε να αναλύσουμε τμήματα RNA.

# Ρυθμιστικό διάλυμα ηλεκτροφόρησης



Τα ρυθμιστικά διαλύματα που χρησιμοποιούμε κατά την τεχνική ηλεκτροφόρησης των νουκλειικών οξέων είναι:

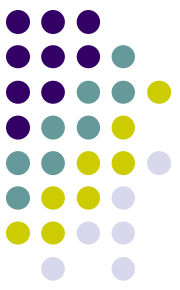
- **TAE** (Tris-Acetate-EDTA)
- **TBE** (Tris-Borate-EDTA)
- Η ιοντική ισχύς του ρυθμιστικού διαλύματος επηρεάζει την ταχύτητα κίνησης.
- Αύξηση της ιοντικής ισχύος του ρυθμιστικού διαλύματος δίνει καλύτερα διαχωριζόμενα κλάσματα.



# Ηλεκτροφορηση σε πηκτή αγαρόζης

- Η αγαρόζη είναι ένας πολυσακχαρίτης που χρησιμοποιείται με την μορφή πηκτώματος στην τεχνική της ηλεκτροφόρησης.
- Το πήκτωμα αγαρόζης είναι σε μορφή διαλύματος στους  $100^{\circ}\text{C}$  και αρχίζει να πήζει περίπου στους  $45^{\circ}\text{C}$ .

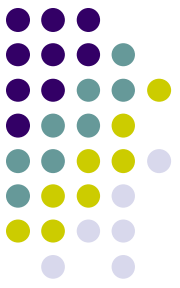
# Ηλεκτροφορηση σε πηκτή αγαρόζης



➤ Η περιεκτικότητα του πηκτώματος σε αγαρόζη κυμαίνεται από 0,6-3% καθορίζοντας έτσι το μέγεθος των πόρων του. Σε μικρά τμήματα DNA χρησιμοποιούμε υψηλό ποσοστό αγαρόζης ενώ σε μεγάλα χαμηλότερο ποσοστό έτσι ώστε να μην παρεμποδίζεται στερεοχημικά η μετακίνηση των μεγάλων μακρομορίων στους πόρους του πηκτώματος.

➤ Γενικά τα τμήματα DNA μεγέθους 100 ζεύγη βάσεων έως αρκετές χιλιάδες ζεύγη βάσεων διαχωρίζονται αποτελεσματικά σε πήκτωμα αγαρόζης 1%.

# Πλεονεκτήματα ηλεκτροφόρησης DNA σε πηκτή αγαρόζης



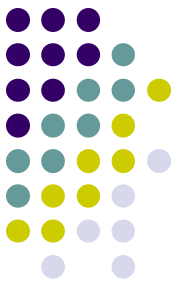
Απλή, γρήγορη τεχνική

Η πηκτή αγαρόζης παρεμποδίζει την τυχαία διάχυση των βιομορίων

Τμήματα DNA διαφορετικού μήκους και μεγέθους γίνονται ορατά με την προσθήκη χρωστικής.

Δυνατότητα ανίχνευσης τμήματος DNA ακόμα και 1 ng με την βοήθεια ακτινοβολίας UV

# Παράγοντες που επηρεάζουν την ηλεκτροφόρηση



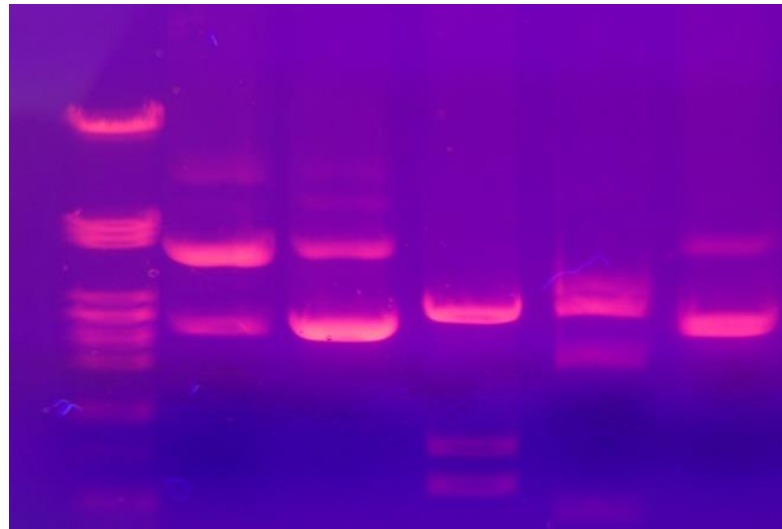
- Ένταση ηλεκτρικού πεδίου
- Θερμοκρασία
- Είδος του ηλεκτροφορητικού μέσου
- Είδος ρυθμιστικού διαλύματος
- pH
- Μέγεθος και σχήμα μακρομορίου

# Ανίχνευση DNA στο ηλεκτροφόρημα



➔ Για την ανίχνευση του DNA σε ηλεκτροφόρημα, χρησιμοποιούμε χρωστικές που προσδένονται στο DNA όπως για παράδειγμα το βρωμιούχο αιθίδιο. Με αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνεται η χρώση των τμημάτων του DNA στο πήκτωμα.

➔ Με την έκθεση του πηκτώματος σε UV ακτινοβολία τα τμήματα του DNA έχουν εμφάνιση φωτεινών γραμμών και κάθε μια απ' αυτές αντιστοιχεί σε τμήμα DNA συγκεκριμένου μεγέθους.

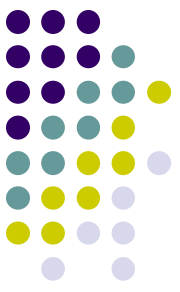


# Απομόνωση πλασμιδιακού DNA από το βακτήριο *Escherichia coli*



- Κάποια βακτήρια περιέχουν πλασμίδια τα οποία είναι μικρά δίκλινα κυκλικά μόρια DNA.
- Αντιγράφονται ανεξάρτητα από το χρωμοσωμικό DNA μέσα σε ένα βακτήριο.
- Μέγεθος από 1~1000Kb
- Αριθμός σε ένα βακτήριο ποικίλλει από 1-μερικές εκατοντάδες
- Αποτελούν σημαντικό εργαλείο στην τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA ως φορείς κλωνοποίησης.





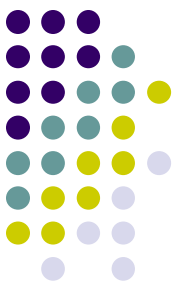
# Παρασκευή gel αγαρόζης 1%

Αναμιγνύουμε σε μια κωνική φιάλη:

- 50ml TBE
- 0,5gr αγαρόζης

Θερμαίνουμε το μίγμα μέχρι σημείο βρασμού

- Προσθήκη 5ml χρωστικής όταν πέσει η θερμοκρασία του μίγματος



Αφού ολοκληρωθεί:

➤ Η πέψη του πλασμιδιακού DNA από ένζυμα περιορισμού

➤ Η πήξη του gel αγαρόζης

Μπορούμε να ξεκινήσουμε την ηλεκτροφόρηση.

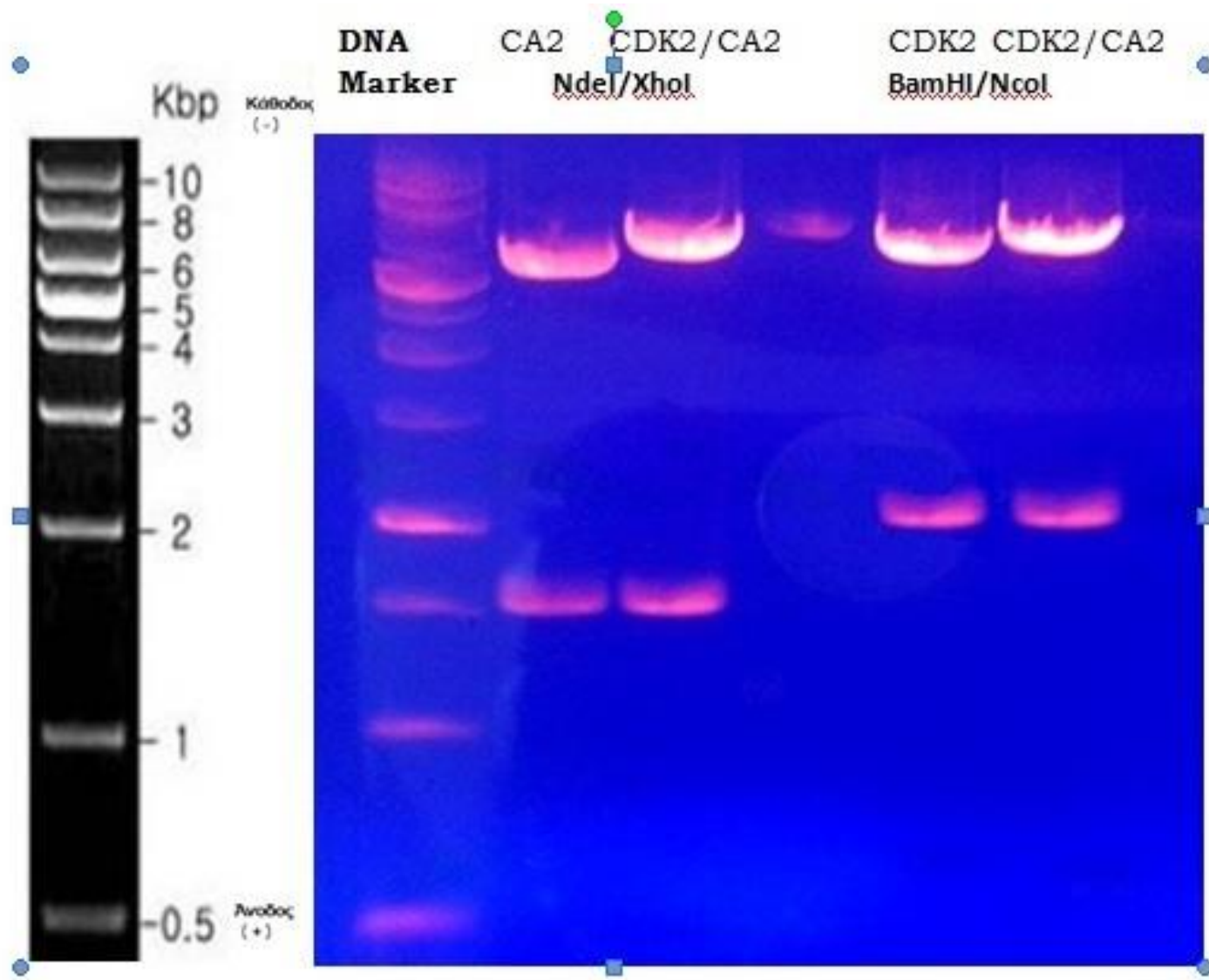
---

Τοποθετούμε τα τμήματα περιορισμού προσεκτικά στα πηγαδάκια του gel και ξεκινάμε την ηλεκτροφόρηση που διαρκεί ~1,5 ώρα.

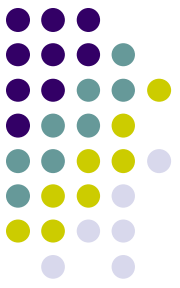
---

Τέλος εκθέτουμε το πήκτωμα σε UV ακτινοβολία για τον προσδιορισμό μεγεθών των τμημάτων περιορισμού.

# Αποτέλεσμα

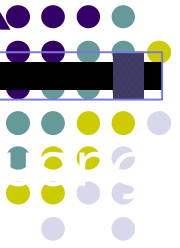


# Διαγνωστικές μοριακές τεχνικές



- ❖ Τεχνικές κυκλικής ενίσχυσης νουκλεικών οξέων
- ❖ Τεχνικές ισοθερμικών αντιδράσεων
- ❖ Φασματοσκοπία μάζας
- ❖ Μέθοδος FISH
- ❖ Τεχνικές ανάλυσης γονότυπου
- ❖ Μέθοδοι στυπώματος Southern και Northern

# Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης PCR



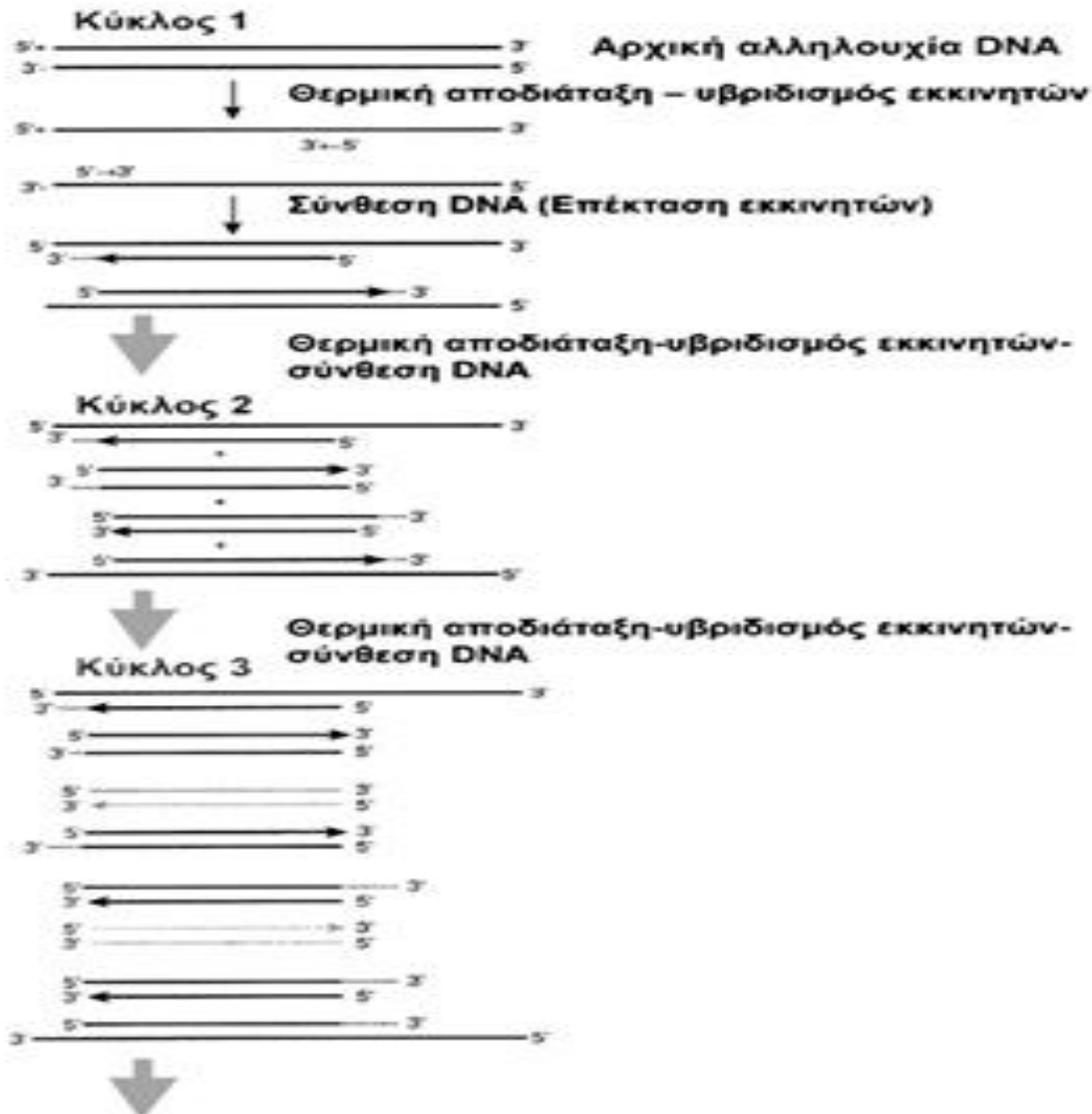
1.

2.

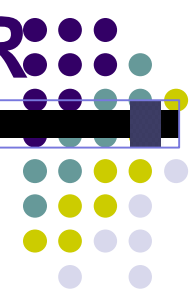
3.



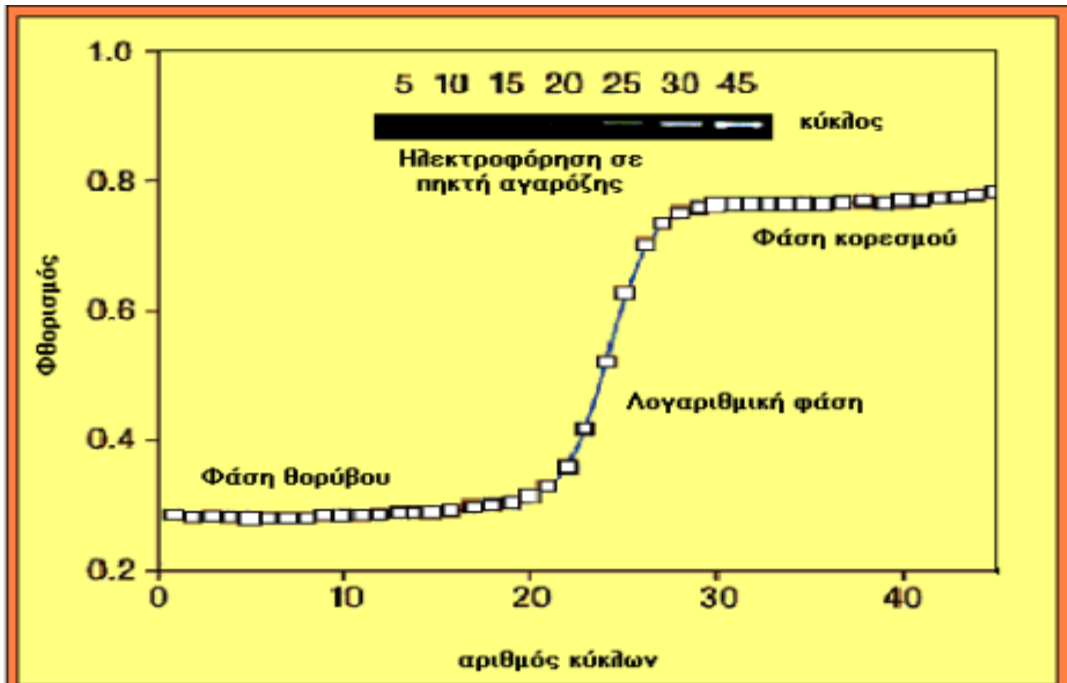
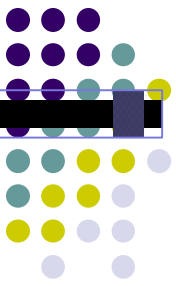
# Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης PCR



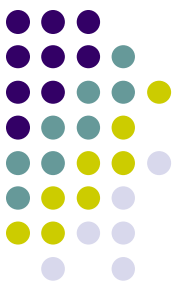
Η επανάληψη του κύκλου οδηγεί σε εκθετική αύξηση της αρχικής αλληλουχίας DNA



# Ανάλυση προϊόντων PCR



# Στυπώματα κατά Southern και Northern



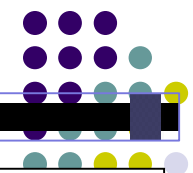
## **Στύπωμα Southern**

- Ισχυρό εργαλείο για την ανίχνευση αλληλουχιών
- Παραγωγή λεπτομερών χαρτών περιορισμού σε πολύπλοκα γονιδιώματα
- Είναι δυνατόν να ανιχνευτούν συγκεκριμένα τμήματα ανάμεσα στα εκατομμύρια άλλα που παράγει η πέψη με ένζυμα περιορισμού
- Μπορεί να προσδιοριστεί ο τρόπος με τον οποίο είναι παρατεταμένα τα γονίδια κατά μήκος των χρωμοσωμάτων.

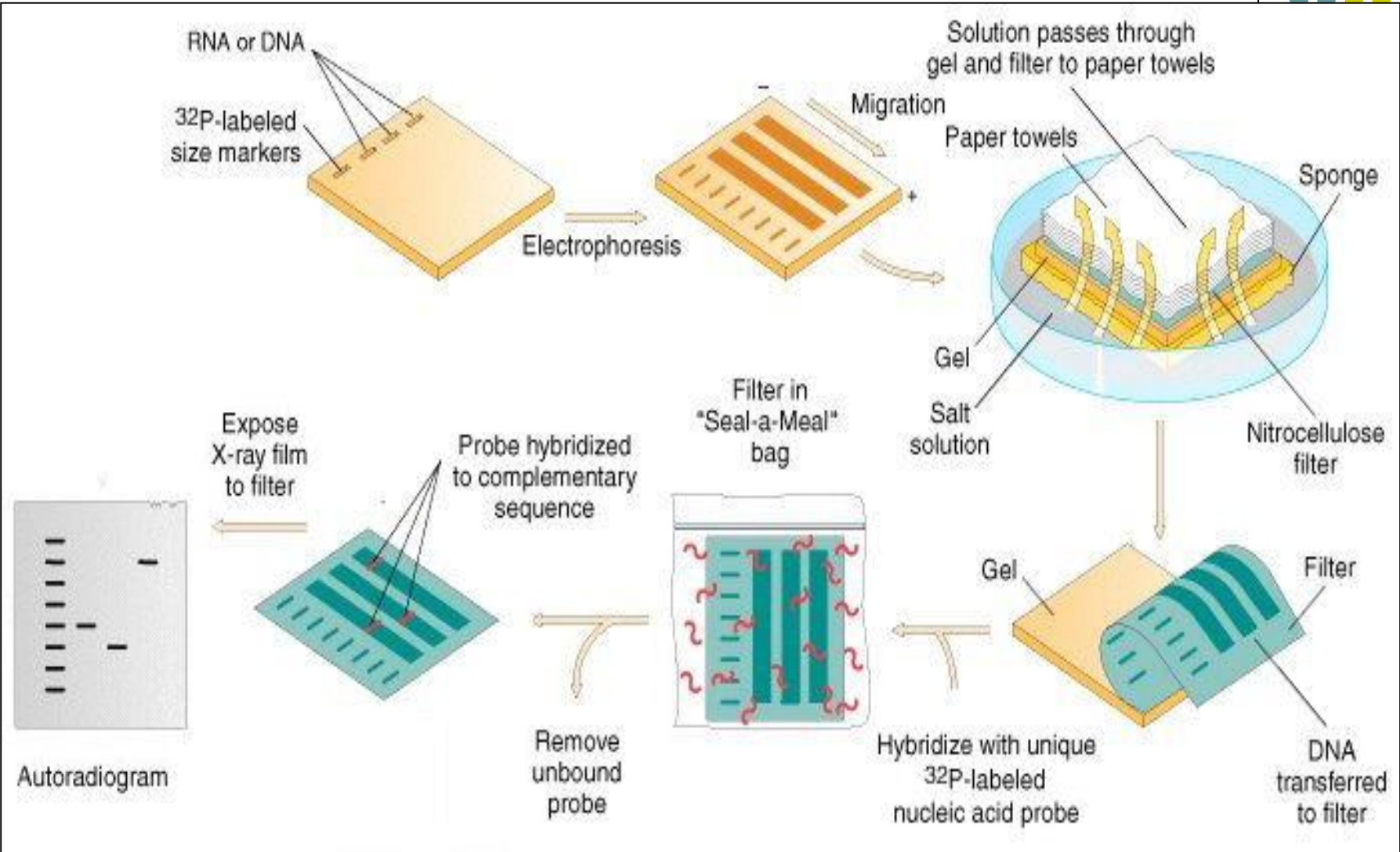
## **Στύπωμα Northern**

Αφορά την ηλεκτροφόρηση και μεταφορά σε μεμβράνη RNA αντί για DNA.

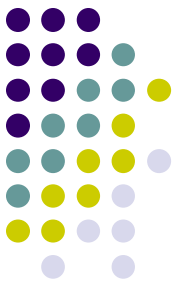




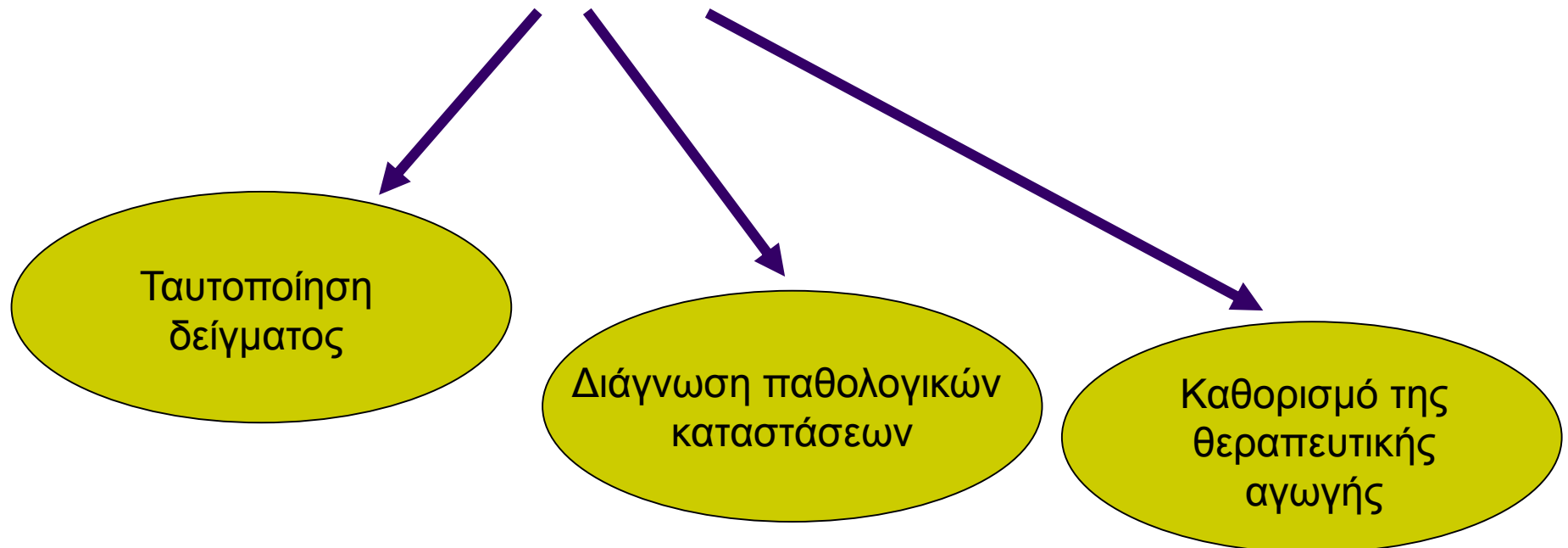
# Στύπωμα κατά Southern



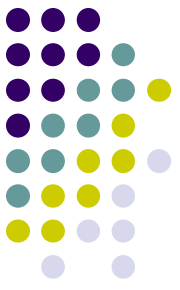
# Εφαρμογές της Ηλεκτροφόρησης στην Κτηνιατρική επιστήμη



- Ποικίλες οι δυνατότητες εφαρμογής της ηλεκτροφόρησης.
- Ο προσδιορισμός των πρωτεϊνών του ορού του αίματος συμβάλλει:



# Εφαρμογές της Ηλεκτροφόρησης στην Κτηνιατρική επιστήμη



Ηλεκτροφόρηση **φυσικών** (μη μετουσιωμένων) πρωτεϊνών

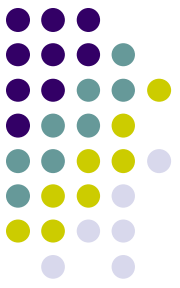


Πηκτή  
αγαρόζης

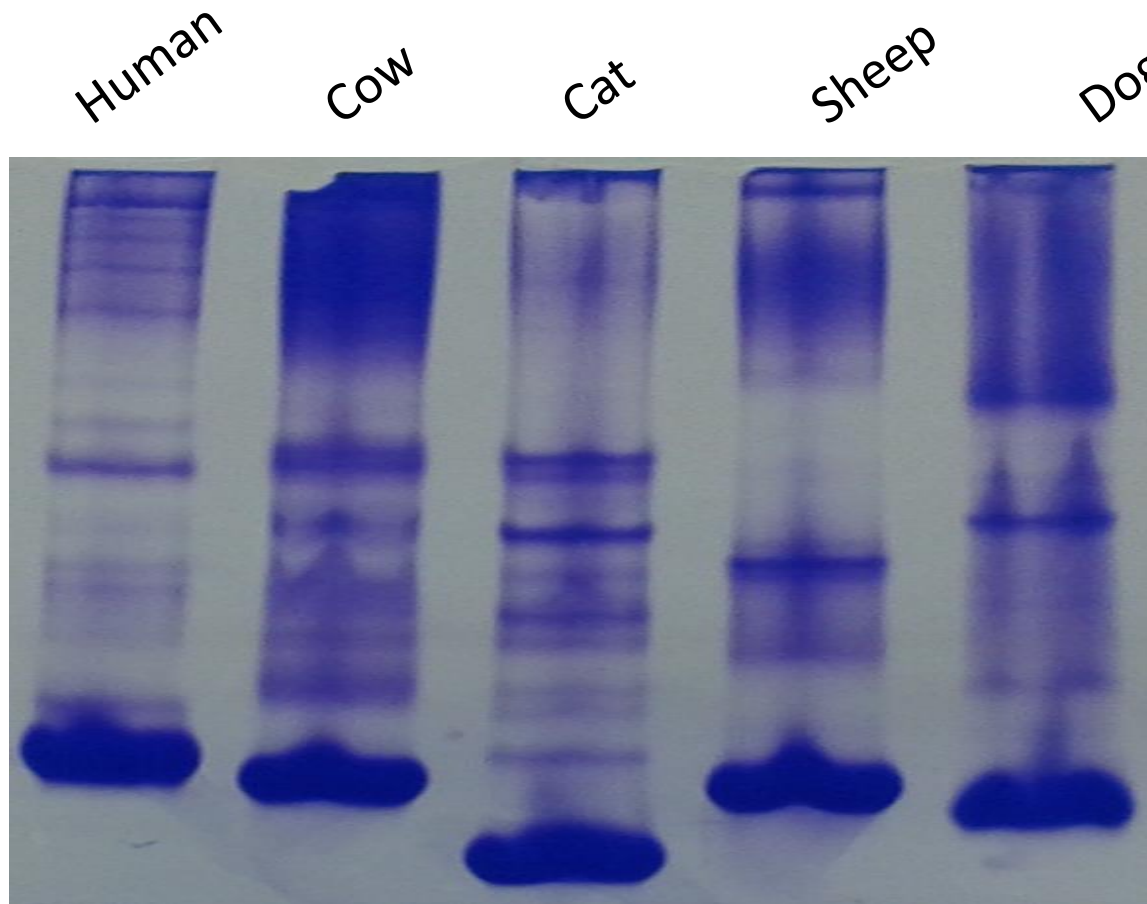
Διάφορα με το με SDS-PAGE

Τα δείγματα μετακινούνται προς δυο κατευθύνσεις με το φυσικό τους φορτίο

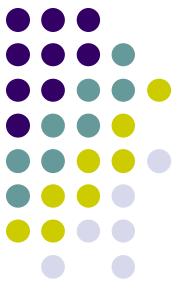
# Εφαρμογές της Ηλεκτροφόρησης στην Κτηνιατρική επιστήμη



Εφαρμογές στην Ταυτοποίηση ειδών από δείγμα ορού



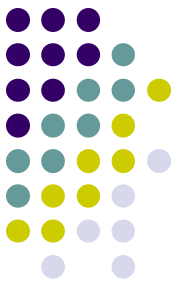
# Εφαρμογές της Ηλεκτροφόρησης στην Κτηνιατρική επιστήμη



## 1. Αφθώδης πυρετός

- Παθογόνο αίτιο: Η νόσος προκαλείται από ιό και συγκεκριμένα από τους ορότυπους O και Asia 1 του γένους Arhthonivirus. Είναι εξαιρετικά μεταδοτική & πλήττει κυρίως τα σπληφόρα ζώα.
- Παράγοντες μόλυνσης – Μετάδοση: Μεταδίδεται με αερολύματα, με μολυσμένα ζώα (μεταφορά αυτών-τα σφάγια τους κλπ)

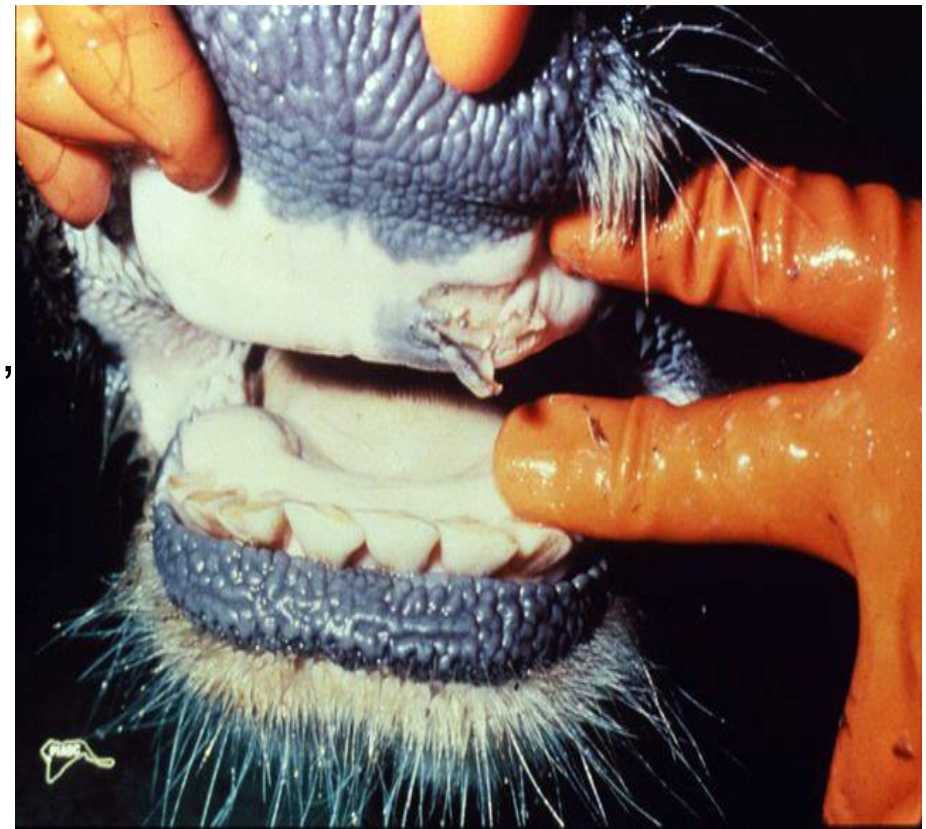
# Εφαρμογές της Ηλεκτροφόρησης στην Κτηνιατρική επιστήμη



## Συμπτώματα-

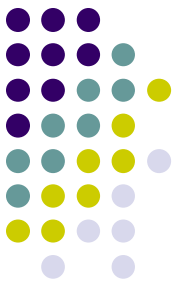
## Παθολογοανατομικές αλλοιώσεις:

- Η νόσος εκδηλώνεται συνήθως το καλοκαίρι και το φθινόπωρο με φαινόμενα:
- ✓ κοινού κρυολογήματος
  - ✓ πυρετό
  - ✓ άφθες και εξελκώσεις στα πέλματα, στις παλάμες και στη στοματική κοιλότητα.
  - ✓ χωλότητα.
- **Διάγνωση:** Παραλαμβάνεται υγρό από τις φυσαλίδες, το οποίο χρησιμοποιείται για τη μέθοδο της ELISA, της PCR και της ηλεκτροφόρησης.



Ρήξη κύστης στο στόμα αγελάδας που νοσεί

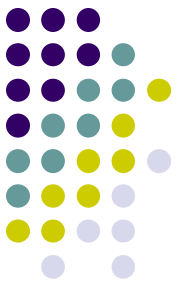
# Εφαρμογές της Ηλεκτροφόρησης στην Κτηνιατρική επιστήμη



## 2. Πολλαπλούν Μυέλωμα

- Τι είναι το πολλαπλούν μυέλωμα:  
νεοπλασματική νόσος του λεμφοειδούς συστήματος, ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός και άθροιση κακοηθών πλασματοκυττάρων στο μυελό των οστών ➡ μεγάλες ποσότητες μονοκλωνικών παραπρωτεϊνών (Μ πρωτεΐνη) που κυκλοφορούν στο αίμα.
- Αιτιολογία: Τα ακριβή αίτια δεν είναι γνωστά. Μπορεί να σχετίζεται με εξασθένηση της άμυνας του οργανισμού, με γενετικούς παράγοντες, με την ύπαρξη κάποιας χρόνιας μόλυνσης ή φλεγμονής καθώς και την έκθεση σε χημικές ουσίες και ακτινοβολίες.

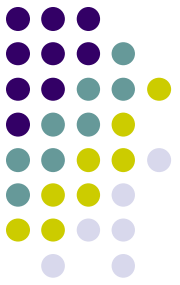
# Εφαρμογές της Ηλεκτροφόρησης στην Κτηνιατρική επιστήμη



- Παθοφυσιολογία του πολλαπλού μυελώματος:
  - ✓ πλασματοκύτταρα αθροίζονται σε μάζες (πλασματοκυττώματα) & προκαλούν πόνο και παθολογικά κατάγματα στα οστά.
  - ✓ άθροιση πλασματοκυττάρων στον μυελό των οστών ➡ μείωση των λευκών αιμοσφαιρίων (λοιμώξεις), μείωση των ερυθρών αιμοσφαιρίων (αναιμία).
  - ✓ μονοκλωνική ανοσοσφαιρίνη ➡ βλάβη στους νεφρούς
- Διάγνωση: ηλεκτροφόρηση του ορού του αίματος (αύξηση των μονοκλωνικών ανοσοσφαιρινών Ig G και Ig A) & μυελόγραμμα & ακτινολογική εξέταση οστών



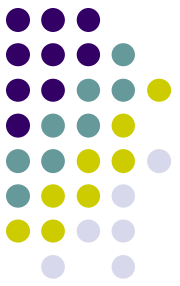
# Εφαρμογές της Ηλεκτροφόρησης στην Κτηνιατρική επιστήμη



## 3. Ιδιοπαθής υπερχοληστερολαιμία

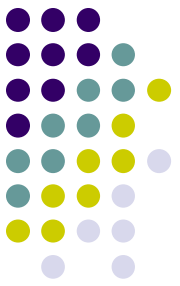
- Αιτιολογία της ιδιοπαθούς υπερχοληστερολαιμίας:  
Πρόκειται για νόσημα άγνωστης αιτιολογίας- στο αίμα αυτών των ζώων η συγκέντρωση της χοληστερόλης και των LDL είναι αυξημένη.
- Συμπτώματα:
  - ✓ ενδοκρινοπάθειας
  - ✓ επιληπτικές κρίσεις, τυφλότητα, κωλικός, εμετοί, διάρροια
  - ✓ διαταραχές της συμπεριφοράς

# Εφαρμογές της Ηλεκτροφόρησης στην Κτηνιατρική επιστήμη



- ❖ Πολλά ζώα με υπερλιπιδαιμία παραμένουν ασυμπτωματικά
- **Διάγνωση:** μέτρηση της χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων στο ορό του αίματος & για την περαιτέρω ταξινόμησή της πρέπει να γίνει ηλεκτροφόρηση και υπερφυγοκέντρηση των λιποπρωτεϊνών.

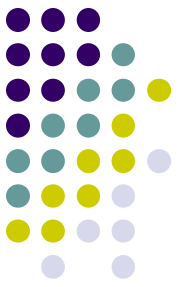
# Εφαρμογές της Ηλεκτροφόρησης στην Κτηνιατρική επιστήμη



## 4. Τρομώδης Νόσος (Scrapie)

- Τι είναι η τρομώδης νόσος:
  - ✓ μορφή Μεταδοτικών Σπογγώδων Εγκεφαλοπαθειών
  - ✓ ο αιτιολογικός παράγοντας δεν έχει επαρκώς καθορισθεί και διεθνώς έχει ορισθεί ως prion
  - ✓ η περιοχή του γονιδίου Prnp των αιγοπροβάτων που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη prion εμφανίζει πολλούς πολυμορφισμούς.

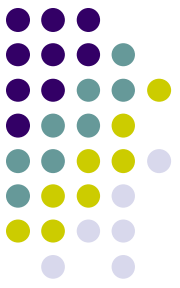
# Εφαρμογές της Ηλεκτροφόρησης στην Κτηνιατρική επιστήμη



- **Συμπτώματα:**
  - ✓ εκφυλισμό του κεντρικού νευρικού συστήματος-θάνατο από ασιλία ή λειψυδρία
  - ✓ κνησμό
  - ✓ αλλαγές στη συμπεριφορά, αταξία
  - ✓ αδυναμία, απώλεια βάρους, απώλεια μαλλιού και σιαλόρροια
- **Διάγνωση:** ηλεκτροφόρηση για την ανίχνευση της μη φυσιολογικής ριον πρωτεΐνης PrPsc & μεταθανάτια ιστοπαθολογική εξέταση εγκεφάλου.



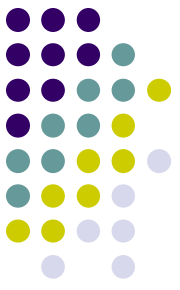
# Διαγνωστικές εφαρμογές του DNA και RNA στην κτηνιατρική επιστήμη



- Φυλογενετική ανάλυση του DNA από προϊστορικά είδη.



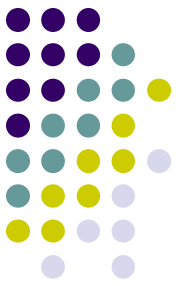
- Χαρτογράφηση ογκογονιδίων.
- Ανίχνευση κυττάρων μολυσμένων από ιούς.
- Στύπωμα κατά Southern



Πολυμορφισμός διαμόρφωσης μονής αλυσίδας –  
Single-Strand Conformation Polymorphism  
(SSCP)

Ηλεκτροφόρηση σε διαβάθμιση αποδιατακτικής  
πηκτής – Denaturing Gradient Gel Electrophoresis  
(DGGE)

Ηλεκτροφόρηση σε πηκτή με διαβάθμιση  
θερμοκρασίας (Temperature Gradient Gel  
Electrophoresis, TGGE)



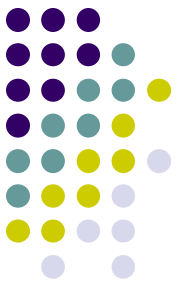
Τυχαία ενισχυόμενο πολυμορφικό RNA  
(Random Amplified polymorphic DNA, RAPD)

Πολλαπλό PCR (Multiplex PCR)

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης PCR

Πολυεστιακή τυποποίηση με μικροδορυφορικές  
αλληλουχίες (MLMT).

# Παραδείγματα αποτελεσμάτων



Ανίχνευση ασθένειας: *Ehrlichia spp.*  
Το προϊόν της PCR αναμένεται στις: 282 bp



**Lane M:** Ο μάρτυρας

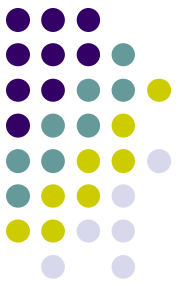
**Lane 1~2:** ΕΗΡΛΙΧΙΑ Θετικό δείγμα

**Lane I.C.:** Εσωτερικό κοντρόλ

**Lane P:** Θετικό control

**Lane N:** Αρνητικό control

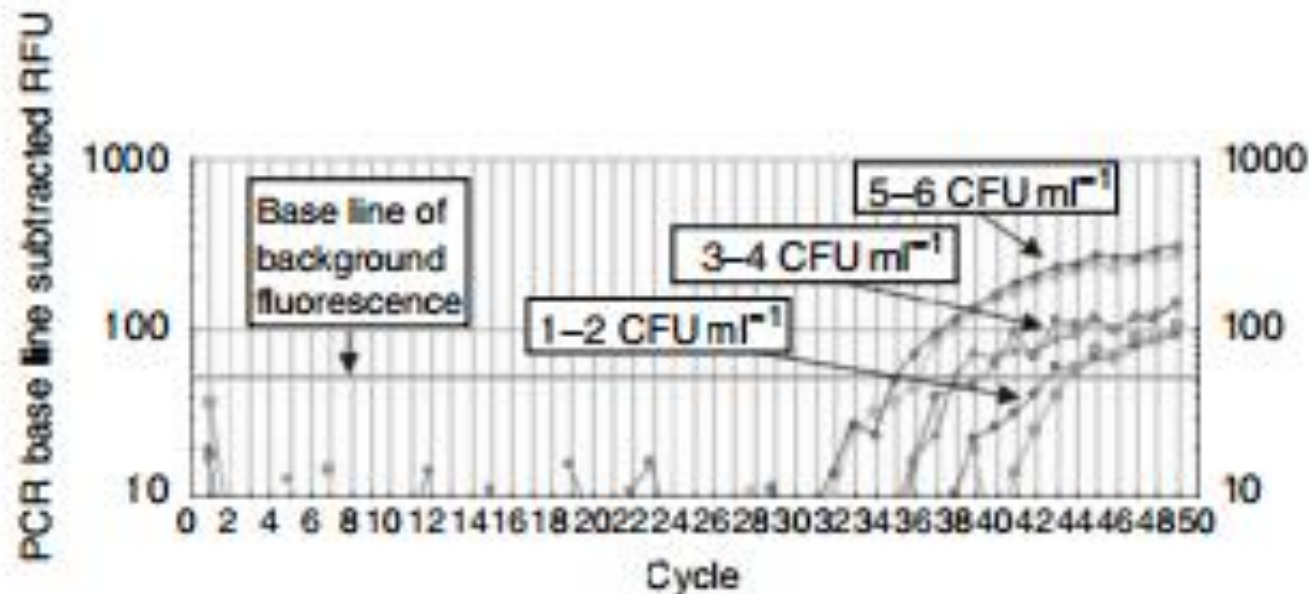




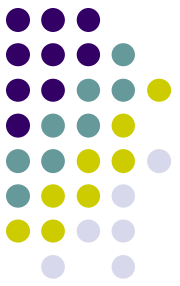
# Παραδείγματα αποτελεσμάτων

Ανίχνευση ασθένειας: ***Salmonella spp.***

Τα προϊόντα αναλύονται μέσω Quantitative PCR όπου παρατηρείται η ποσοτική διάσταση του παθογόνου, ανάλογα με τα αντίγραφα που προκύψουν μετά τους κύκλους της PCR.

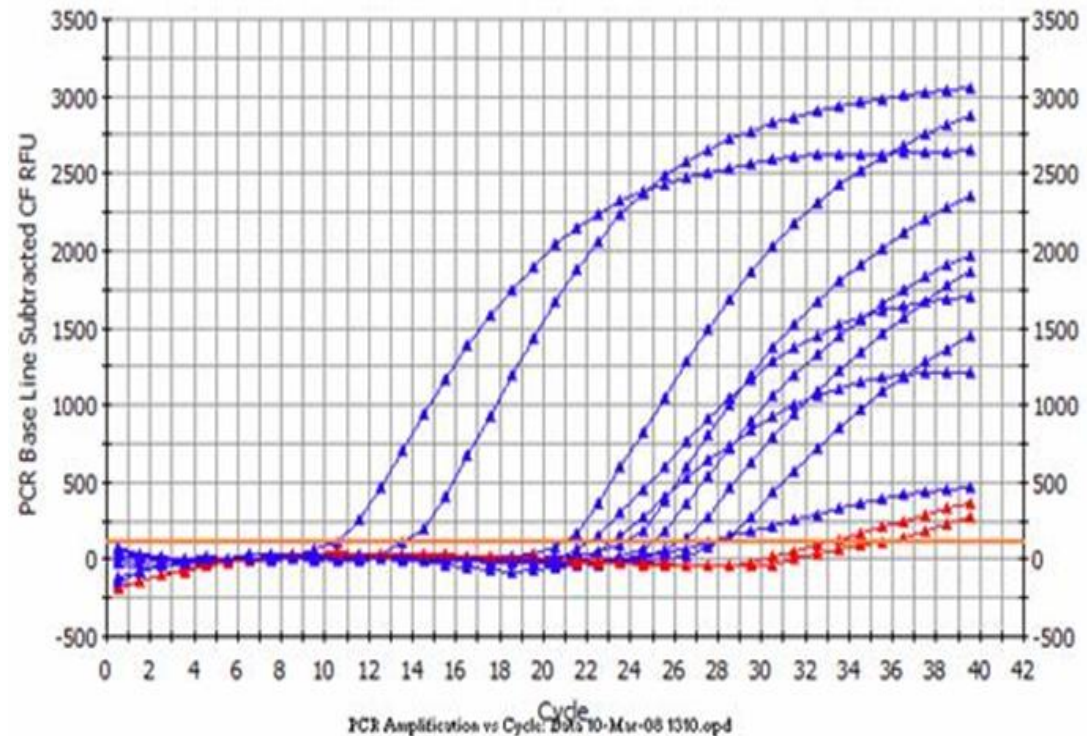


# Παραδείγματα αποτελεσμάτων

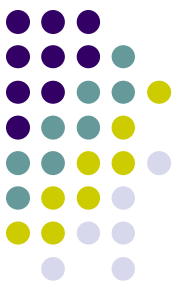


Ανίχνευση ασθένειας:  
***Listeria monocytogenes*** (από γάλα)

Τα προϊόντα αναλύονται μέσω Real-Time qPCR όπου παρατηρείται τόσο η ποσοτική όσο και ποιοτική διάσταση του παθογόνου στα δείγματα που εξετάστηκαν.



# Παραδείγματα αποτελεσμάτων



Ανίχνευση ασθένειας: *Influenza A Virus (H1N1)*

Τα προϊόντα αναλύονται μέσω RT-PCR (reverse transcript) όπου το αρχικό υλικό είναι ιικό RNA και με την αντίστροφη μεταγραφή θα γίνει cDNA και έπειτα θα ακολουθήσει η διαδικασία τα PCR. Το αποτέλεσμα είναι η ανίχνευση ή όχι γενωμικού υλικού του ιού ή των mRNA του.

