

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΝΖΥΜΙΚΗΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

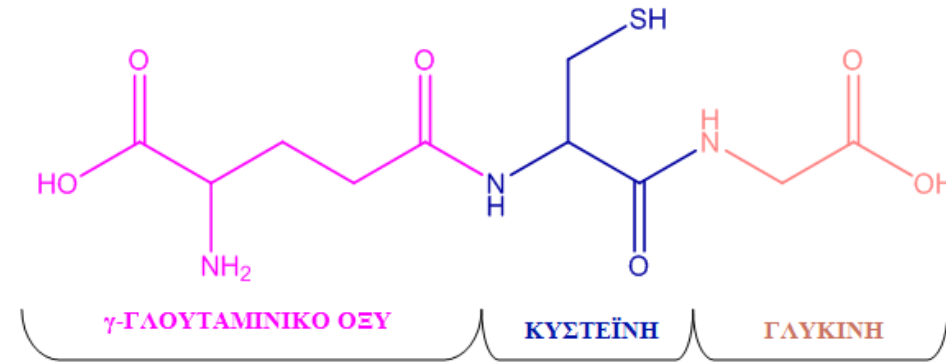
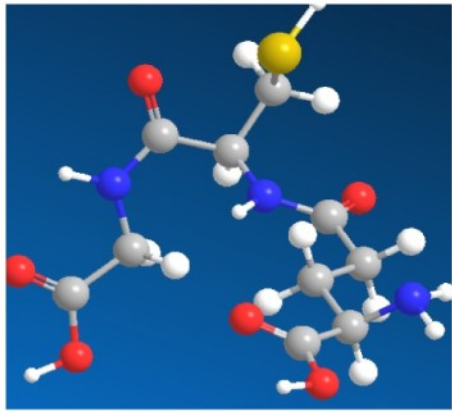
Χρονοπούλου Ευαγγελία

Επιβ. Καθηγητής: Λάμπρου Νικόλαος

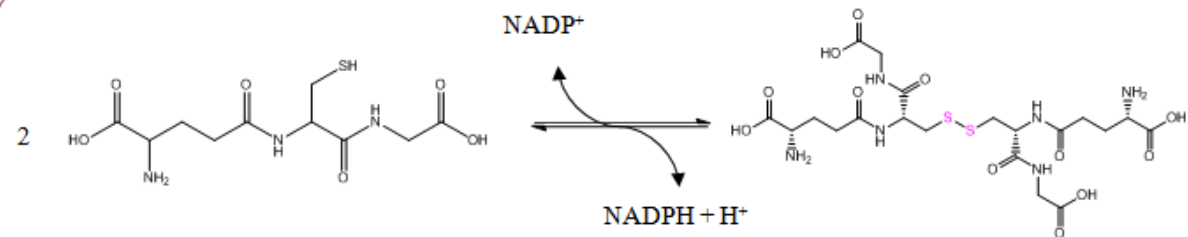


**«Πρωτεϊνική μηχανική του ενζύμου
μεταφοράση της γλουταθειόνης με στόχο
την ανάπτυξη βιοαισθητήρα μέτρησης
ξενοβιοτικών ουσιών»**

Το τριπεπτίδιο γ -L-γλουταμυλ-L-κυστεΐνη-γλυκίνη (GSH)



- Θειόλη που απαντά στα θηλαστικά, στα φυτά και στα βακτήρια.
- Στα υγιή κύτταρα περισσότερο από το 90% της GSH απαντά στην ανηγμένη μορφή.



GSH

- ✓ Λειτουργεί ως υπόστρωμα ή συμπαράγοντας των GSTs.
- ✓ Αποτελεί συνένζυμο στη βιοσύνθεση των δεοξυριβονουκλεοτιδίων, στην οξειδοαναγωγική ρύθμιση μοριακών διεργασιών καθώς επίσης και στη μεταφορά μοριακών μηνυμάτων ('σινιάλων') όπως του οξειδίου του αζώτου.
- ✓ Εμφανίζει προστατευτικό ρόλο απέναντι στην οξειδωτική δράση διαφόρων στρεσογόνων παραγόντων όπως η ακτινοβολία, η ζέση και η έκθεση σε βαρέα μέταλλα.
- ✓ Εμπλέκεται στην έκφραση γονιδίων και στην απόπτωση, καθώς και στο μεταβολισμό οιστρογόνων, λευκοτριενίων και προσταγλανδινών.
- ✓ Ρυθμίζει την ανάπτυξη του κυττάρου και την έκφραση των γονιδίων. Οι λειτουργίες αυτές εξαρτώνται από την συγκέντρωση και την αναγωγική κατάσταση της GSH σε κάθε κυτταρικό διαμέρισμα.
- ✓ Η συγκέντρωσή της διαφοροποιείται στα υποκυττάρια οργανίδια. Η εξωκυττάρια συγκέντρωση είναι μικρότερη σε σχέση με την ενδοκυττάρια.

Μεταφοράση της γλουταθειόνης(GST)

•Εμπλέκονται στη Φάση II της κυτταρικής αποτοξίνωσης από ηλεκτρονιόφιλες υδρόφοβες τοξικές ενώσεις.

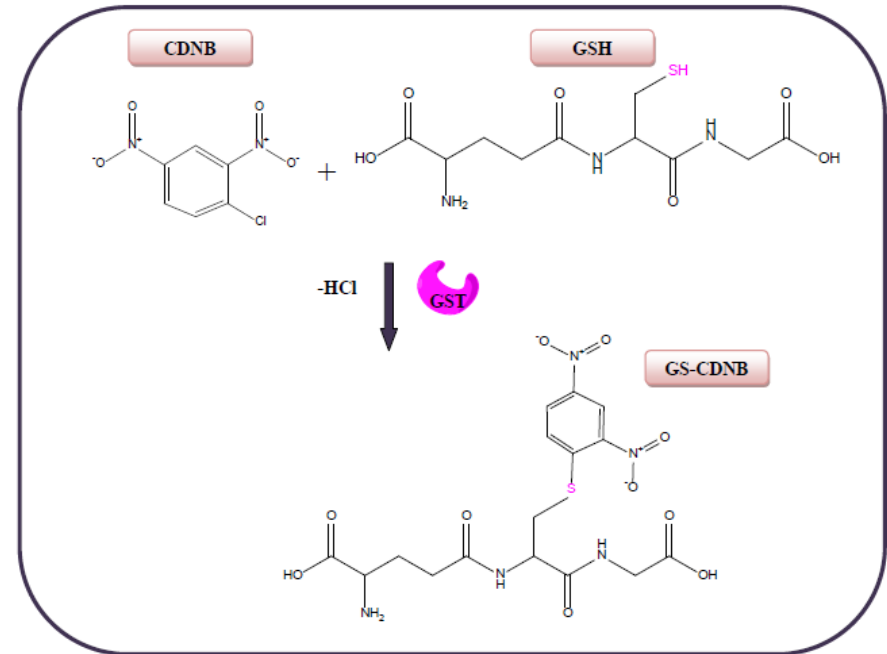
•Καταλύουν την κλασική αντίδραση σύζευξης της γλουταθειόνης με τις ξενοβιοτικές ενώσεις (SN2 μηχανισμός).

•Οι GSTs διακρίνονται δομικά σε τέσσερις οικογένειες:

- α) κυτταροπλασματικές
- β) μιτοχονδριακές της κ τάξης
- γ) μεμβρανικές MAPEG και
- δ) GSTs ανθεκτικότητα στο αντιβιοτικό φωσφομυκίνη

➔ Άνθρωπο, φυτά, ζώα, έντομα, παράσιτα, ζύμες, μύκητες, βακτήρια

➔ Ενδιαφέρον για την ιατρική, περιβάλλον και τη γεωπονία

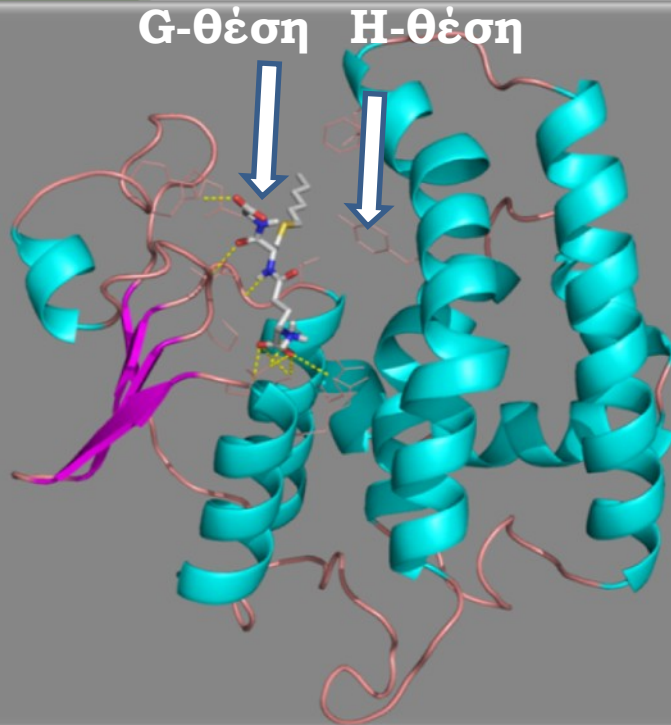


Το 1961 δύο ερευνητικές ομάδες ανακάλυψαν ότι η αντίδραση της GSH με ηλεκτρονιόφιλες ξενοβιοτικές ενώσεις καταλύεται από ένα ένζυμο το οποίο βρίσκεται στο ήπαρ μύς (Combes and Stakelum, 1961; Boyland et al., 1961).

Κυτταροπλασματικές GSTs

- ➔ Συμμετέχουν στη βιοσύνθεση στεροειδών και λευκοτριενίων, σε αντιδράσεις *cis-trans* ισομερίωσης.
- ➔ Στην αναγωγή του διϋδροασκορβικού και τοξικών οργανικών υπεροξειδίων.
- ➔ Στην ενδοκυττάρια μεταφορά και αποθήκευση υδροφοβικών μορίων όπως η αίμη, οι ορμόνες, τα φλαβονοειδή και τα λιπαρά οξέα.

Δομή των κυτταροπλασματικών GSTs

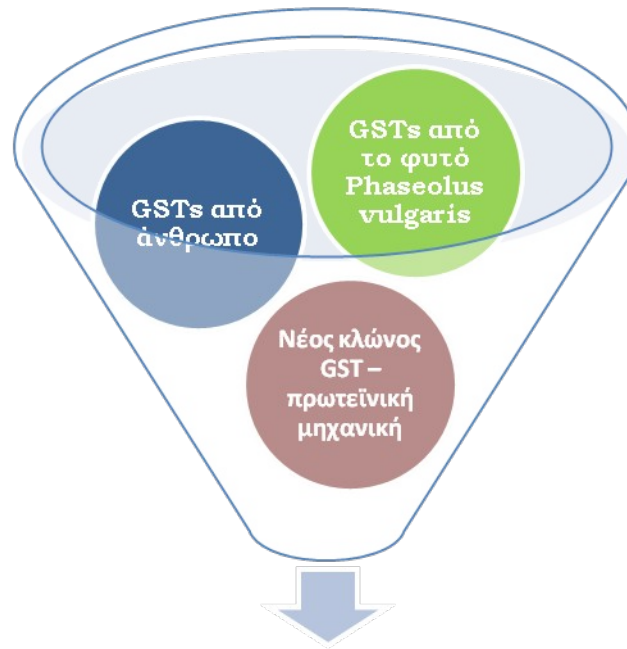


22-29 kDa

- Απαντούν είτε ως ετεροδιμερή είτε ως ομοδιμερή.
- Η H-θέση παρουσιάζει μικρή ομολογία μεταξύ των ισοενζύμων μιας τάξης και διαφορετικών τάξεων και μπορεί να προσδέσει αρκετά υποστρώματα διαφορετικά σε μέγεθος, δομή και υδροφοβικότητα.

Εφαρμογές των GSTs

- ✓ Ανάπτυξη βιοαισθητήρων.
- ✓ Μοριακοί στόχοι σχεδιασμού νέων φαρμάκων και προφαρμάκων.
- ✓ Αποκατάσταση περιβάλλοντος.



1. Ανάπτυξη αναλυτικής μεθόδου ανίχνευσης του dieldrin και του spiromesifen σε δείγματα νερού με το ένζυμο hGSTA1-1

2. Ετερογένεια στην εξειδίκευση υποστρώματος φυτικών GSTs

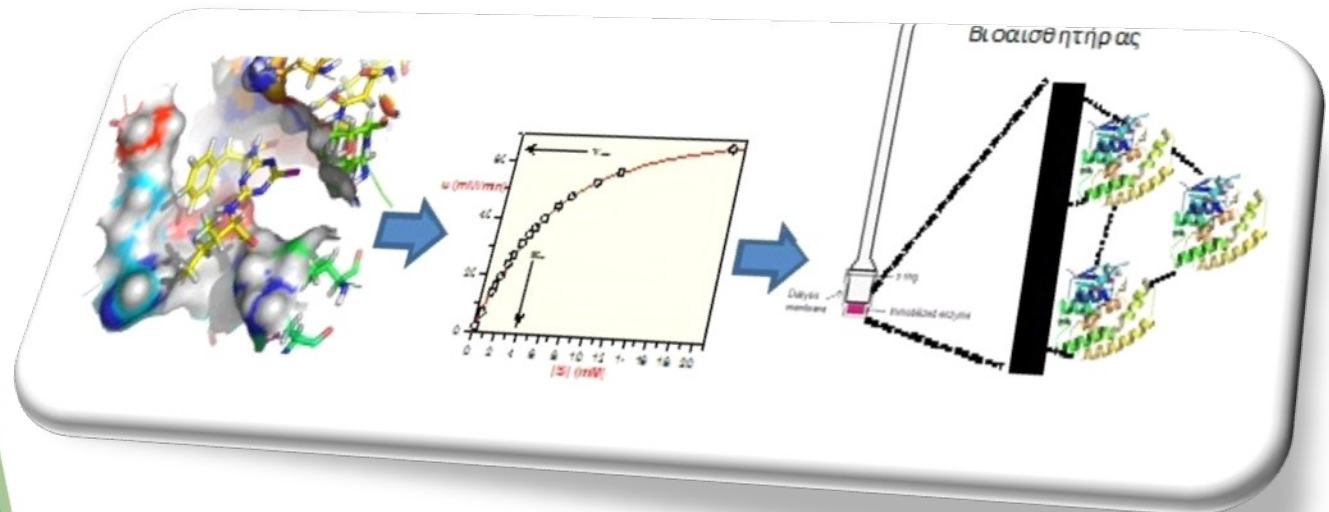
3. Ανάπτυξη αναλυτικής μεθόδου προσδιορισμού του α-endosulfan με φυτικές GSTs



Ανάπτυξη αναλυτικής μεθόδου ανίχνευσης του dieldrin και του spiromesifen σε δείγματα νερού με το ένζυμο hGSTA1-1

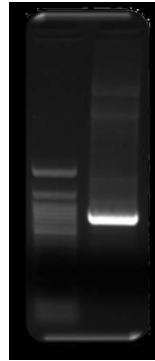
ΣΚΟΠΟΣ

Ανάπτυξη νέας, απλοποιημένης αναλυτικής μεθόδου ανίχνευσης και προσδιορισμού φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε περιβαλλοντικά και βιολογικά δείγματα, βασισμένων στο ένζυμο **μεταφοράση της γλουταθειόνης**.



Έκφραση και καθαρισμός των ενζύμων hGSTA1-1, hGSTP1-1 (αλληλομόρφους A,B,C), hGSTO1-1 και hGSTT2-2

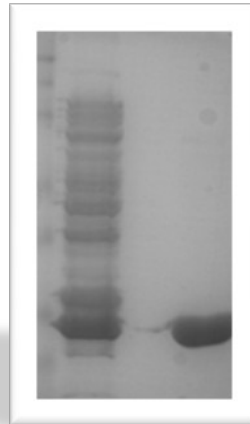
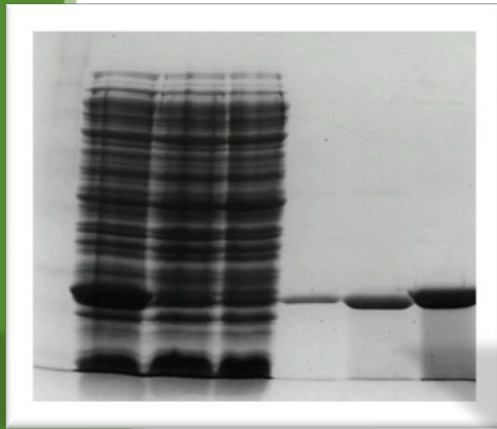
hGSTP1*A



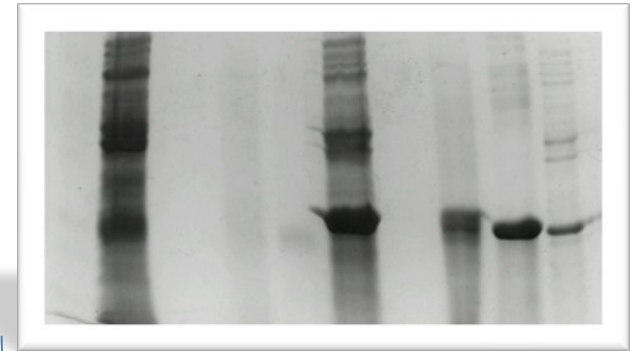
Κλωνοποίηση στο πλασμίδιο
pEXP-5 CT/TA-TOPO®



Έκφραση

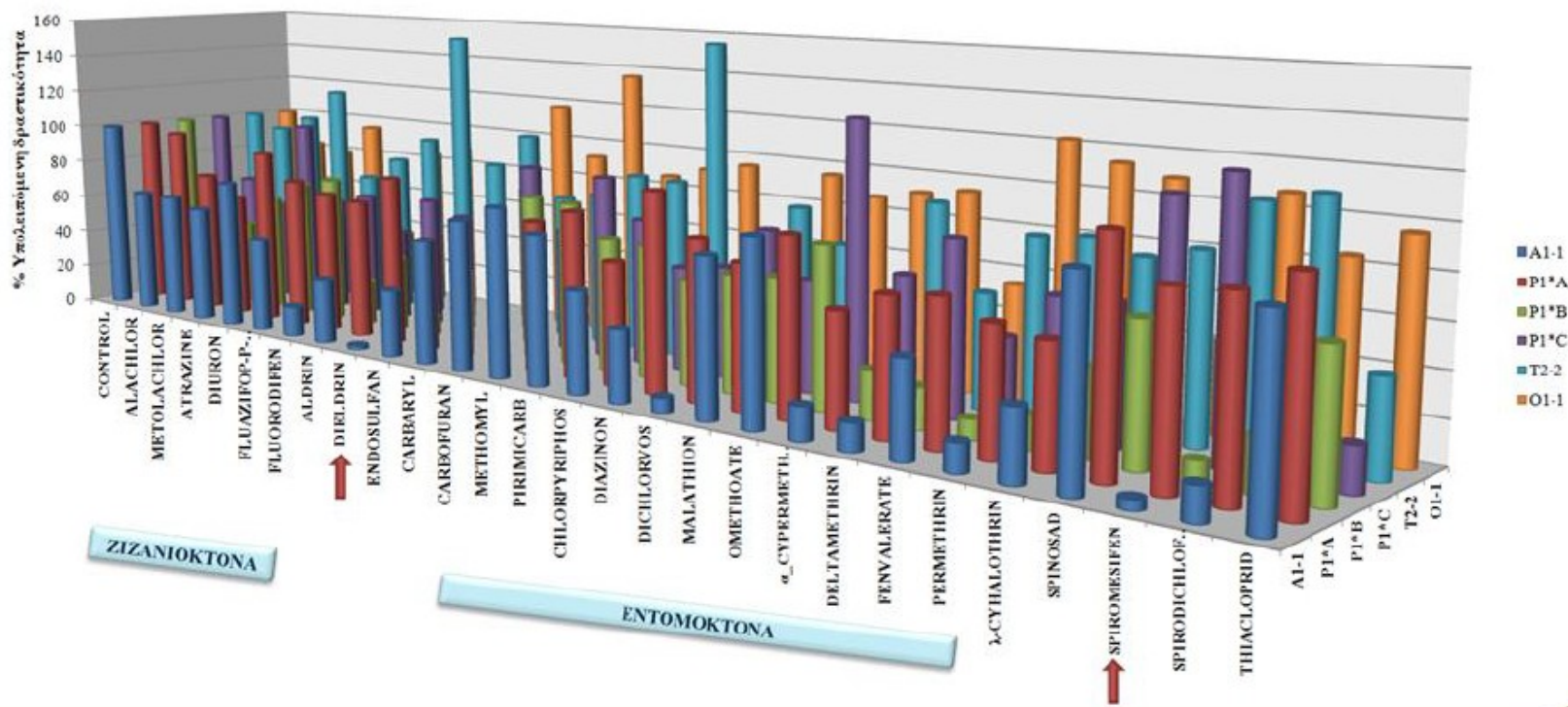


Χρωματογραφία συγγένειας

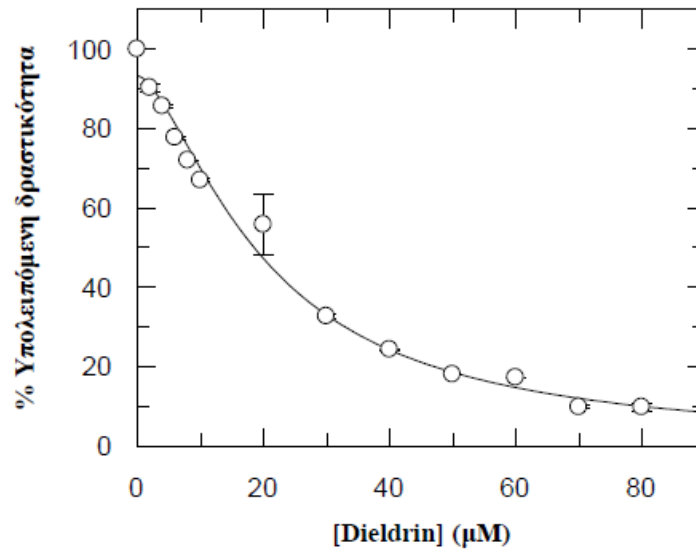


Μεταλλοχηλική συγγένεια

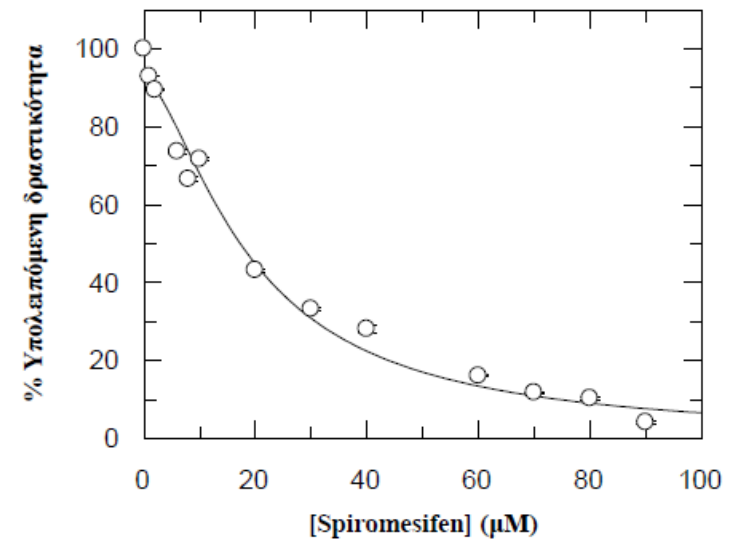
Μελέτη των ενζύμων ως προς εντομοκτόνα και ζιζανιοκτόνα



Προσδιορισμός της τιμής ανασταλτικής ισχύος (IC50) για τα εντομοκτόνα dieldrin και spiromesifen

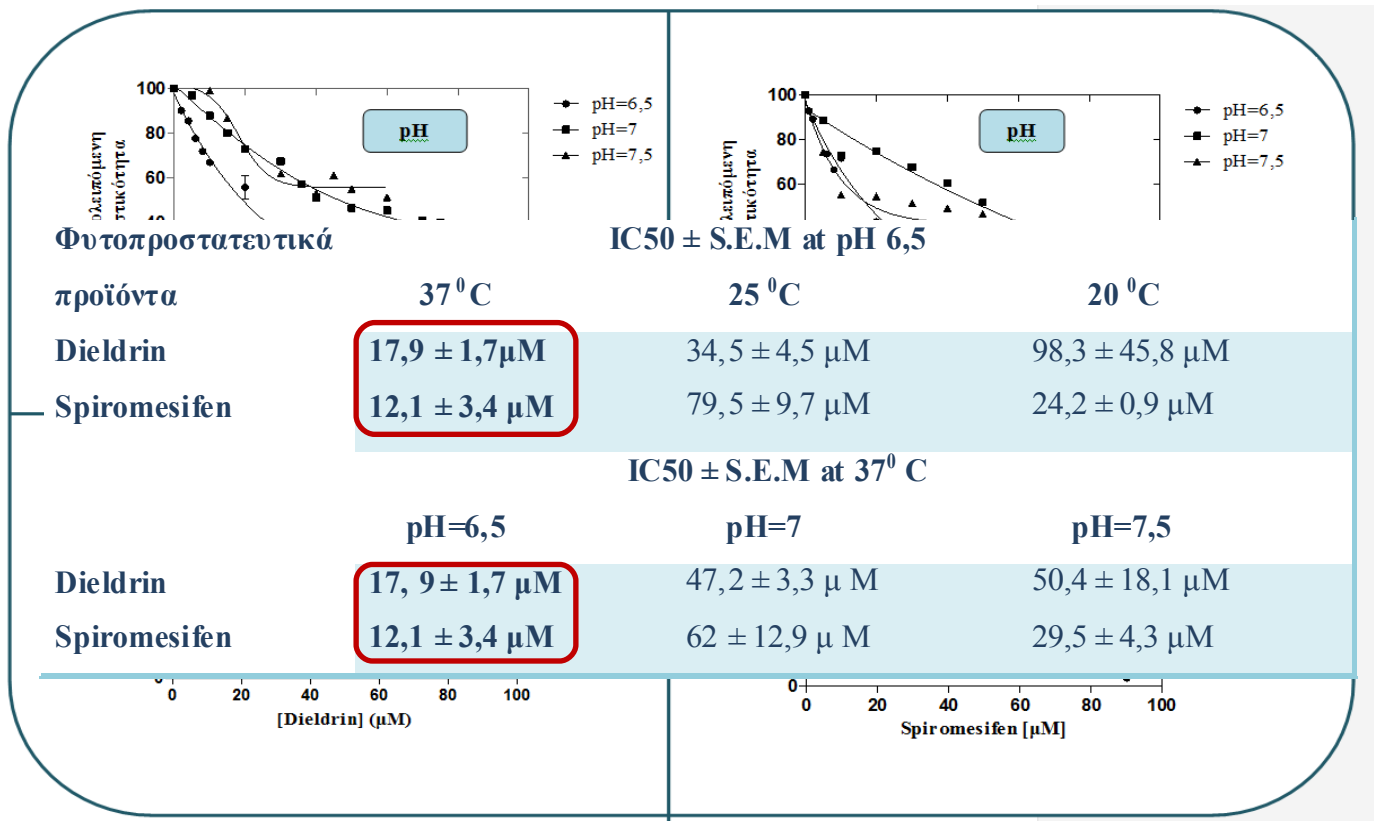


IC50=17,9 ± 1,7 μM

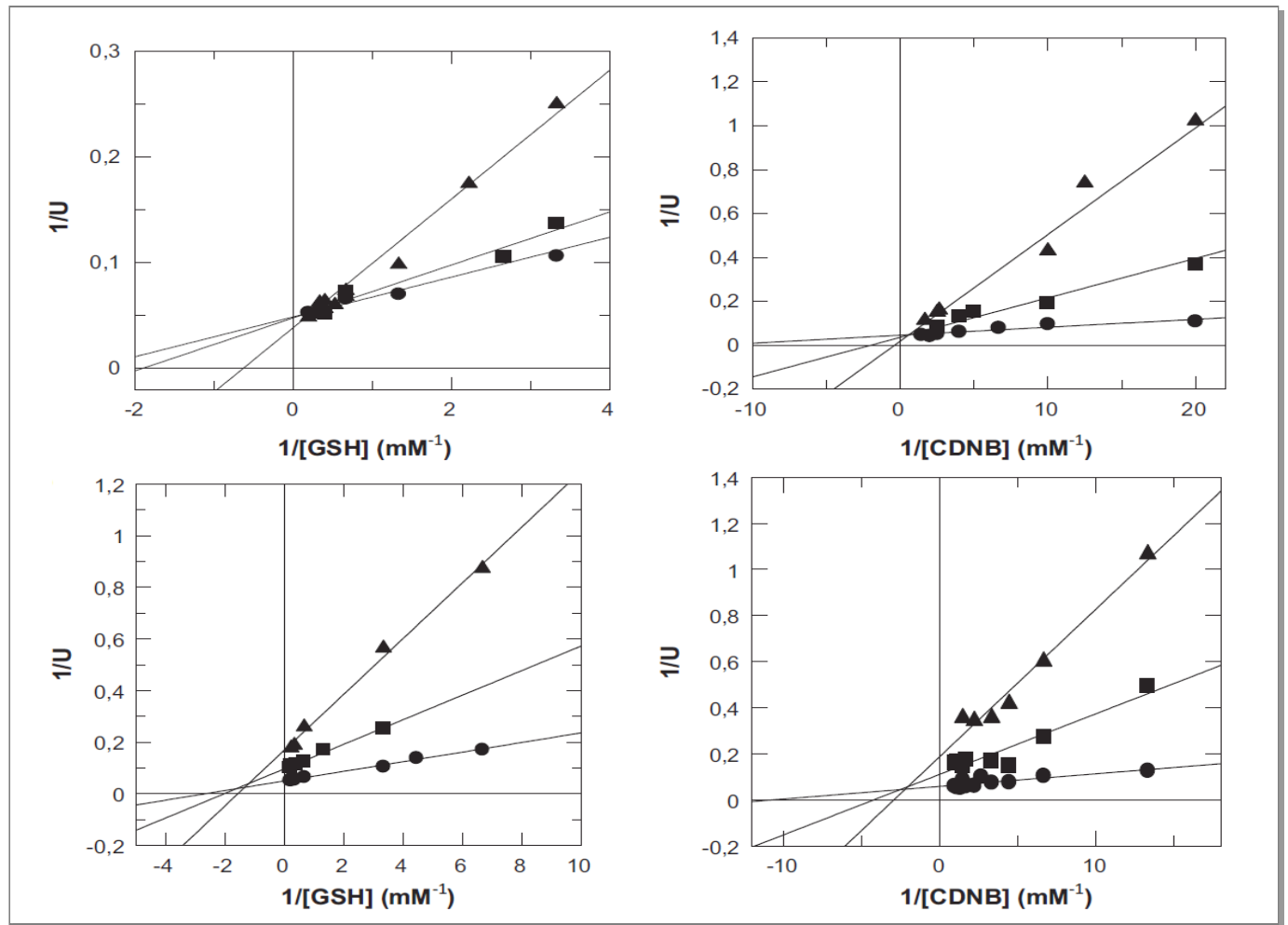


IC50=12,1 ± 3,4 μM

Προσδιορισμός της τιμής ανασταλτικής ισχύος για τα εντομοκτόνα dieldrin και spiromesifen σε διαφορετικές συνθήκες

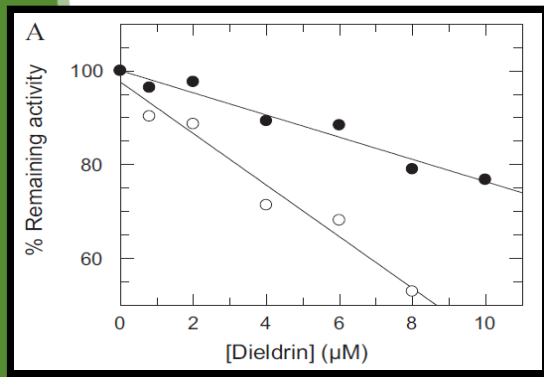
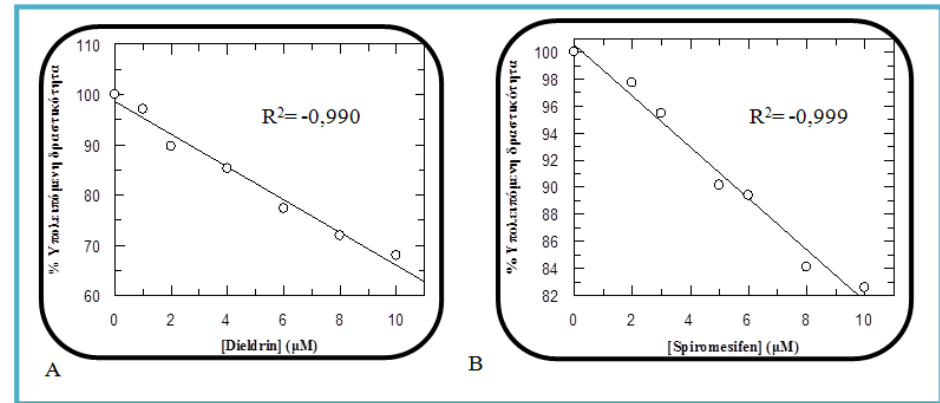


Μικτού τύπου αναστολή



Πρότυπες καμπύλες για τα εντομοκτόνα dieldrin και spiromesifen

Η αναστολή της ενζυμικής δραστηριότητας λόγω της παρουσίας του dieldrin και του spiromesifen, μπορεί να συσχετιστεί με τις συγκεντρώσεις αυτών των ενώσεων, χρησιμοποιώντας πρότυπες καμπύλες.

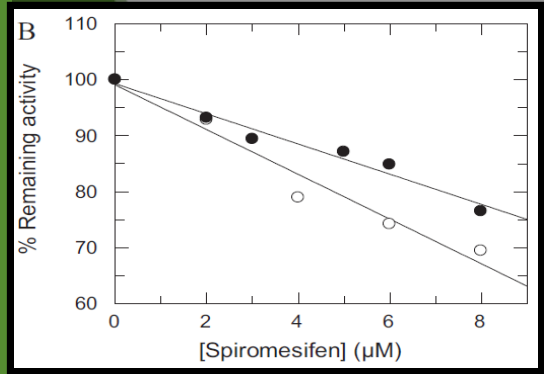


$$Y = -5,49x + 97,6$$

($R^2 = -0,98$) Πόσιμο νερό

$$Y = -2,36x + 100,05$$

($R^2 = -0,98$) Εμφιαλωμένο νερό



$$Y = -3,968x + 99,03$$

($R^2 = -0,98$) Πόσιμο νερό

$$Y = -2,69x + 99,26$$

($R^2 = -0,98$) Εμφιαλωμένο νερό



Φυτικές GSTs ως εργαλείο ανάπτυξης βιοαισθητήρων

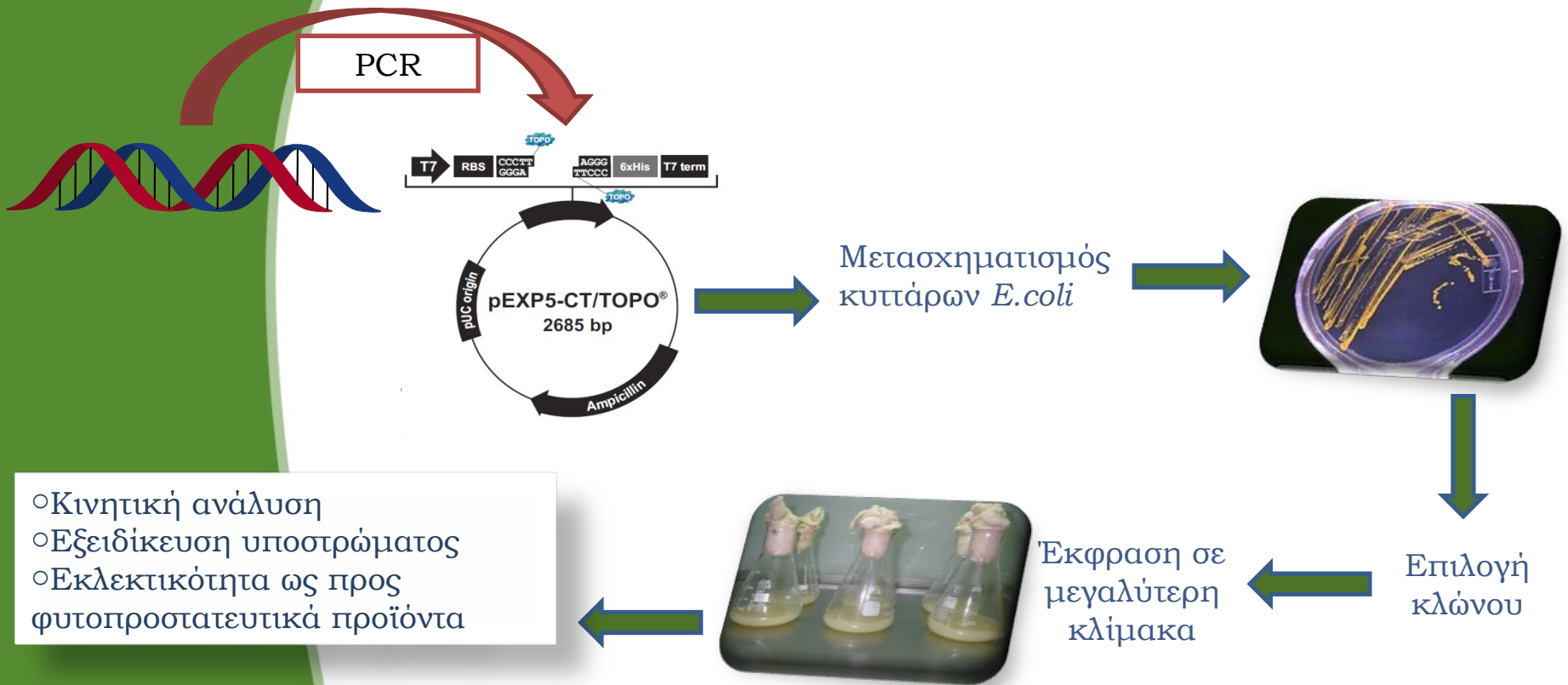
Φυτικές GSTs

- ✓ Τάξεις: φ, τ ζ, θ, λ, EF1Bγ, ρεδουκτάση του διϋδροασκορβικού (DHAR), και απαλογονάση της τετραχλωρο υδροκινόνης (TCHQD).
- ✓ Κυτταροπλασματικές GSTs: εξειδίκευση υποστρώματος δομική ευελιξία.
- ✓ Επάγονται κάτω από αβιοτική και βιοτική καταπόνηση.

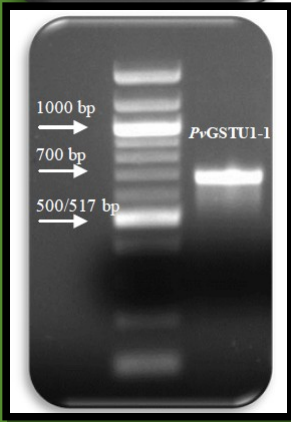
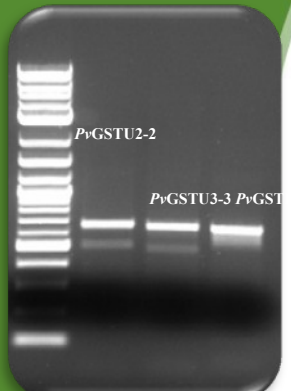
Σκοπός

Η μελέτη διαφορετικών ισοενζύμων από το φυτό *P.vulgaris* για την εξειδίκευση υποστρώματος και εκλεκτικότητας σε φυτοπροστατευτικά προϊόντα.

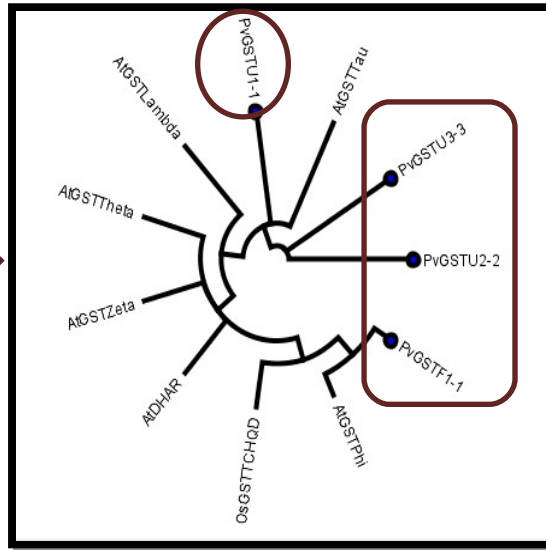
Πειραματική διαδικασία



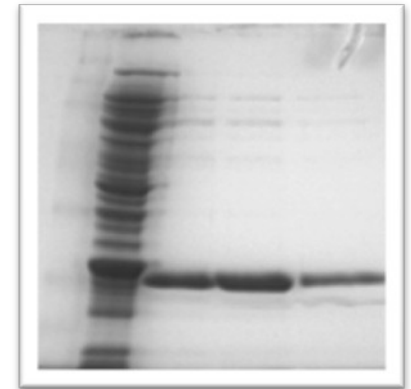
Ισοένζυμα από το *P.vulgaris*



Προϊόντα PCR

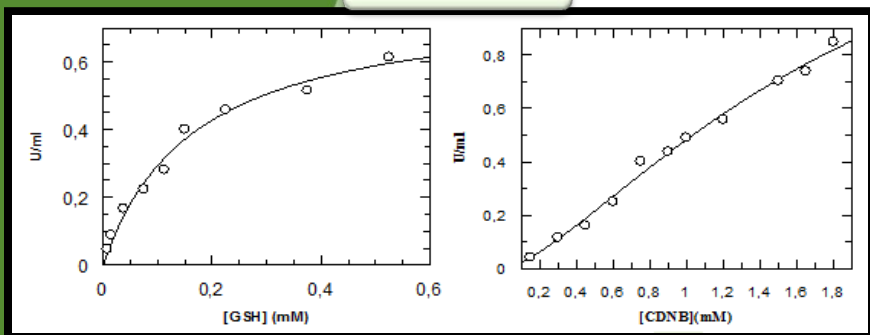


Χρωματογραφία συγγένειας

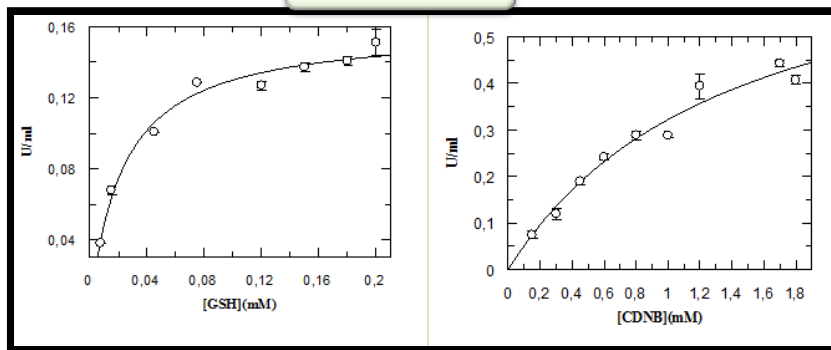


Κινητική ανάλυση με το σύστημα CDNB/GSH

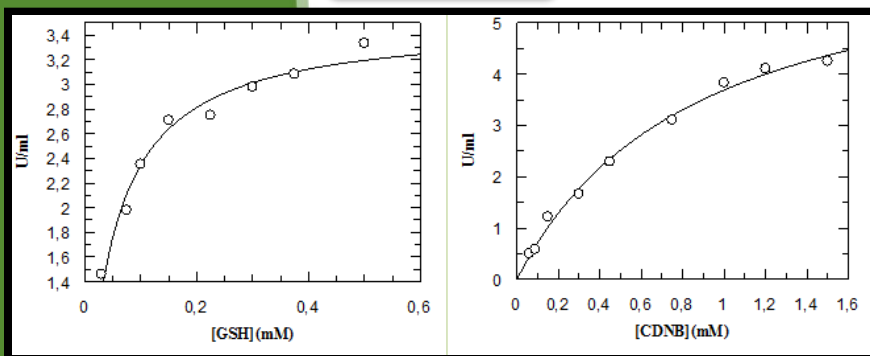
PvGSTU1-1



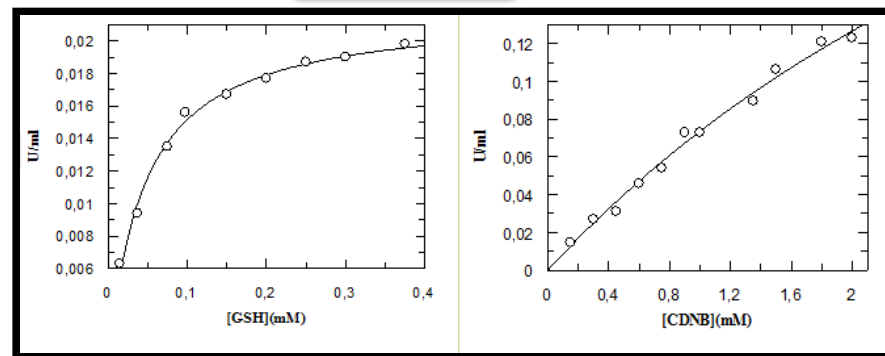
PvGSTU3-3



PvGSTU2-2



PvGSTF1-1

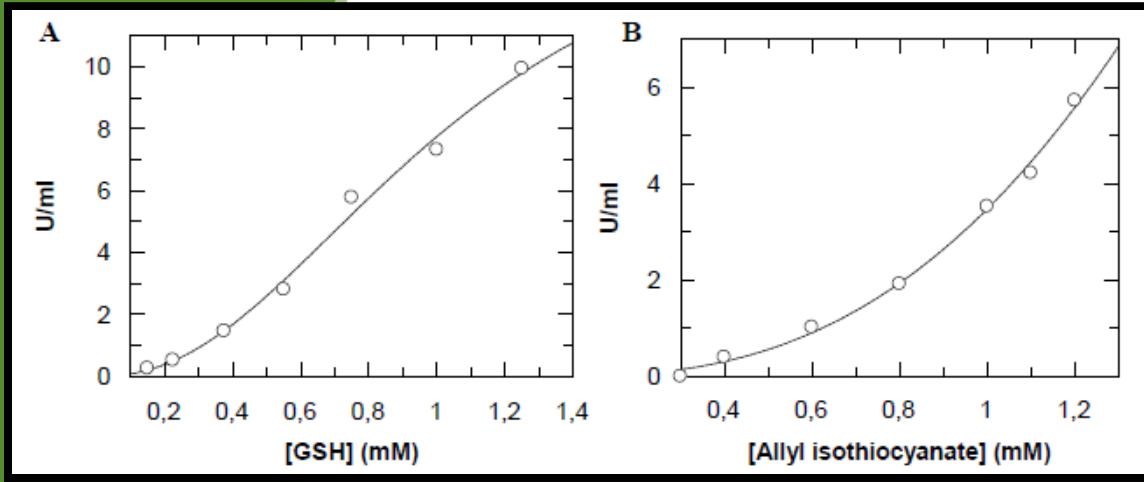


Ένζυμο	K_m (μM) (GSH)	k_{cat} (min^{-1}) (GSH)	K_m (μM) (CDNB)	k_{cat} (min^{-1}) (CDNB)	k_{cat}/K_m ($\mu\text{M}^{-1} \text{min}^{-1}$) (GSH)	k_{cat}/K_m ($\mu\text{M}^{-1} \text{min}^{-1}$) (CDNB)
--------	----------------------------------	--	-----------------------------------	---	---	--

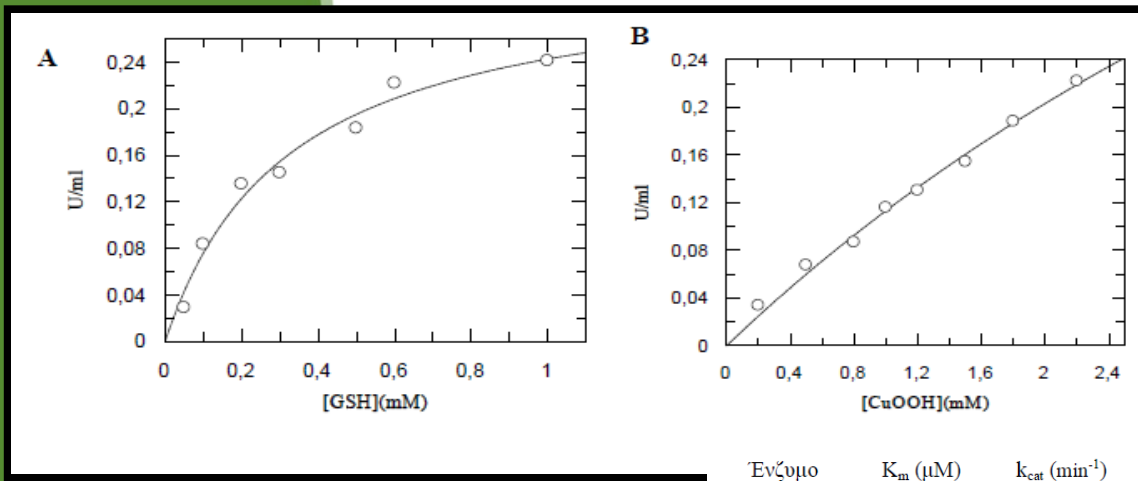
PvGSTU1-1	167,3 ± 26,4	5,038 ± 0,335	MA	MA	0,031 ± 0,007	MA
PvGSTU2-2	49,6 ± 6,2	650,4 ± 19,165	864,6 ± 110,8	1,274 ± 80,61	13,271 ± 1,272	1,485 ± 0,0975
PvGSTU3-3	23 ± 2,2	72,75 ± 1,603	1,399 ± 246	351,2 ± 34,1	3,198 ± 0,375	0,263 ± 0,070
PvGSTF1-1	44,4 ± 3,4	17,5 ± 0,339	5,873,7 ± 2,391,2	360,8 ± 66	0,395 ± 0,0227	0,098 ± 0,068

MA: Μη ανιχνεύσιμο

Κινητική ανάλυση PvGSTU1-1 με τα συστήματα AITC/GSH και CuOOH/GSH



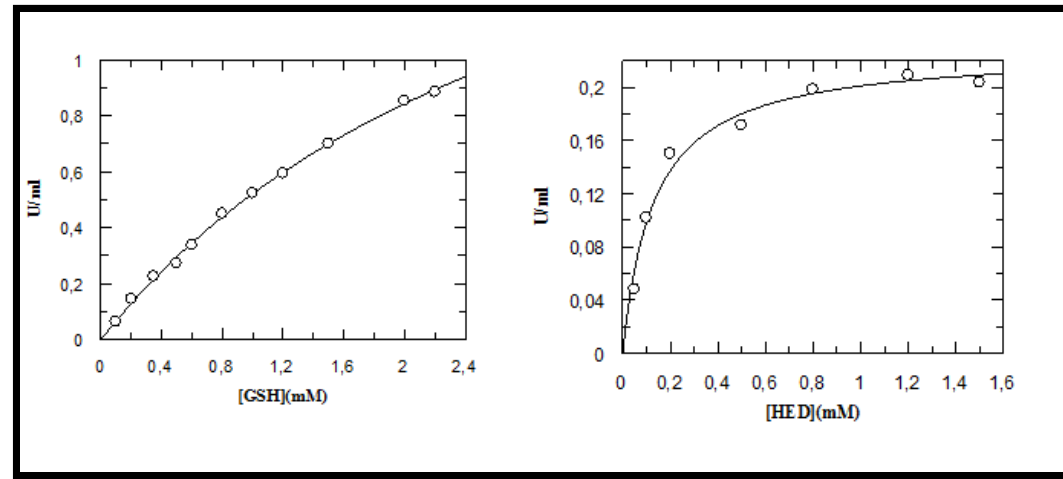
Ισοθειοκυανικός αλλυλεστέρας



Υπεροξειδίο του κουμενίου

Ενζύμο	K_m (μM) (GSH)	k_{cat} (min^{-1}) (GSH)	K_m (μM) (CuOOH)/(HED)	k_{cat} (min^{-1}) (CuOOH)/(HED)	k_{cat}/K_m ($\mu\text{L}^{-1} \text{min}^{-1}$) (GSH)	k_{cat}/K_m ($\mu\text{L}^{-1} \text{min}^{-1}$) (CuOOH)/(HED)
PvGSTU1-1	348 ± 134	$6,367 \pm 1,018$	7.780 ± 285	$19,9 \pm 5,9$	$0,0228 \pm 0,0118$	$0,0026 \pm 0,00085$

Κινητική ανάλυση *PuGSTF1-1* με τα συστήματα HED/GSH



k_{cat}/K_m

$(\mu\text{L}^{-1} \text{min}^{-1})$

(GSH)

$0,0228 \pm 0,0118$

$0,0353 \pm 0,0134$

k_{cat}/K_m

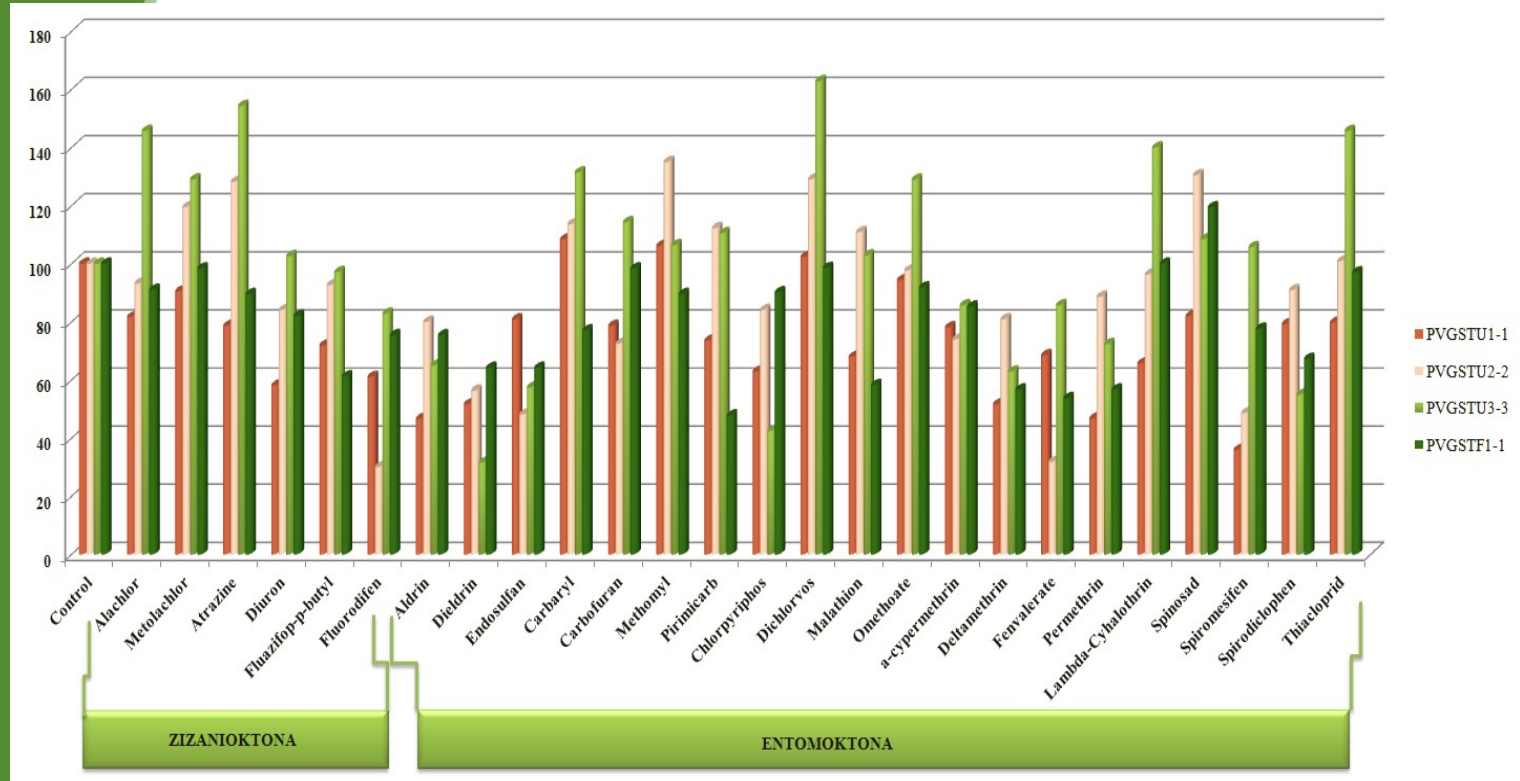
$(\mu\text{L}^{-1} \text{min}^{-1})$

(CuOOH)/(HED)

$0,0026 \pm 0,00085$

$0,085 \pm 0,015$

Σάρωση των ισοενζύμων ως προς ζιζανιοκτόνα και εντομοκτόνα



✓ Τα οργανοχλωριωμένα και τα πυρεθροειδή φαίνεται να αναστέλλουν περισσότερο όλα τα ισοένζυμα

✓ Σημαντική αναστολή (70%) προκαλεί το fluorodifen στο ισοένζυμο PvGSTU2-2

Η πρωτεϊνική μηχανική ως εργαλείο για την ανίχνευση φυτοπροστατευτικών προϊόντων- Κατασκευή βιοαισθητήρα

Σκοπός

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η ανάπτυξη βιοαισθητήρα ανίχνευσης και προσδιορισμού φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε περιβαλλοντικά δείγματα, βασισμένου στο ένζυμο GST.

Παράγοντες καταπόνησης

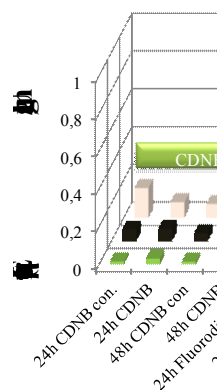
Παράγοντες καταπόνησης φυτών

Αύξηση της GST δραστηριότητας κατά 4,7 και 6,8-φορές, για τις συγκεντρώσεις νικελίου 100 μM και 200 μM

Νικέλιο	150 μM
Ψευδάργυρος	200 μM
Χρόμιο	50 μM
Ατραζίνη	0,2 mM
Fluazifop-p-butyl	1/250
Alachlor	0,2 mM
Αιθανόλη	20%
Θερμοκρασία	35-37 °C

αύξηση GST δραστηριότητας στον αραβόσιτο αραβοσίτου κατά 31% και 38%, στις 24 και 48 ώρες, αντίστοιχα. Επίσης παρατηρήθηκε αύξηση κατά 59% και 29% μόνο στις 48 ώρες, στα φυτά *Triticum aestivum* L. και *Sorghum bicolor* L., αντίστοιχα (Cataneo et al., 2002).

Βιοχημική ανάλυση των φυτικών εκχυλισμάτων



Η καταπόνηση των 24h επηρέασε

σε

48h
 GST
 ζ. max,
 λωρίδιο
vulgaris
 δράση
 τα φυτά

ΦΥΤΑ	CDNB	CuOOH	Fluorodifen	Ethacrynic acid	NBD-Cl
<i>P. vulgaris</i>					
Φύλλα	1,4 φορές	2,8 φορές	-	1,4 φορές	1,3 φορές
Βλαστός	2,1 φορές	1,1 φορές	-	-	-
Ρίζα	2,3 φορές	3,2 φορές	*	-	-
<i>G. max</i>					
Φύλλα	1,7 φορές	2,1 φορές	-	2,2 φορές	-
Βλαστός	2,3 φορές	-	-	1,08 φορές	-
Ρίζα	1,5 φορές	-	-	5,6 φορές	-

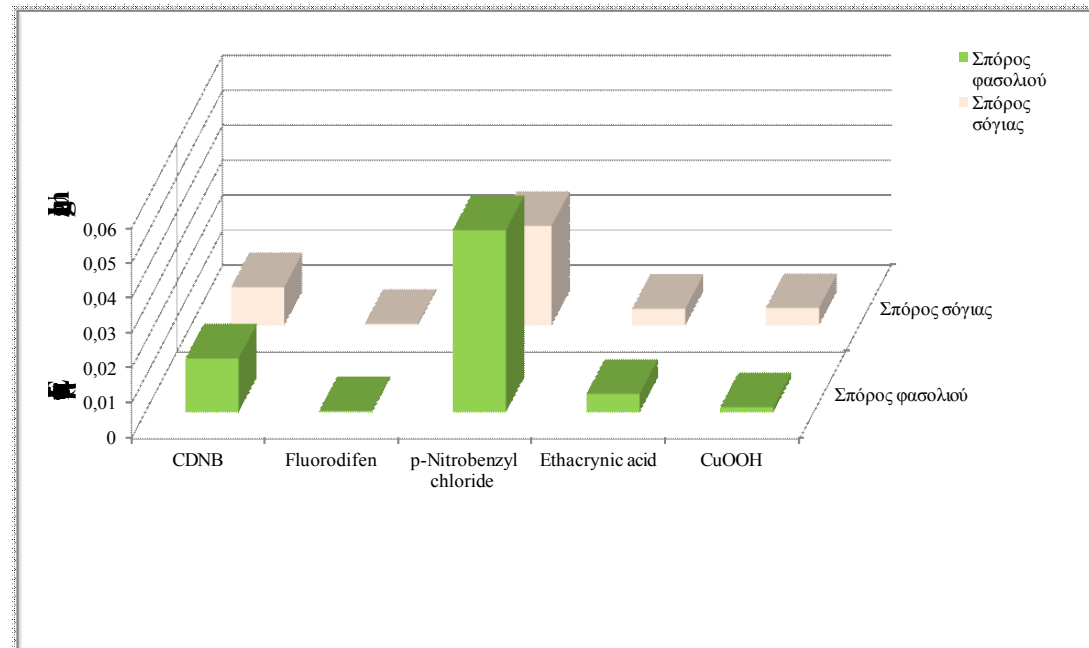
■ ΦΥΛΛΑ
 ■ ΒΛΑΣΤΟΣ
 ■ ΡΙΖΑ

Η καταπόνηση προκάλεσε δραστηριότητα φυτά ως π.εθακρινικό

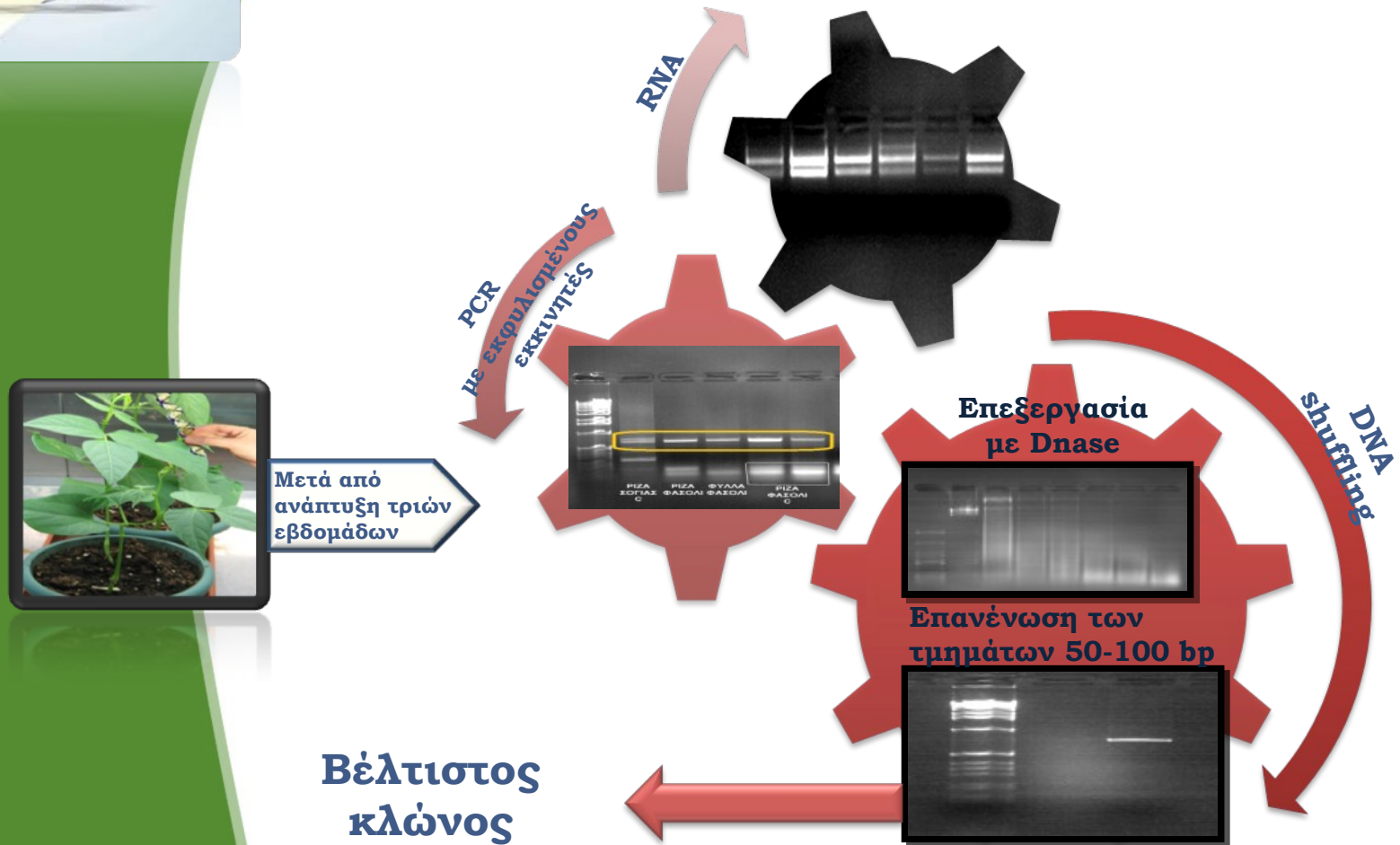
* Τα φυτά μάρτυρες δεν έδειξαν καθόλου δραστηριότητα ενώ τα καταπονημένα 48 ωρών παρουσίασαν ειδική δραστηριότητα 0,025 U/mg.

24h p-Nitro 4h 24h 48h

Βιοχημική ανάλυση των εκκυλισμάτων των σπόρων

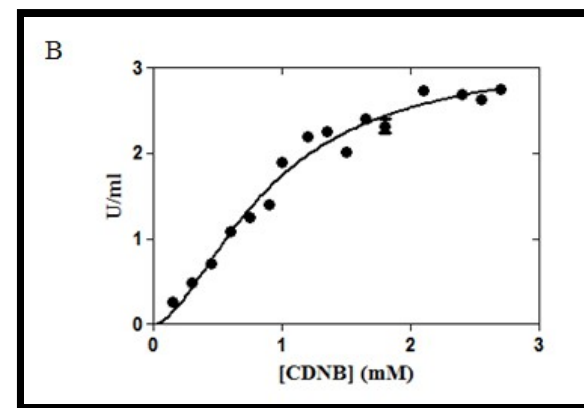
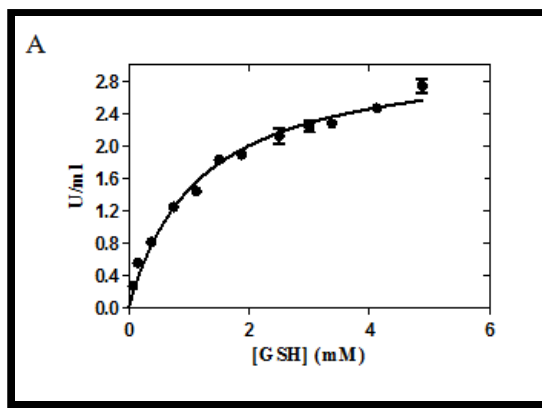
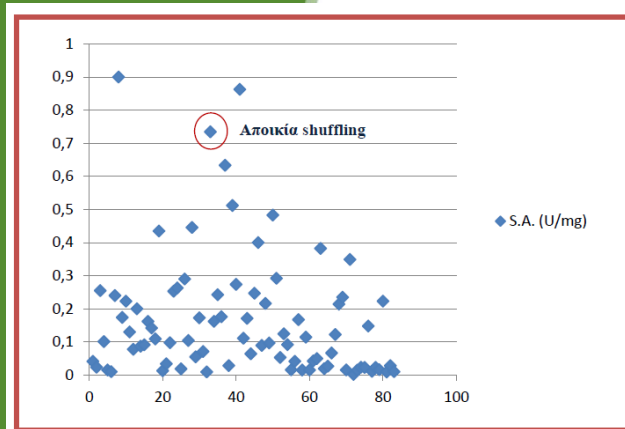


Πειραματική διαδικασία

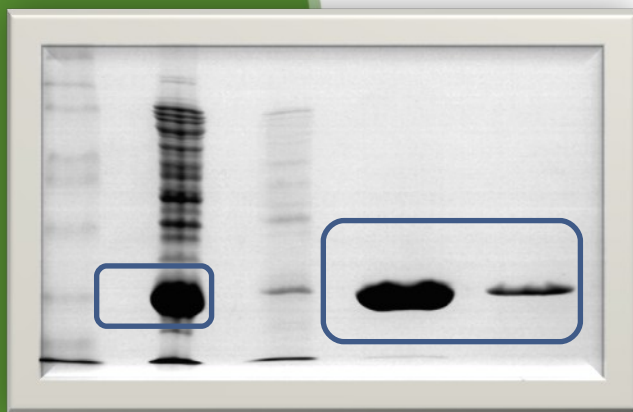


Δημιουργήθηκε cDNA βιβλιοθήκη από τα καταπονημένα φυτά *Phaseolus vulgaris* και *Glycine max* χρησιμοποιώντας κατάλληλους εκφυλισμένους εκκινητές και αντίστροφη μεταγραφή-PCR. Τα GST γονίδια υποβλήθηκαν σε *in vitro* κατευθυνόμενη εξέλιξη. Η βιβλιοθήκη χιμαιρικών GST γονιδίων που προέκυψε κλωνοποιήθηκε σε φορέα κατάλληλο για έκφραση σε *E. coli*. Σάρωση της βιβλιοθήκης οδήγησε στην επιλογή μιας νέας μορφής GST ενζύμου. Η μορφή αυτή εμφανίζει ιδιαίτερα υψηλή δράση μεταφοράς και υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης. Μελετώντας 65 διαφορετικά φυτοπροστατευτικά προϊόντα βρέθηκαν κυρίως οι ομάδες των στρομπιλουρινών και οξαζολιδινονών μυκητοκτόνων, καθώς και τα οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα να είναι ισχυροί αναστολείς του ενζύμου.

Από το DNA shuffling επιλέχθηκε το νέο ένζυμο τ τάξης *PvGmGSTUG*

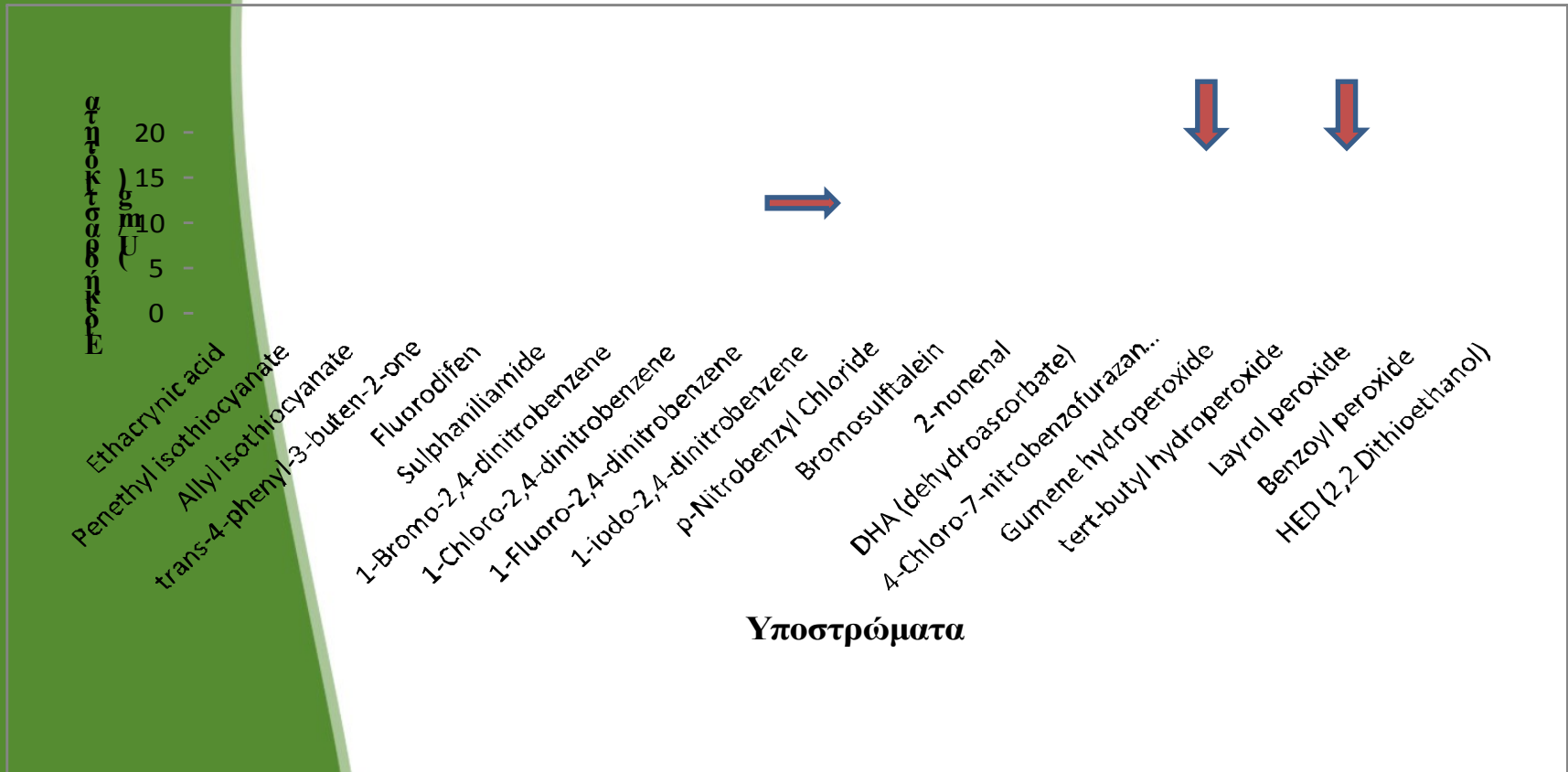


Πίνακας 5.6. Κινητική ανάλυση του ενζύμου *PvGmGSTUG* για το σύστημα CDNB/GSH

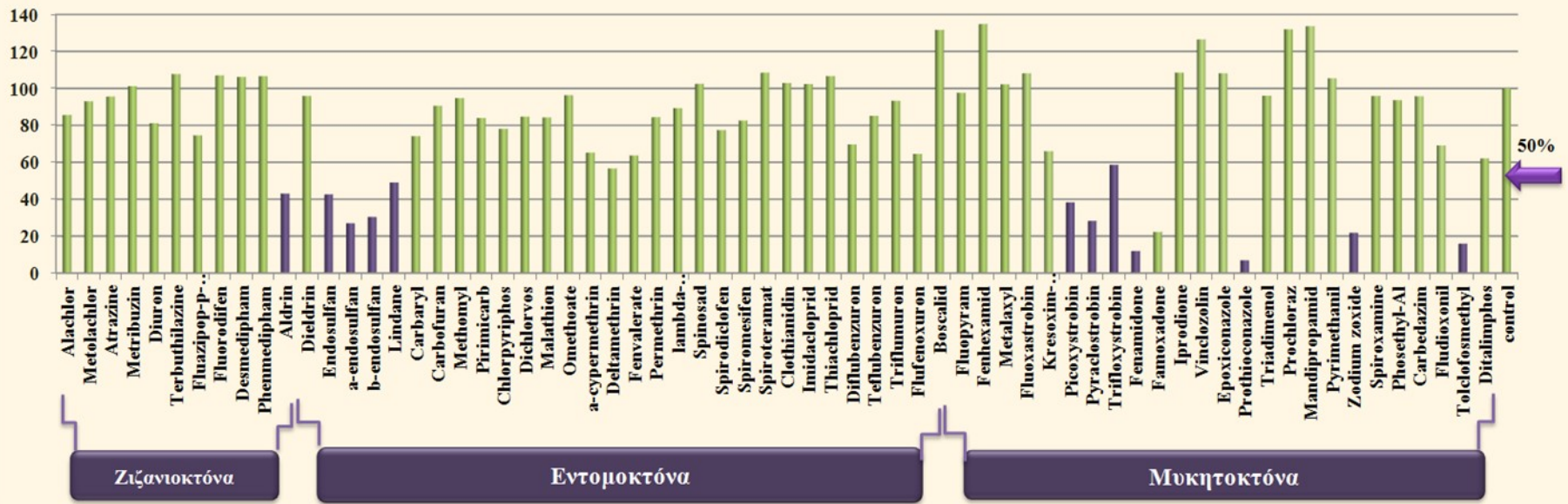


	K_m (mM) (GSH)	k_{cat} (min^{-1}) (GSH)	k_{cat}/K_m ($\text{mM}^{-1} \text{min}^{-1}$) (GSH)
	$1,169 \pm 0,103$	$193,6 \pm 5,83$	$167,35 \pm 19,73$
<i>PvGmGSTUG</i>	$S_{0,5}$ (mM)	k_{cat} (min^{-1})	μH (CDNB)
	(CDNB)	(CDNB)	
	$0,89 \pm 0,06$	$198,7 \pm 9,5$	$1,7 \pm 0,15$

Βιοχημική μελέτη του ενζύμου *PvGmGSTUG*



Σάρωση του ενζύμου PnGmGSTUG ως προς φυτοπροστατευτικά προϊόντα



Ζιζανιοκτόνα

Εντομοκτόνα

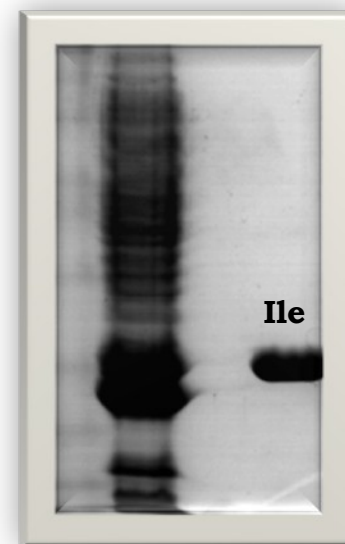
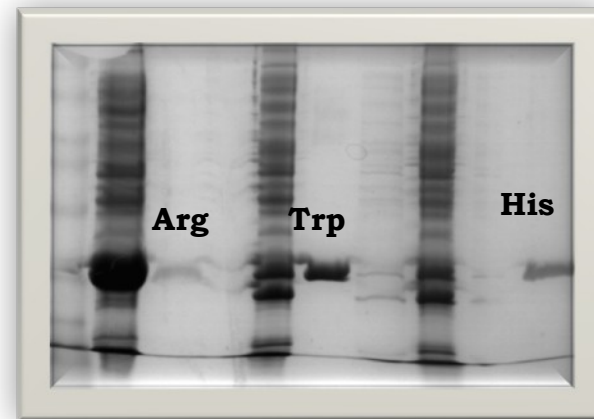
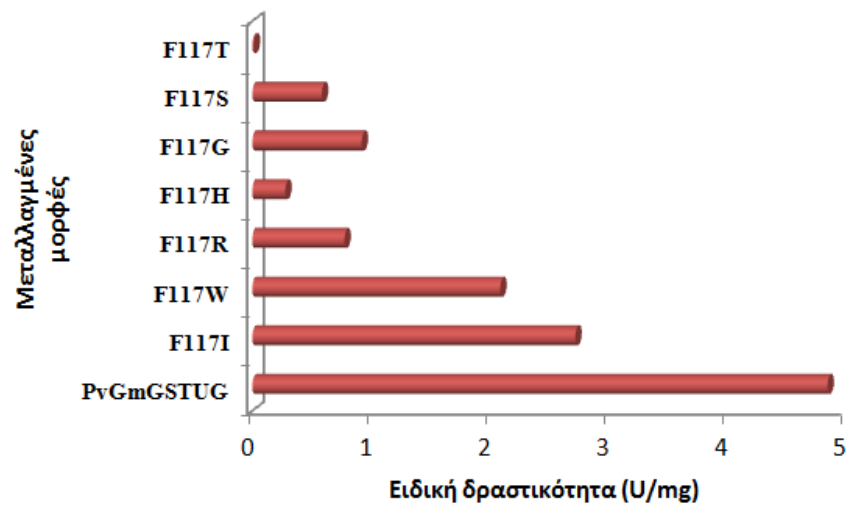
Μυκητοκτόνα

Ζιζανιοκτόνα

Εντομοκτόνα

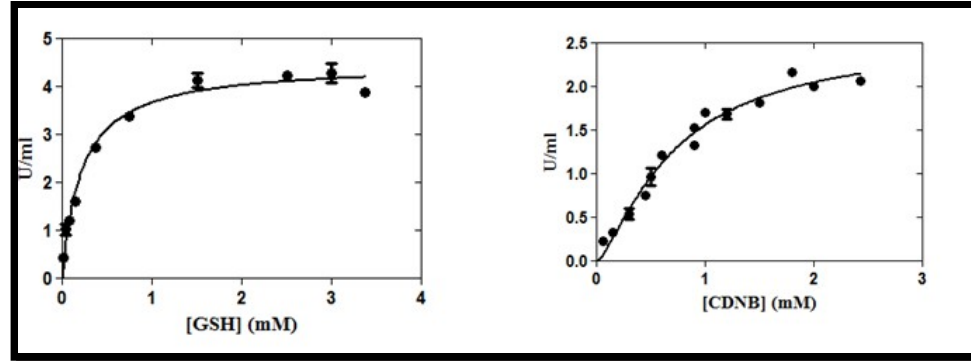
Μυκητοκτόνα

Νέες μεταλλαγμένες μορφές



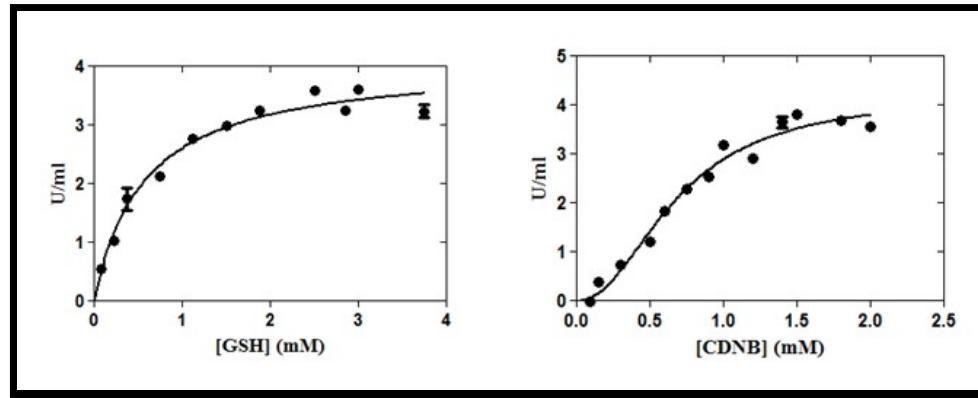
Νέες μεταλλαγμένες μορφές

Ισολευκίνη



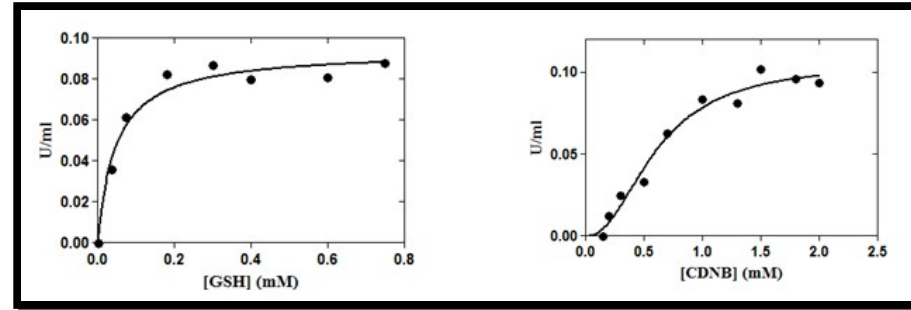
Μορφή	K_m (mM) (GSH)	k_{cat} (min^{-1}) (GSH)	k_{cat}/K_m ($\text{mM}^{-1} \text{min}^{-1}$) (GSH)
F117I	$0,214 \pm 0,024$	$114,7 \pm 2,82$	$544,305 \pm 74,225$
F117W	$0,558 \pm 0,066$	$194 \pm 6,135$	$354,224 \pm 52,856$
Μορφή	$S_{0,5}$ (mM)(CDNB)	k_{cat} (min^{-1}) (CDNB)	n_H (CDNB)
F117I	$0,71 \pm 0,09$	$65,589 \pm 5,13$	$1,364 \pm 0,16$
F117W	$0,683 \pm 0,052$	$200,095 \pm 12,143$	$2,11 \pm 0,27$

Τρυπτοφάνη

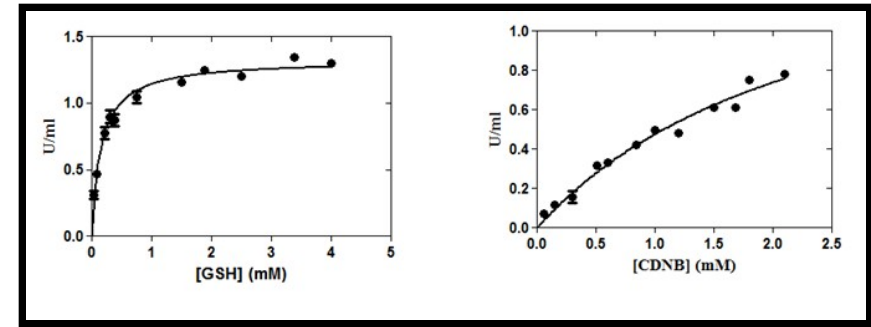


Νέες μεταλλαγμένες μορφές

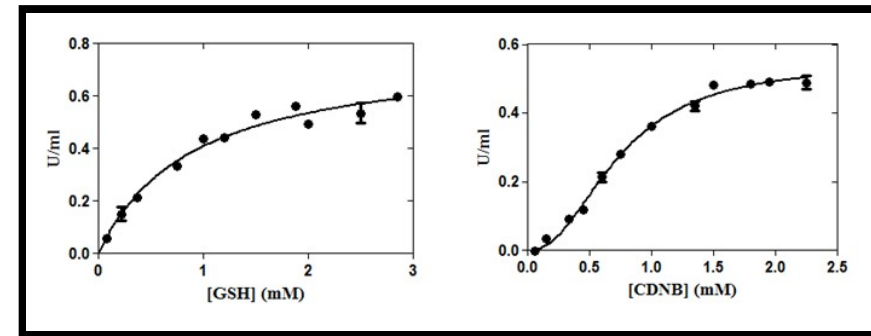
Θρεονίνη



Σερίνη



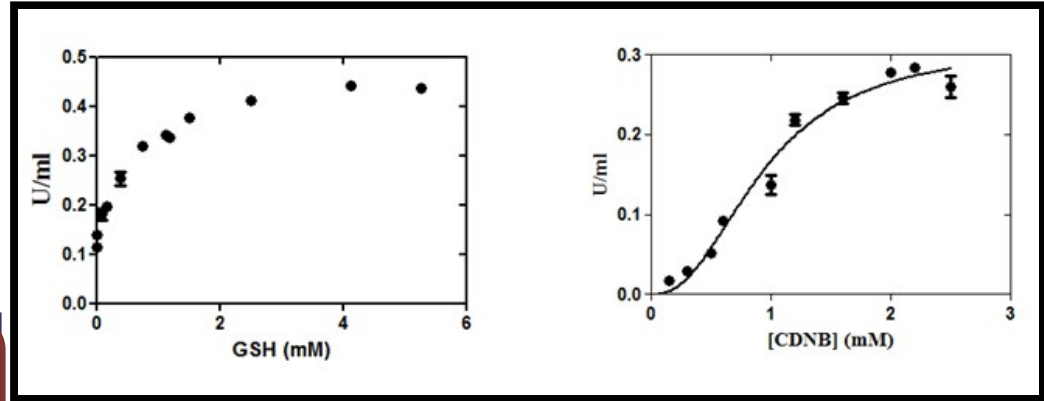
Γλυκίνη



Μορφή	K_m (mM) (GSH)	k_{cat} (min ⁻¹) (GSH)	k_{cat}/K_m (mM ⁻¹ min ⁻¹) (GSH)
F117G	0,887 ± 0,118	59,59 ± 2,96	68,844 ± 12,496
F117S	0,154 ± 0,013	75,65 ± 1,3	492,8 ± 41,6
F117T	0,047 ± 0,012	0,271 ± 0,013	6,243 ± 1,871
Μορφή	$S_{0,5}$ (mM) (CDNB)	k_{cat} (min ⁻¹) (CDNB)	n_H (CDNB)
F117G	0,94 ± 0,087	24,077 ± 1,69	2,316 ± 0,337
F117S	K_m (mM): 2,44 ± 0,45	93,91 ± 11,04	k_{cat}/K_m (mM ⁻¹ min ⁻¹): 43,205 ± 14,535
F117T	0,61 ± 0,081	0,305 ± 0,026	2,174 ± 0,46

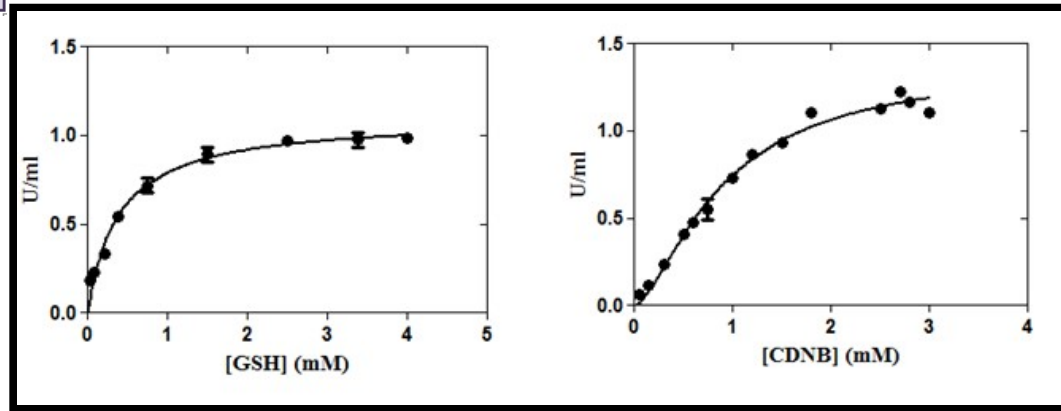
Νέες μεταλλαγμένες μορφές

Αργινίνη

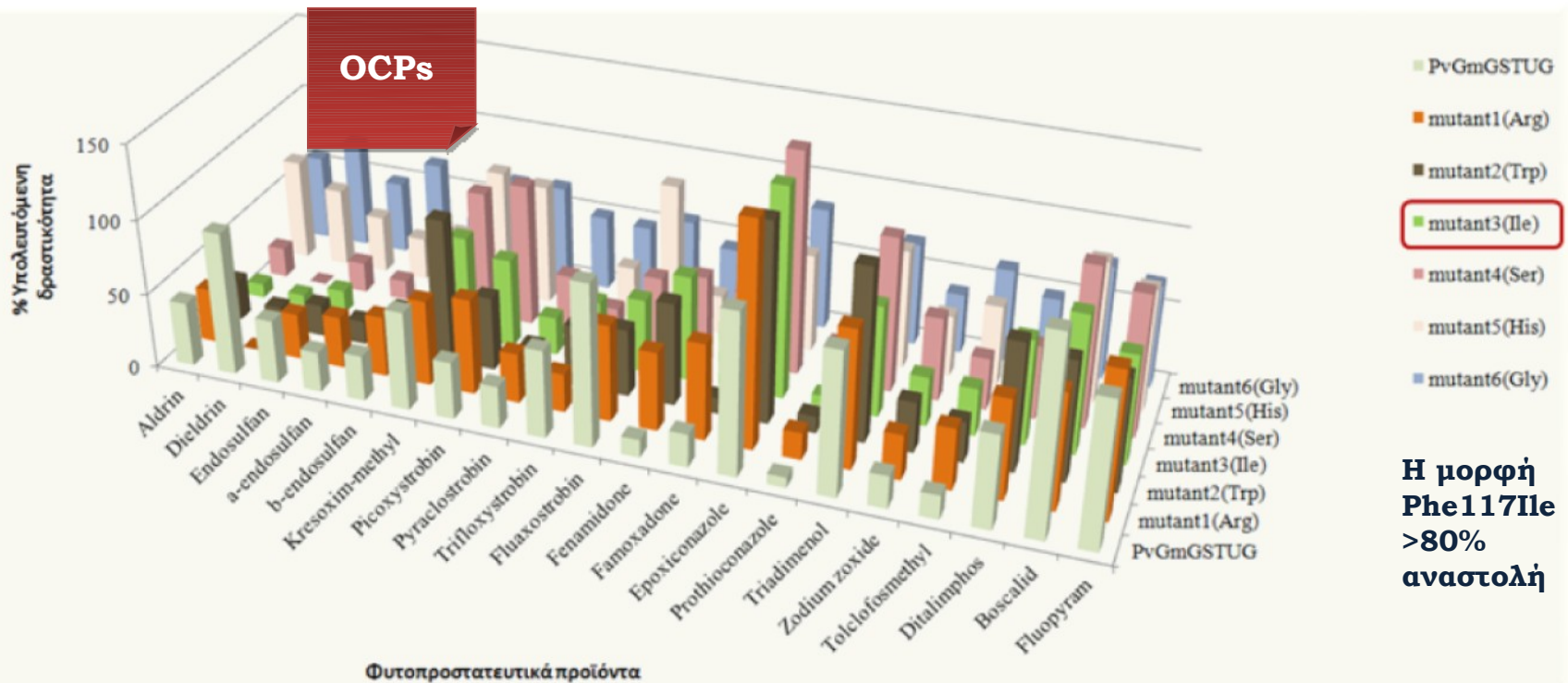


Μορφή	K_m (mM) (GSH)	k_{cat} (min^{-1}) (GSH)	k_{cat}/K_m ($mM^{-1} min^{-1}$) (GSH)
F117R	Δε υποκείμε στην εξίσωση Michaelis-Menten		
F117H	$0,386 \pm 0,042$	$68,68 \pm 1,9$	$180,6 \pm 24,58$
Μορφή	$S_{0,5}$ (mM) (CDNB)	k_{cat} (min^{-1}) (CDNB)	n_H (CDNB)
F117R	$0,733 \pm 0,034$	$42,015 \pm 1,4$	$2,22 \pm 0,17$
F117H	$0,893 \pm 0,073$	$86,25 \pm 4,12$	$1,53 \pm 0,13$

Ιστιδίνη

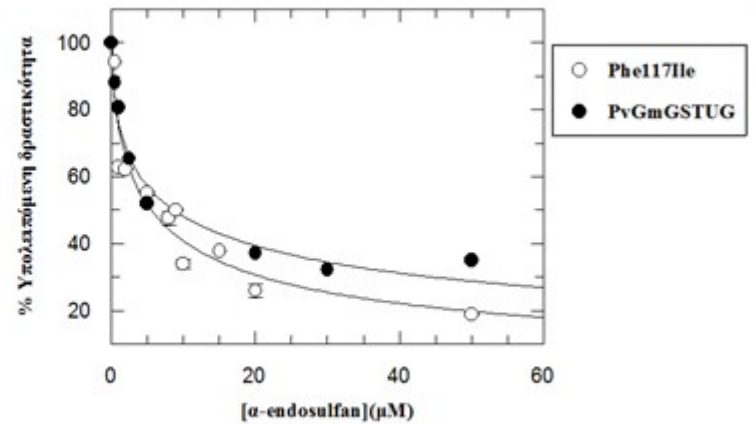
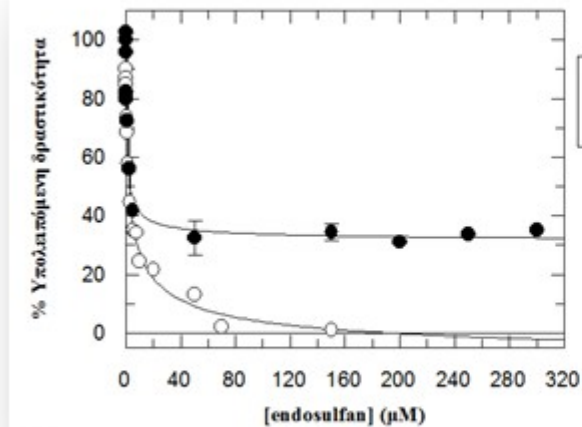


Σάρωση 20 φυτοπροστατευτικών προϊόντων για την εύρεση τυχόν αναστολής των νέων μορφών



Φαίνεται η μορφή Phe117Ile να παρουσιάζει υψηλή αναστολή με το a-endosulfan (100%). Η τοξικότητα και η υπολειμματικότητα της συγκεκριμένης μορφής εντομοκτόνου συνάγουν στην αναγκαιότητα προσδιορισμού του σε περιβαλλοντικά δείγματα. Συνεπώς σε αυτό το φυτοπροστατευτικό προϊόν βασίστηκε και η κατασκευή του βιοαισθητήρα.

Εξάρτηση της ανασταλτικής ισχύος του εντομοκτόνου endosulfan και του ισομερές α -endosulfan για τις μορφές *PvGmGSTUG* και *Phe117Ile*



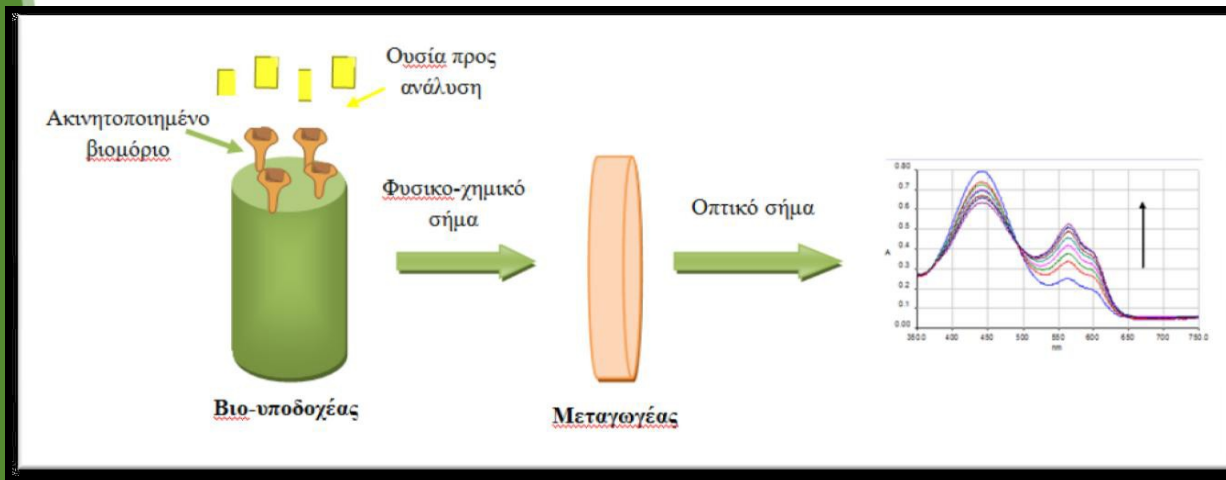
Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η μεταλλαγμένη μορφή *Phe117Ile* παρουσιάζει υψηλή ευαισθησία ως προς το endosulfan και το α -endosulfan.

Βιοαισθητήρες

Οι βιοαισθητήρες αποτελούν αναλυτικά εργαλεία ανίχνευσης και προσδιορισμού βιομορίων.

- ✓ Βιομηχανία τροφίμων
- ✓ Κλινικές δοκιμές
- ✓ Περιβαλλοντικό έλεγχο

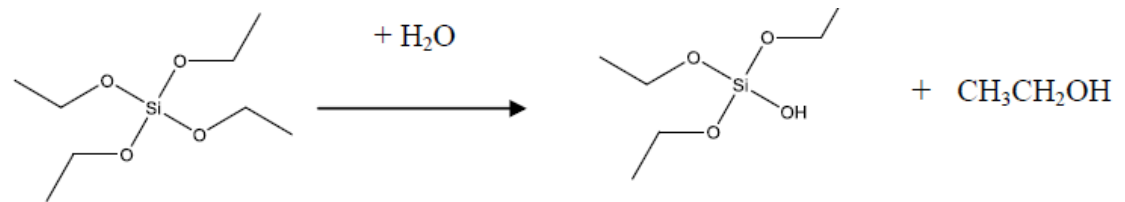
- ❑ χαμηλό κόστος
- ❑ τα άμεσα αποτελέσματα
- ❑ συνεχή χρήση
- ❑ ελάχιστη προετοιμασία δείγματος



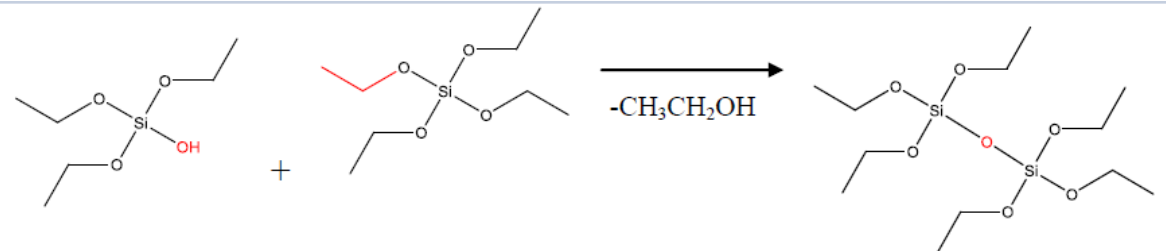
Ακίνητοποίηση της μορφής Phe117Ile

Ο σχηματισμός του κολλοειδούς πηκτώματος για την ακίνητοποίηση του ενζύμου βασίστηκε στη διαδικασία σχηματισμού των Andreou και Clonis (2002). Το υβριδικό κολλοειδές περιείχε TEOS, PTMOS, CTAB, νερό, αιθανόλη και HCl 0,1 M. Ένζυμο και PEG σε αναλογία 1:1, γήρανση με TEOS

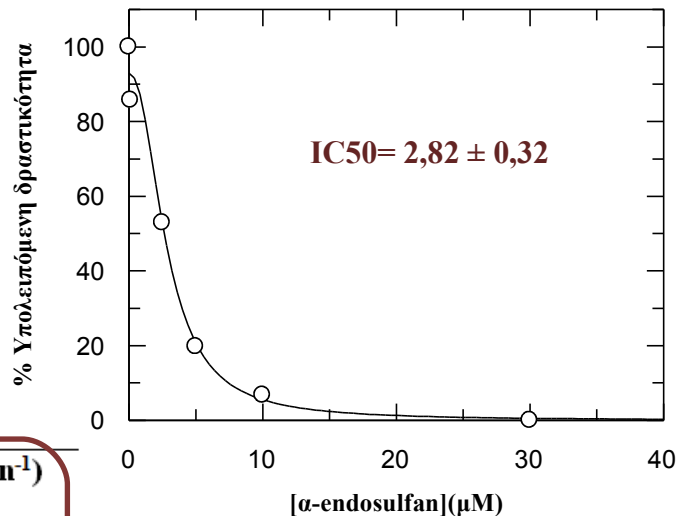
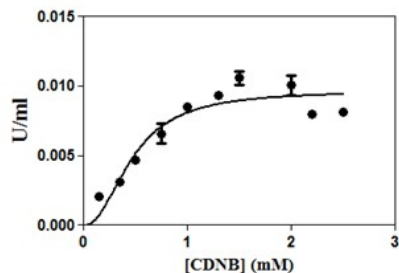
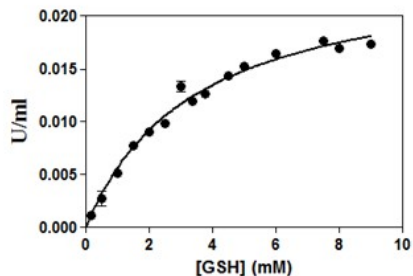
1. Υδρόλυση του τετρααιθοξυσιλανίου (TEOS)



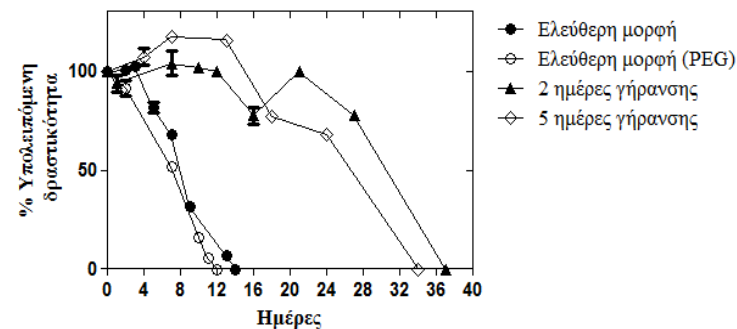
1. Συμπύκνωση



Κινητική ανάλυση της ακινητοποιημένης μορφής Phe117Ile σε κολλοειδές πήκτωμα (sol-gel)

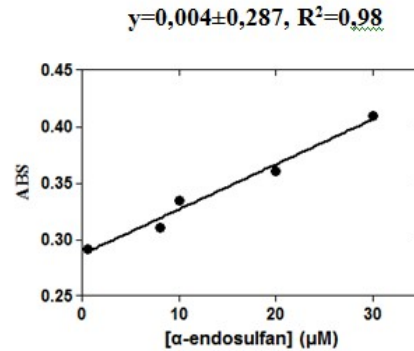
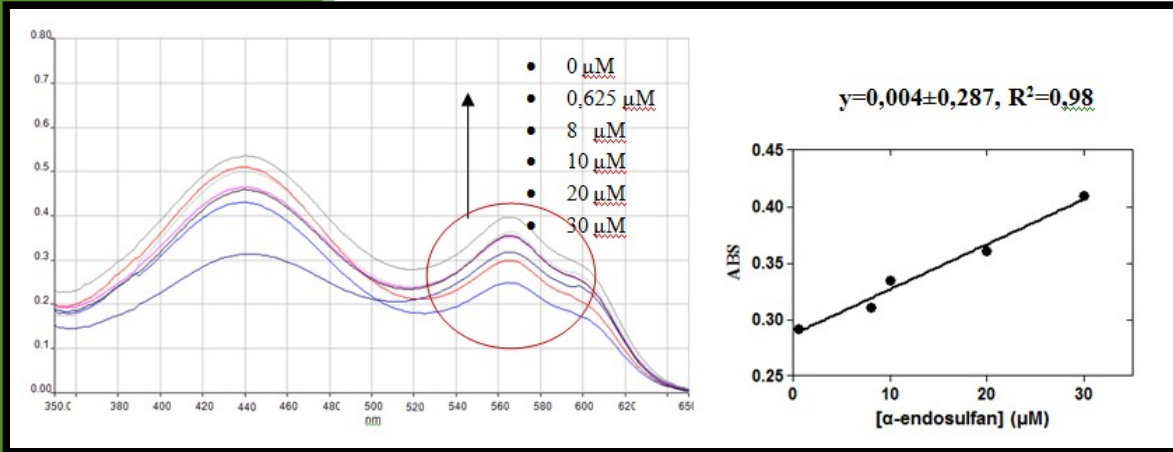
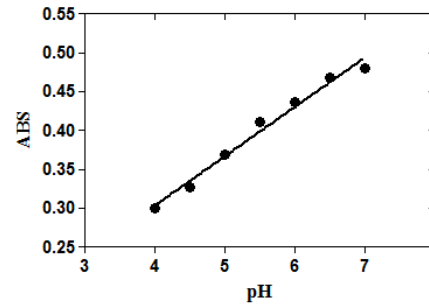
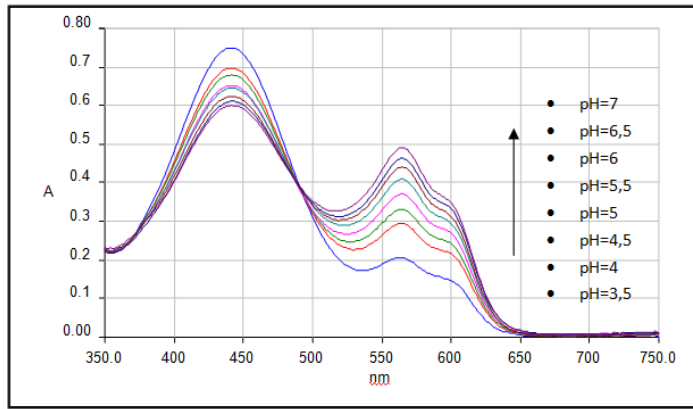


Μορφή	K_m (mM) (GSH)	k_{cat} (min ⁻¹) (GSH)	k_{cat}/K_m (mM ⁻¹ min ⁻¹) (GSH)
Phe117Ile	$3,376 \pm 0,277$	$0,639 \pm 0,022$	$0,191 \pm 0,022$
Μορφή	$S_{0,5}$ (mM) (CDNB)	k_{cat} (min ⁻¹) (CDNB)	n_H (CDNB)
Phe117Ile	$0,469 \pm 0,058$	$0,248 \pm 0,017$	$2,191 \pm 0,605$

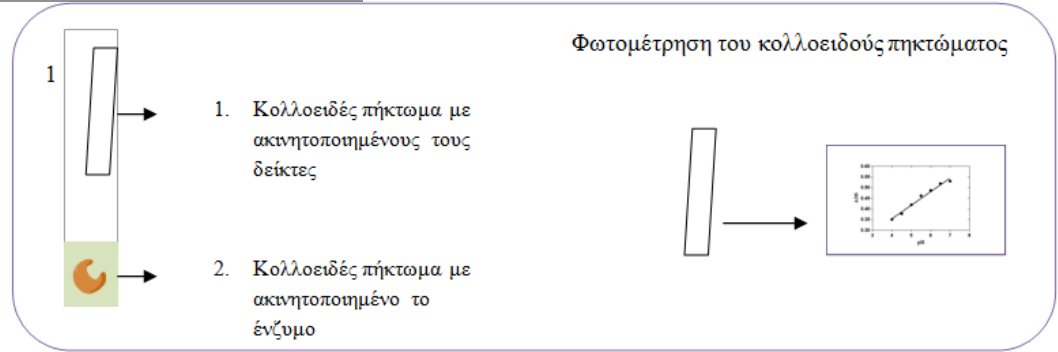


Η ακινητοποίηση του ενζύμου παρέτεινε τη λειτουργική του σταθερότητα για τουλάχιστον 20 ημέρες στους 4°C.

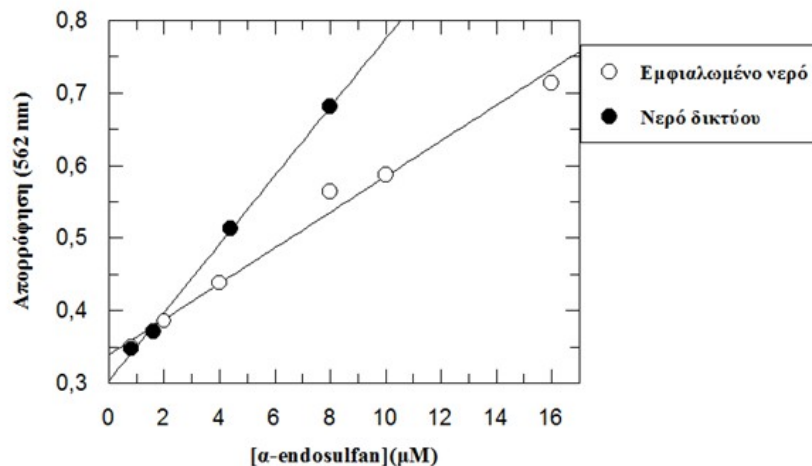
Ανάπτυξη οπτικού βιοαισθητήρα ανίχνευσης του α-endosulfan



Η σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης του α-endosulfan και της απορρόφησης είναι γραμμική. Το αναλυτικό εύρος γραμμικότητας για το α-endosulfan είναι από 0-30 μM.



Προσδιορισμός του α -endosulfan δείγματα νερού με την μέθοδο που αναπτύχθηκε



Δείγμα	μM	CONTROL	SPIKED	%
Εμφιαλωμένο νερό	0,8	0,34	0,35	102,94
	2	0,41	0,38	94,15
	4	0,5	0,44	87,6
	8	0,55	0,56	102,73
	10	0,7	0,58	83,86
	16	0,8	0,714	89,25
RDS (%)				8,57
Νερό δικτύου	0,8	0,33	0,35	104,52
	1,6	0,42	0,37	88,75
	4	0,50	0,51	102,19
	8	0,68	0,68	98,98
RDS (%)				7,05

Συμπεράσματα

GSTs:

- ✓ Αποτελούν εργαλείο σε μεθόδους βιοανάλυσης.
- ✓ Είναι καλή πλατφόρμα για την πρωτεϊνική μηχανική με ιδιαίτερο ενδιαφέρον.
- ✓ Προσφέρουν αξιόλογες καταλυτικές δυνατότητες ώστε να προσαρμοστούν και να διευρυνθούν για την ανάπτυξη βιοτεχνολογικών εφαρμογών.

Ευχαριστίες

Καθηγητές

Αν. Καθηγητή Λάμπρου Νικόλαο
Καθηγητή Κλώνη Ιωάννη
Επίκουρο Καθ. Φλεμετάκη Μανώλη

Συνεργάτες-φίλους

Παππά Ευαγγελία
Καραμήτρο Χρήστο
Όλους τους προπτυχιακούς –
μεταπτυχιακούς φοιτητές

Οικογένεια μου

Βασίλη-Γιώργο
Γονείς μου-Νίκη
Θείους-Σοφιάννα

Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) - Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος II . Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου.

Σας ευχαριστώ πολύ

**«Εμπειρία είναι το όνομα
που δίνουμε στα λάθη μας»
*Oscar Wilde***