

Πρωτεομική ανάλυση του *Bactrocera oleae* με έμφαση σε συστήματα φυλοδιαχωρισμού και μηχανισμούς ανθεκτικότητας σε εντομοκτόνα

Σαγρή Ε.¹, Στραβοδήμος Γ.¹, Σαμιωτάκη Μ.², Παναγιώτου Γ.², Μαθιόπουλος Κ.Δ.¹, Κοντού Μ.¹

¹ Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα

² Ερευνητικό Κέντρο Βιοϊατρικών Επιστημών "Αλέξανδρος Φλέμινγκ", Αθήνα



ΕΙΣΑΓΩΓΗ

- Διερεύνηση διαφορετικής έκφρασης του πρωτεόματος σε αρσενικά και θηλυκά άτομα δάκου
- Διερεύνηση διαφορετικής έκφρασης του πρωτεόματος σε ευαίσθητα και ανθεκτικά στο εντομοκτόνο spinosad άτομα με σκοπό την αποκάλυψη μηχανισμών ανθεκτικότητας

Υλικά και μέθοδοι

• A. Διαφορές αρσενικών-θηλυκών εντόμων σε 2D-PAGE

- Συλλογή ♀ και ♂ κεφαλιών δάκου και διαχωρισμός πρωτεϊνών με 2D-PAGE

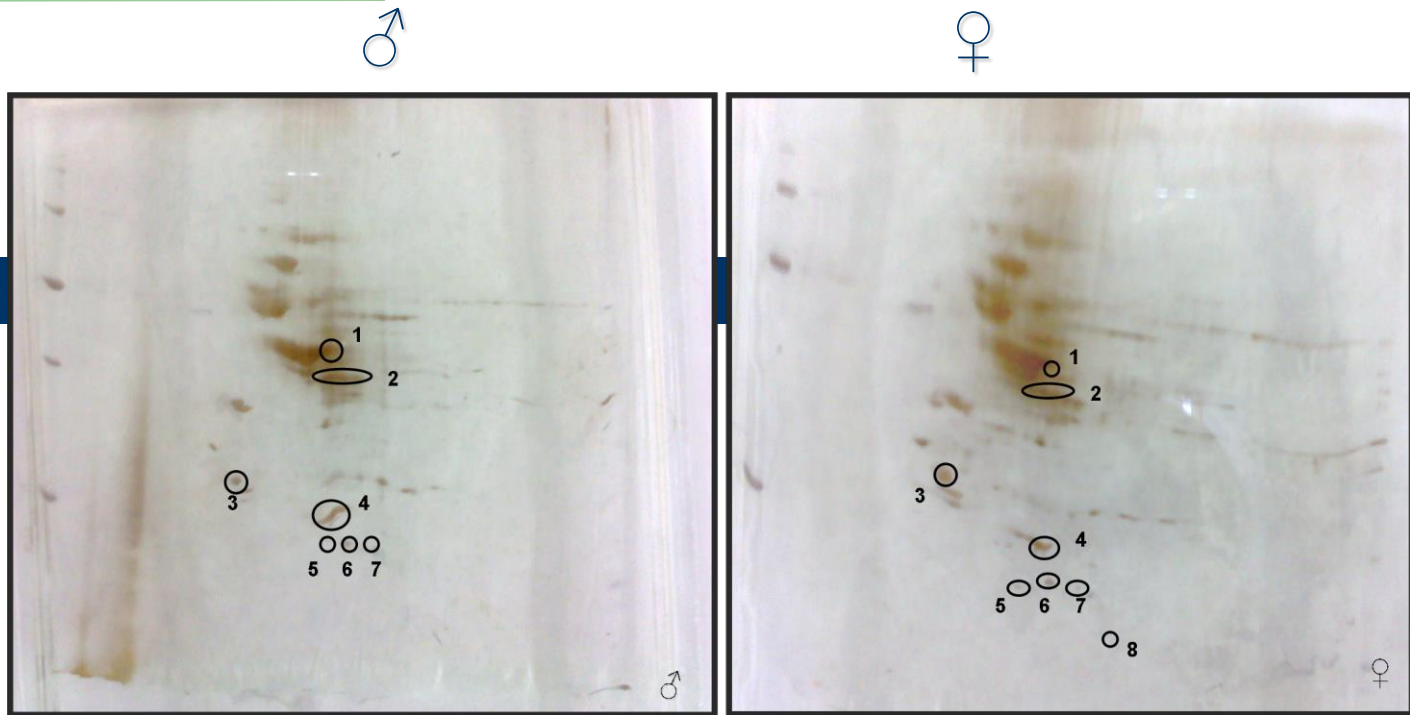
1^η διάσταση: 17cm IEF strips (pH 3–10)

- 2^η διάσταση: 12% SDS–PAGE
- Χρώση με silver nitrate
- Αποκοπή διαφορετικών στιγμάτων →→ πέψη με τρυψίνη
- Επεξεργασία πεπτιδίων με φασματογράφο μάζας
- Ταυτοποίηση πρωτεϊνών μέσω βάσης δεδομένων της *Drosophila melanogaster*

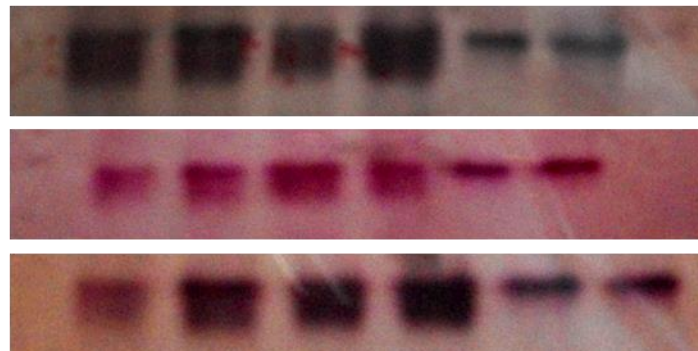
• B. Οι εστεράσες δεν εμπλέκονται στην ανθεκτικότητα του δάκου στο Spinosad

- Ομογενοποίηση ♀-♂- susceptible -resistant κεφαλιών *B. oleae* σε μη αποδιατακτικό διάλυμα λύσης, ηλεκτροφόρηση σε 7,5 % native gel και επώαση σε υπόστρωμα α- ή β-naphthyl acetate
- Καθορισμός παρουσίας α- ή β- εστερασών

Αποτελέσματα



♂S ♀S ♂R ♀R ♂S ♀S



α

β

α+β

Αποτελέσματα

Table1. Proteins Identified by Mass Spectrometry after Separation by 2D-PAGE

Spot no	Protein name	Accession no.	<i>Mw(kDa)</i>	pI	Length (aa)
2	ArgK-PB	FBpp0076271	47.9	6.04	432
2	IDH(Isocitrate Dehydrogenase)	Q9VWH4	40.8	7.36	377
3	14-3-3ε	FBpp0082989	29.2	4.84	256
3	14-3-3ζ	FBpp0087500	28.3	4.93	248
3	Snap25	FBpp0110435	23.7	4.61	212
4	Ranbp21	FBpp0074528	139.1	6.86	1241
6	Act87E	FBpp0082253	41.8	5.48	376
6	Act5C	FBpp0070788	41.8	5.48	376
6	CG30325-PA	FBpp0086000	86.5	9.96	750
6	GstD1-PA	FBpp0082077	23.9	7.23	209
6	GstD9-PA	FBpp0082078	25.4	5.34	218
7	Jafrac 1-PB (Peroxiredoxin)	FBpp0073594	21.7	5.34	194

Συζήτηση- συμπεράσματα

Δεν βρέθηκαν διαφορές στην δράση των εστερασών

- αρσενικά και θηλυκά έντομα
- ευαίσθητα και ανθεκτικά έντομα στο Spinosad

- Θηλυκά έντομα: 14-3-3 ε, 14-3-3 ζ, Peroxiredoxin και Actin
- Αρσενικά έντομα: Isocitrate DH και Arg-kinase
- Διαφορετικές λειτουργικές ομάδες πρωτεϊνών:
 - κυτοσκελετού cytoskeletal
 - μεταβολικές metabolic
 - συναπτοσώματος synaptosomal
 - μεταβίβασης σηματοδότησης signaling transduction
 - οξειδωτικού στρες oxidative stress

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.



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

**ΕΥΧΑΡΙΣΤΩ ΓΙΑ ΤΗΝ
ΠΡΟΣΟΧΗ ΣΑΣ**