ΒΙΟΛ-491 Ειδικά Κεφάλαια Βιοτεχνολογίας και Απεικονιστικής Φυτών

https://www.imbb.forth.gr/en/research-en/plant-molecular-biology/item/4119-panagiotis-n-moschou

https://pmoschoulab.blog/home/

FORTH
INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY & BIOTECHNOLOGY

https://twitter.com/Panosmoschou

ΕΥΡΩΠΗ

SLU

Το μάθημα

1. **Γνώση βασικών εννοιών και αρχών**-ορολογία σχετική με την απεικονιστική, αρχές οπτικής ανάλυσης. Βιοτεχνολογικές απαιτήσεις της κοινωνίας μας.
2. **Ανάλυση και σύνθεση** δεδομένων απεικονιστικής, πειραματικός σχεδιασμός, λύση προβλημάτων.
3. **Σχεδιασμός μελέτης** που σχετίζονται με διάφορες διαδικασίες εντός του φυτικού κυττάρου.
4. **Σύνθεση και αξιολόγηση** πειραματικών προσεγγίσεων για απάντηση βασικών ερωτημάτων βιολογίας και βιοτεχνολογίας.

Το μάθημα

1. **Εισαγωγή** (γνωριμία, τρόπος διδασκαλίας, μαθησιακά αποτελέσματα, γιατί μας ενδιαφέρει η απεικόνιση φυτών και η βιοτεχνολογία)
2. **Επιστημονική απεικόνιση** (λήψη, δομή, οργάνωση)
3. **Ανάλυση εικόνας** (λογισμικό FIJI, εργασία 1)
4. **Εργασία 1** (συζήτηση 1)
5. **Σύγχρονες μέθοδοι απεικονιστικής** (συνεστιακή, STED, PALM κτλ)
6. **Σύγχρονες μέθοδοι απεικονιστικής II** (AFM, molecular motors)
7. **Λειτουργική απεικονιστική ανάλυση** (FRAP, FRET, FLIM κτλ)
8. **Σύγχρονες μέθοδοι φασματοσκοπίας** (confocal RAMAN, FTIR)
9. **Βιοτεχνολογικές εφαρμογές σε φυτά** (πώς εφαρμόζω κάτι, πώς θέτω βιολογικά ερωτήματα, αναπτυξιακή πλαστικότητα, κύριες καταπονήσεις, μοριακοί μηχανισμοί αποκρίσεων)
10. **Γονιδιακή επεξεργασία και απεικόνιση** (CRISPR κτλ)
11. **Οργανίδια που δεν περικλείονται από μεμβράνη** (πυρηνίσκος κτλ)
12. **Εργασία 2** (εφαρμογή)
13. **Παρουσιάσεις**

Το μάθημα

Γλώσσα αξιολόγησης: Ελληνική ή άλλη γλώσσα.

Μέθοδοι αξιολόγησης:

- **Γραπτή τελική εξέταση που περιλαμβάνει ερωτήσεις σύντομης απάντησης, ανάπτυξης, επίλυση προβλημάτων και πολλαπλής επιλογής (100% του τελικού βαθμού) ή παρουσίαση σε ομάδα (ο αριθμός μελών θα διευκρινιστεί)**
- **Διάρκεια**

Βαθμολόγηση (0-10)

- **Γνώση βασικών εννοιών-ορολογία σχετική με το μάθημα.**
- **Κατανόηση εννοιών που σχετίζονται με απεικόνιση.**
- **Οι επιπλέον δεξιότητες >5**
- **Επίπεδο δυσκολίας**
- **Όλες οι γνώσεις παρέχονται κατά τη διάρκεια των διαλέξεων**

Διαρκής γνώση και ενημέρωση

- **Μεταπτυχιακούς φοιτητές**
- **Ερευνητές**
- **Άλλους ενδιαφερόμενους**

Νέες δεξιότητες-Διάλεξη 1

1. Να **περιγράψετε** βασικές αρχές απεικονιστικής
2. Να **περιγράψετε** τη σημασία της βιοτεχνολογίας
3. Να **αναλύσετε** την ανάγκη για την απεικόνιση κυτταρικών διαδικασιών
4. Να **αναλύσετε** βασικές λειτουργικές οντότητες ενός ιστού, οργάνου και κυττάρου

Τι θα θέλατε να ακούσετε; Τι έχετε ακούσει; Τι δεν είχατε κατανοήσει στη φυσιολογία φυτών; Τι θα θέλατε να μάθετε σχετικά με την ανάπτυξη φυτών; Τι βιοτεχνολογικές εφαρμογές μπορείτε να σκεφτείτε;

Φυτά: γιατί να τα κοιτάξουμε και γιατί να τα βελτιώσουμε;

www.plantcell.org/cgi/doi/10.1105/tpc.109.tt1009

Τα φυτά μας κάνουν χαρούμενους

Οι άνθρωποι που απολαμβάνουν τη θέα των φυτών στο χώρο εργασίας τους είναι περισσότερο ικανοποιημένοι από τη δουλειά τους!

Όχι όλοι…

Dravigne, A., Waliczek, T.M., Lineberger, R.D., Zajicek, J.M. (2008) The effect of live plants and window views of green spaces on employee perceptions of job satisfaction. HortScience 43: 183–187. Photo credit: tom donald

Τα φυτά είναι εκπληκτικοί οργανισμοί

Μεγαλύτερος οργανισμός (>100m)

Μεγαλύτερο άνθος (~1m)

Μακροβιότερος οργανισμός (~ 5000 έτη)

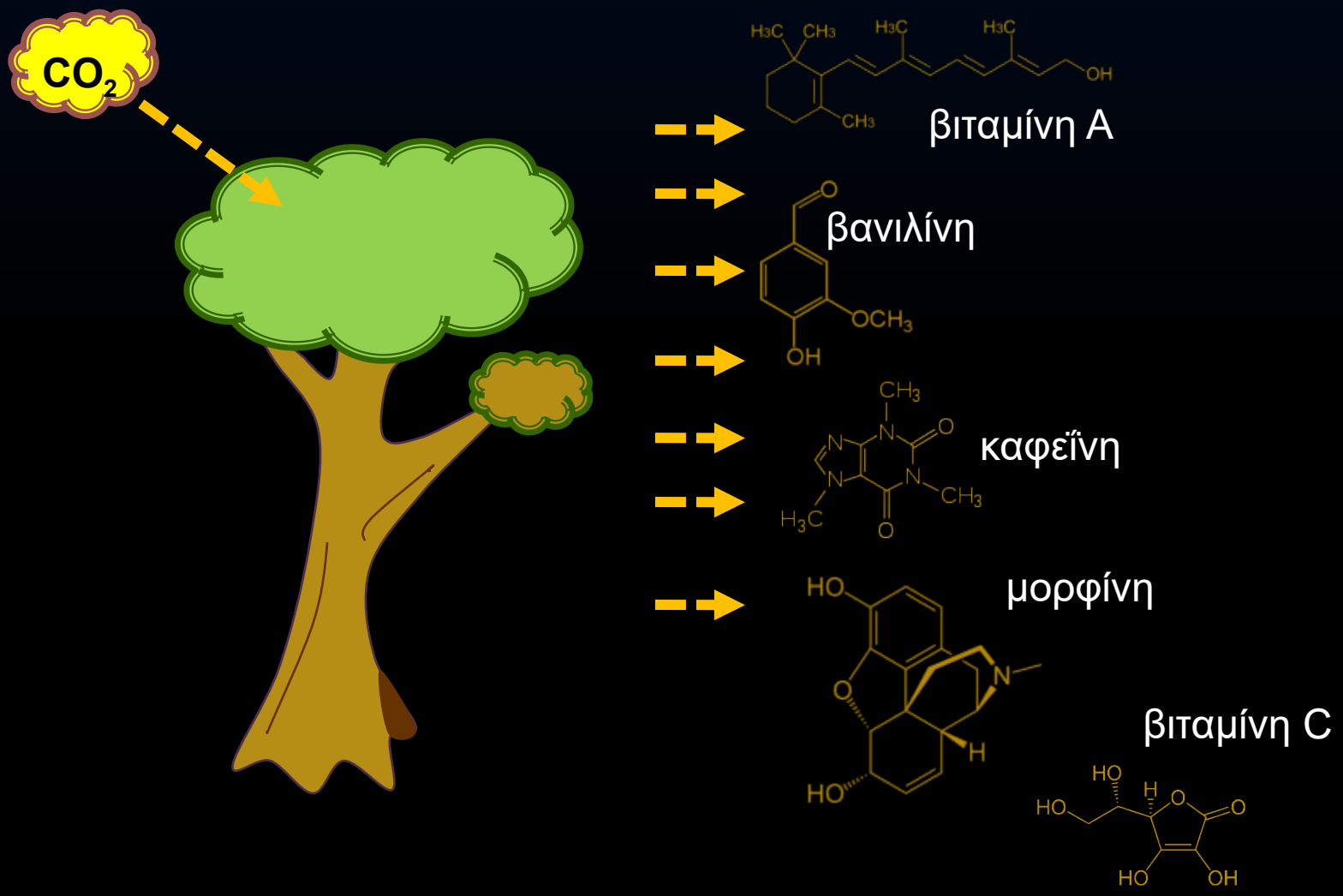
Photo credits: ma_suska; Bradluke22; Stan Shebs

Δε θα μπορούσαμε να επιβιώσουμε χωρίς τα φυτά

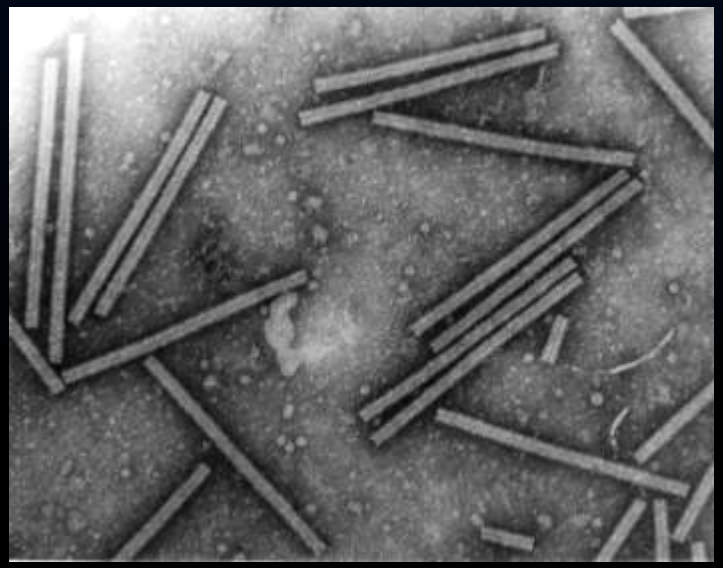
- **Τα φυτά παράγουν το οξυγόνο που αναπνέουμε.**

- **Τα φυτά αποθηκεύουν ενέργεια που καταναλώνουμε ως τροφή και χρησιμοποιούμε ως καύσιμο.**

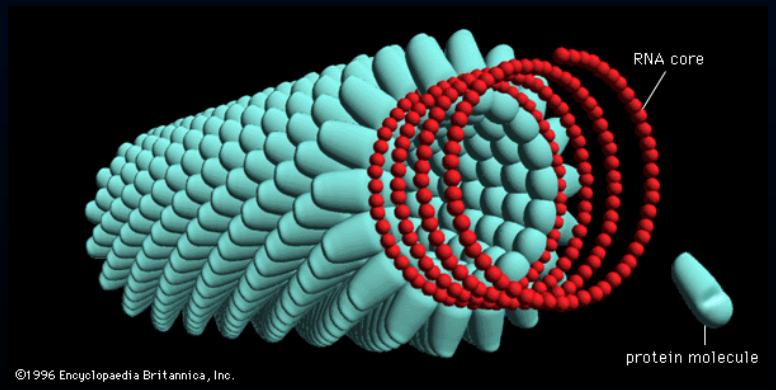
Τα φυτά παράγουν μία εκπληκτική δευτερογενών μεταβολιτών

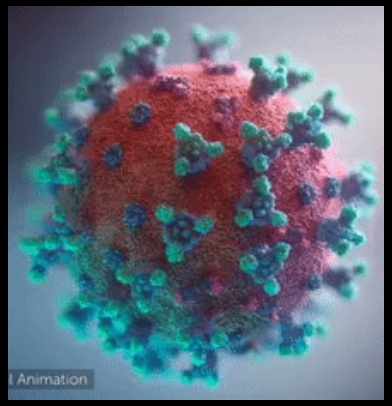


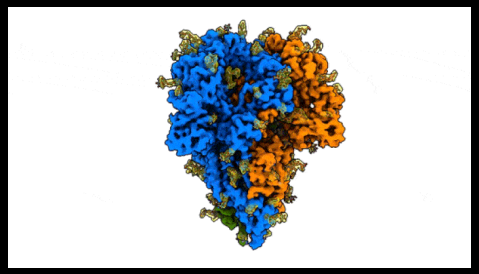
Οι ιοί απομονώθηκαν για πρώτη φορά από φυτά



Ιός του μωσαϊκού του καπνού
Tobacco Mosaic Virus



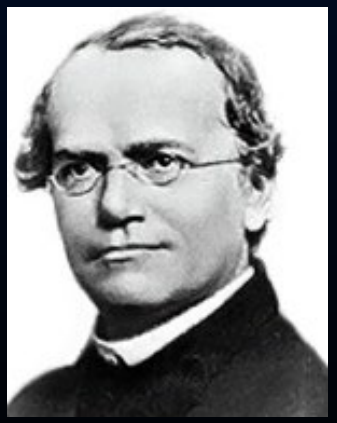




- ✓ **Τι είδους τεχνολογία χρησιμοποιήθηκε; Ήταν η κατάλληλη; Γιατί;**

Μηχανισμοί κληρονομικότητας

Η έρευνα του Mendel έθεσε τα θεμέλια για τις επιστήμες της γενετικής και βελτίωσης των φυτών



Διακεκριμένος βελτιωτής φυτών Norman Borlaug **1914-2009**, Nobel 1970

Ο παγκόσμιος πληθυσμός αυξάνεται με ραγδαίο ρυθμό...

Υποσιτισμός και κακή διατροφή

Το έτος 2004, 60 εκατομμύρια άνθρωποι έχασαν τη ζωή τους.

(Source: World Health Organization, 2008)

Υποσιτισμός και κακή διατροφή

10 εκατομμύρια εκ των οποίων ήταν παιδιά κάτω των 5 ετών, που κατά 99% προέρχονταν από χώρες χαμηλού ή μεσαίου εισοδήματος.

(Source: The State of the World's Children, UNICEF, 2007)

Υποσιτισμός και κακή διατροφή

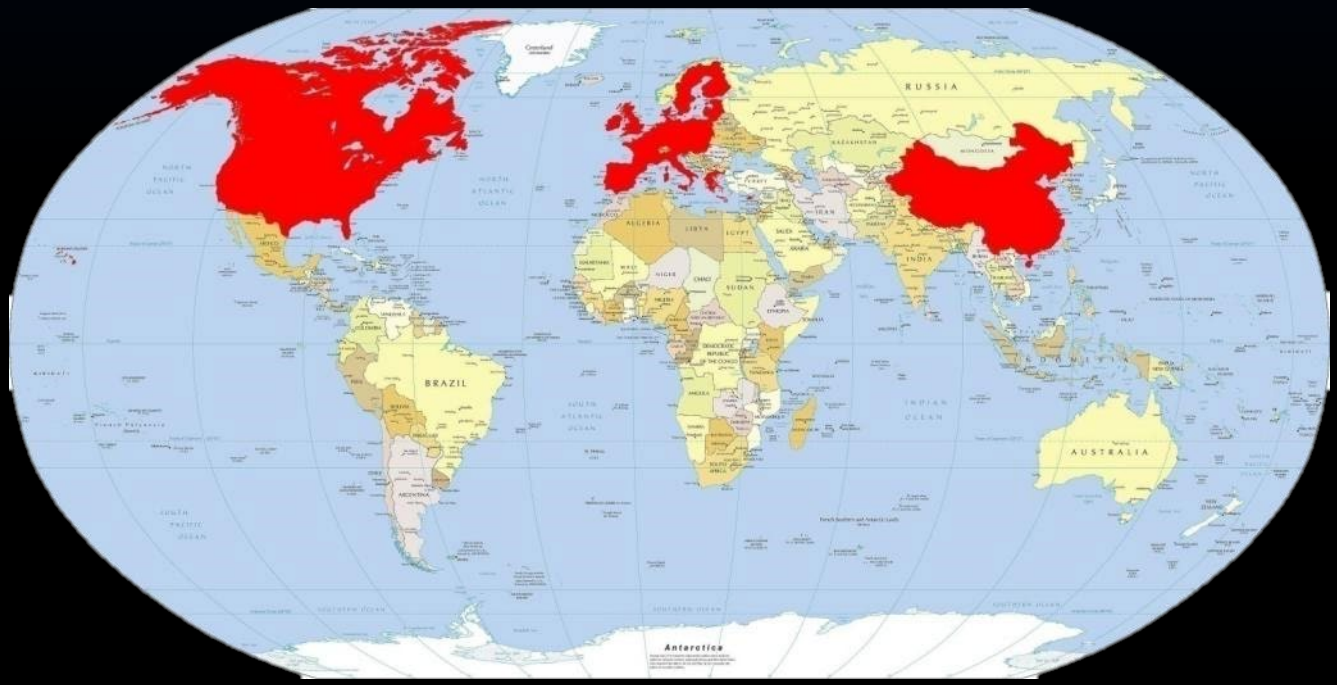
5 εκατομμύρια παιδιά ηλικίας κάτω των 5 χρόνων αποβιώνουν κάθε χρόνο λόγω **ασιτίας** και άλλων σχετικών αιτιών.
Αυτό αντιστοιχεί στο θάνατο ενός παιδιού προσχολικής ηλικίας που θα μπορούσε να αποφευχθεί, κάθε έξι δευτερόλεπτα.

Υποσιτισμός και κακή διατροφή

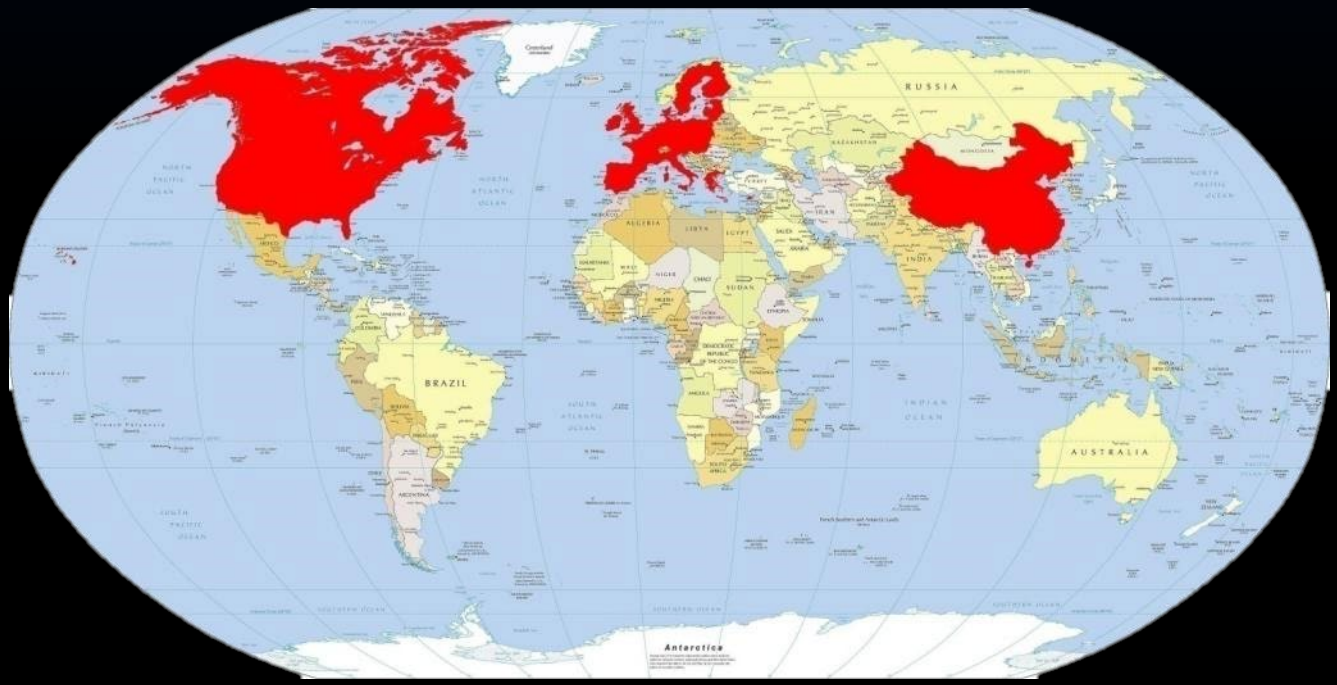
Η ανεπάρκεια σε βιταμίνη Α ευθύνεται για το θάνατο ενός εκατομμυρίου παιδιών κάθε χρόνο.

(Source: Vitamin and Mineral Deficiency, A Global Progress Report, UNICEF)

Πώς θα αντιδρούσε ο κόσμος σε μία ασθένεια που επηρεάζει τον πληθυσμό των ΗΠΑ, Καναδά και ΕΕ;



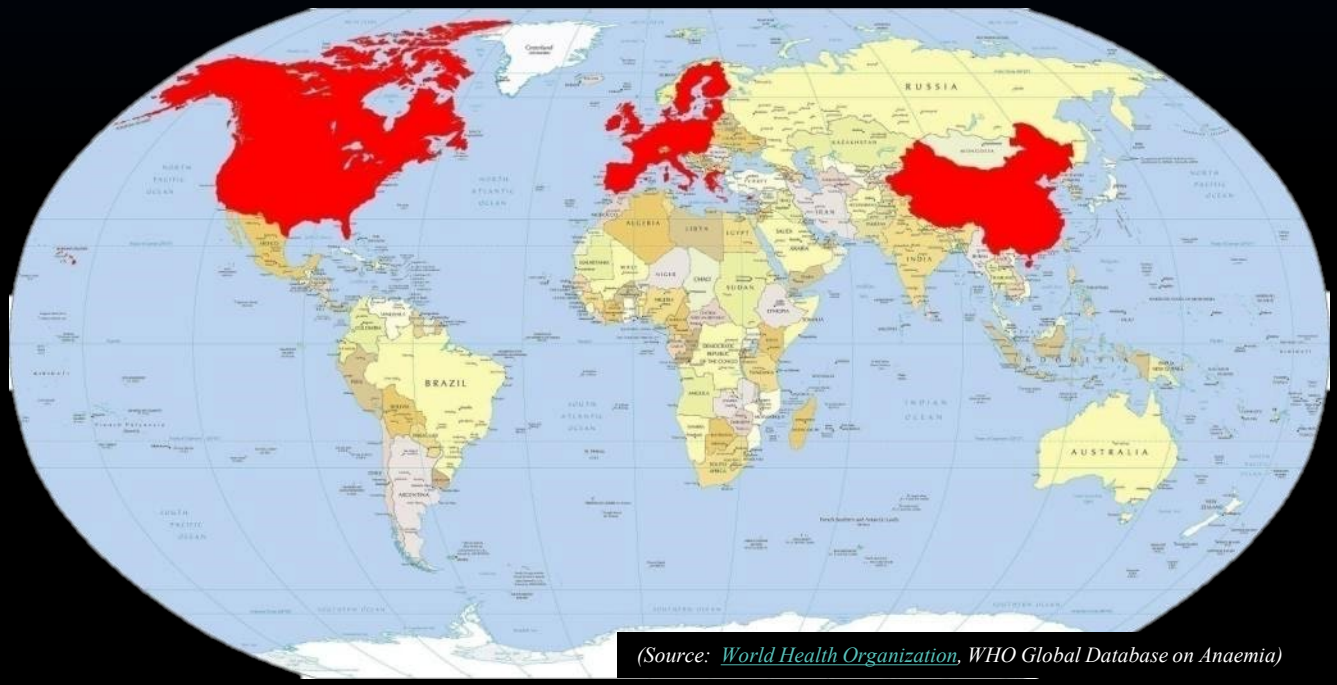
>1 δισεκατομμύριο άνθρωποι πάσχουν από χρόνιο υποσιτισμό



(Source: FAO news release, 19 June 2009)

Αυτό αντιστοιχεί σε περισσότερο από το συνολικό πληθυσμό των ΗΠΑ, Καναδά και ΕΕ.

>2 δισεκατομμύρια άνθρωποι παγκοσμίως πάσχουν από χρόνια αναιμία λόγω έλλειψης σιδήρου



(Source: World Health Organization, WHO Global Database on Anaemia)

Αυτό αντιστοιχεί σε περισσότερο από το συνολικό πληθυσμό των ΗΠΑ, Καναδά και ΕΕ.

Οι επιστήμονες μπορούν να συμβάλλουν στην εξάλειψη του υποσιτισμού

Αναπτύσσοντας φυτά, τα οποία…

- είναι ανθεκτικά στη ξηρασία και σε άλλες αβιοτικές καταπονήσεις
- έχουν χαμηλότερες απαιτήσεις σε λίπανση και νερό
- είναι ανθεκτικά σε παθογόνους οργανισμούς
- είναι περισσότερο θρεπτικά

Η ανάπτυξη των φυτών συχνά περιορίζεται λόγω υδατικής καταπόνησης

Περιοχές φυσικής και οικονομικής υδατικής ανεπάρκειας

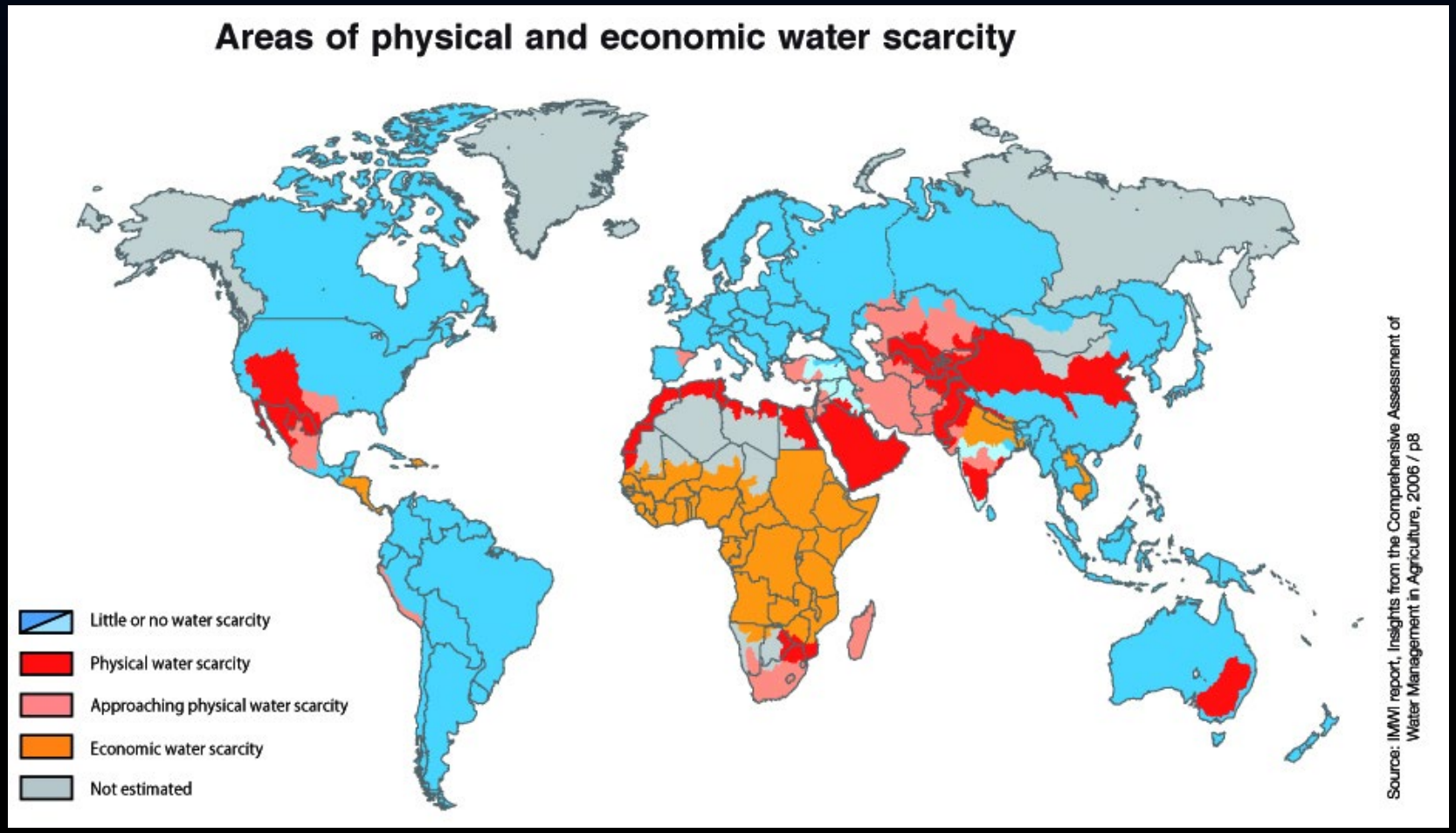
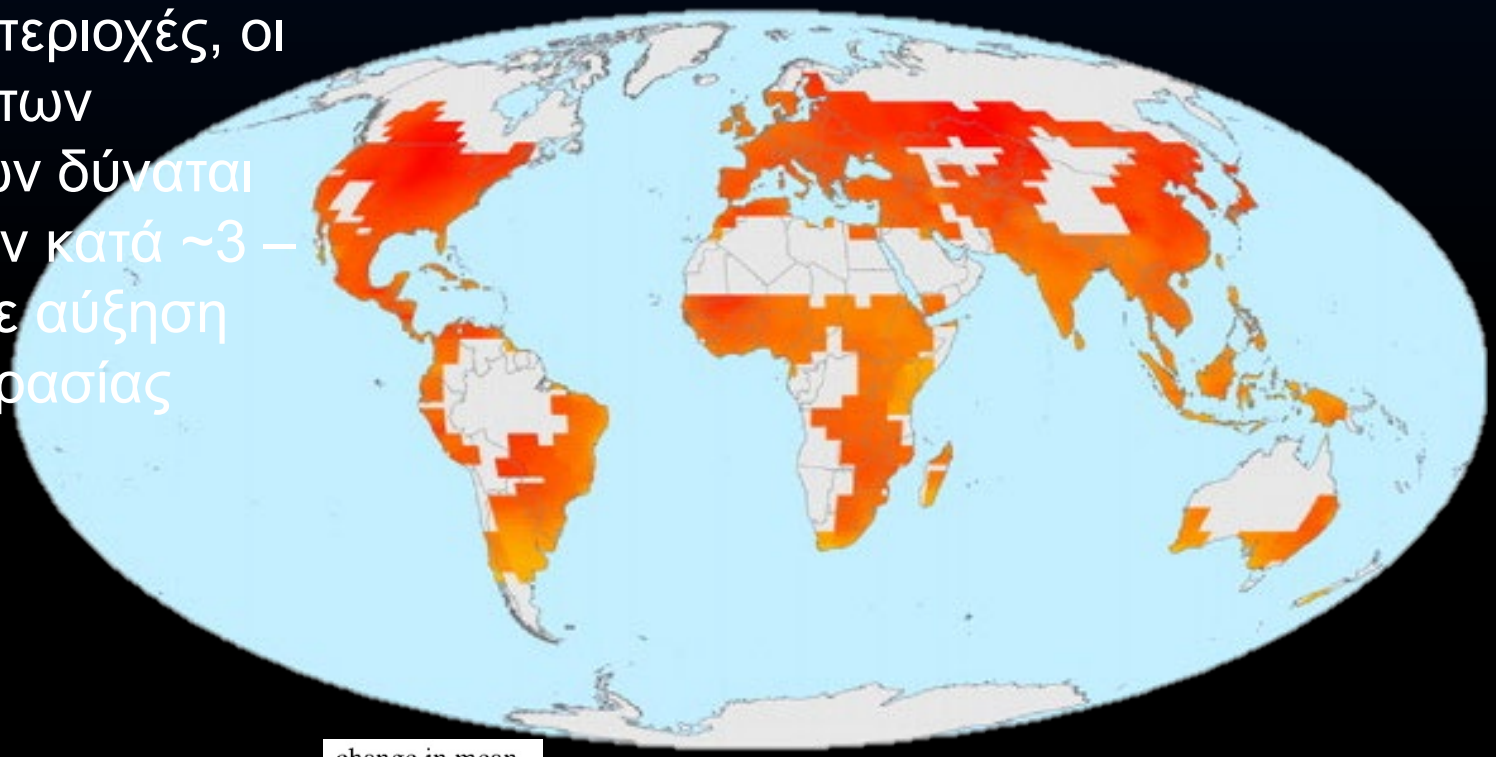


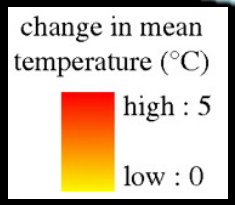
Image source: IWMI

Η υδατική καταπόνηση επιδεινώνεται από τις συνεχώς αυξανόμενες θερμοκρασίες

Σε θερμές περιοχές, οι αποδόσεις των καλλιεργειών δύναται να μειωθούν κατά ~3 – 5% για κάθε αύξηση της θερμοκρασίας κατά 1°C.



Μοντέλο αύξησης της μέσης θερμοκρασίας σε γεωργικές εκτάσεις έως το 2050.



Gornall, J., Betts, R., Burke, E., Clark, R., Camp, J., Willett, K., and Wiltshire, A. Implications of climate change for agricultural productivity in the early twenty-first century. Phil. Trans. Royal Soc. B: 365: 2973-2989.m

Ακόμη και η ήπια ξηρασία προκαλεί μείωση των αποδόσεων

Χρειαζόμαστε φυτά που αναπτύσσονται ακόμη και υπό συνθήκες καταπόνησης

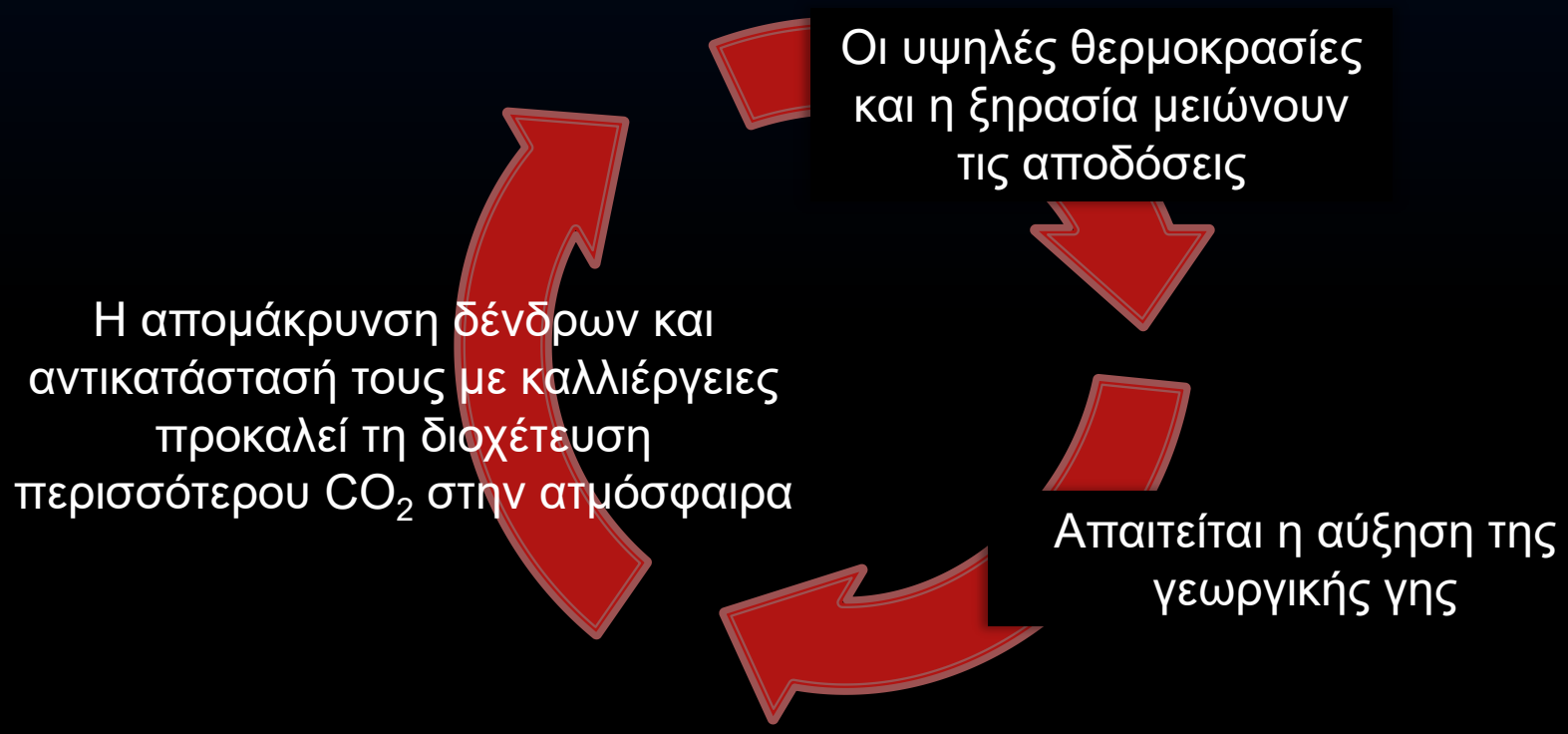
Οι υψηλές θερμοκρασίες και η ξηρασία μειώνουν τις αποδόσεις

Χρειαζόμαστε φυτά που αναπτύσσονται ακόμη και υπό συνθήκες καταπόνησης

Οι υψηλές θερμοκρασίες και η ξηρασία μειώνουν τις αποδόσεις

Απαιτείται η αύξηση της γεωργικής γης

Χρειαζόμαστε φυτά που αναπτύσσονται ακόμη και υπό συνθήκες καταπόνησης



Η αλλαγή ενός και μόνο γονιδίου μπορεί να αυξήσει την ανθεκτικότητα των φυτών στην ξηρασία

Κατά την καταπόνηση **Καλύτερη επαναφορά**

Ανθεκτικό στην ξηρασία

Άγριου τύπου

Πλήρης άρδευση | 10-ήμερη ξηρασία | 20-ήμερη ξηρασία | Μετά από άρδευση

Yu, H., Chen, X., Hong, Y.-Y., Wang, Y., Xu, P., Ke, S.-D., Liu, H.-Y., Zhu, J.-K., Oliver, D.J., Xiang, C.-B. (2008) Activated expression of an *Arabidopsis* HD-START protein confers drought tolerance with improved root system and reduced stomatal density. Plant Cell 20:1134-1151.

Μεγαλύτερο ριζικό σύστημα συμβάλλει στην ανθεκτικότητα στην ξηρασία

Άγριου τύπου Ανθεκτικό Άγριου τύπου Ανθεκτικό

Σπορόφυτα Ώριμα φυτά

Yu, H., Chen, X., Hong, Y.-Y., Wang, Y., Xu, P., Ke, S.-D., Liu, H.-Y., Zhu, J.-K., Oliver, D.J., Xiang, C.-B. (2008) Activated expression of an *Arabidopsis* HD-START protein confers drought tolerance with improved root system and reduced stomatal density. Plant Cell 20:1134-1151.

Η λίπανση είναι ένας υψηλού ενεργειακού κόστους περιοριστικός παράγοντας

- Οι καλλιέργειες χρειάζονται λίπανση – κάλιο, φώσφορο, άζωτο και άλλα θρεπτικά στοιχεία
- Το κάλιο και ο φώσφορος συνιστούν μη ανανεώσιμες, ορυκτές πηγές
- Η σύνθεση αζωτούχων λιπασμάτων απαιτεί τεράστια ποσά ενέργειας

Photo credits: Mining Top News; Library of Congress, Prints & Photographs Division, FSA-OWI Collection, LC-USW361-374

Η γεωργική λίπανση αποτελεί μία σημαντική πηγή περιβαλλοντικής ρύπανσης

Οι απορροές λιπασμάτων προκαλούν τη δημιουργία νεκρών ζωνών και την υψηλή παραγωγή μικροφυκών που αποσυντίθεται, μειώνουν τα υδάτινα επίπεδα οξυγόνου και καθιστούν αδύνατη την επιβίωση ζωικών οργανισμών

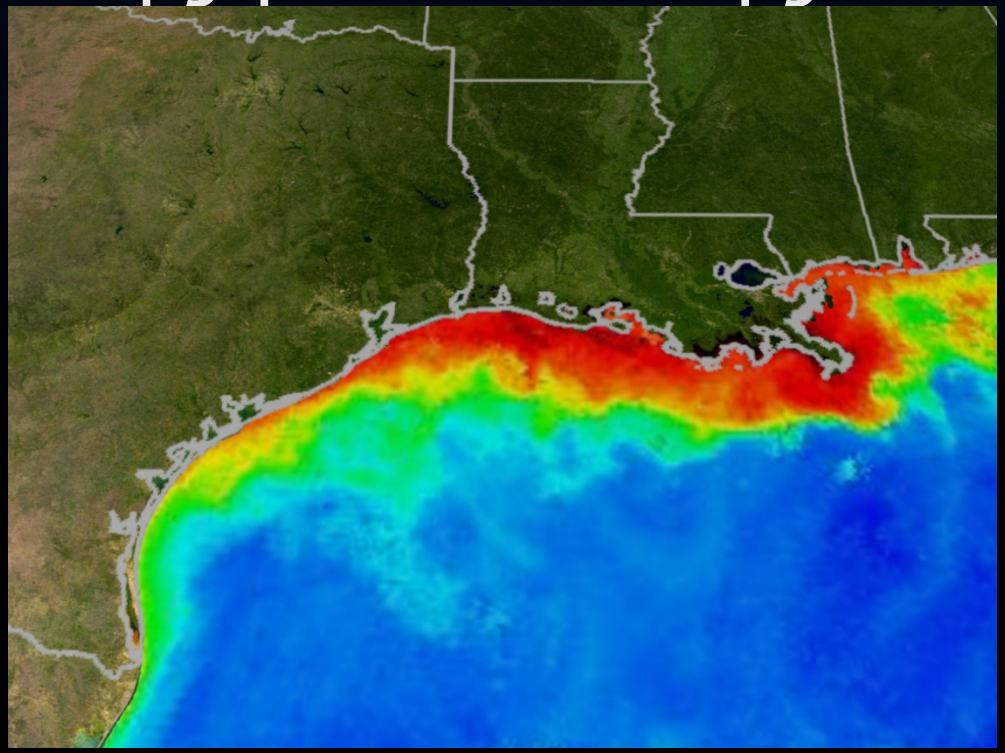


Photo courtesy of NASA/Goddard Space Flight Center Scientific Visualization Studio

Δύο σοβαρές ασθένειες απειλούν την επισιτιστική ασφάλεια

Ο μύκητας *Phytophthora infestans*, που προκαλεί τον περονόσπορο στην πατάτα.

Ο μύκητας *Puccinia graminis tritici,* που προκαλεί τη σκωρίαση του σιταριού.

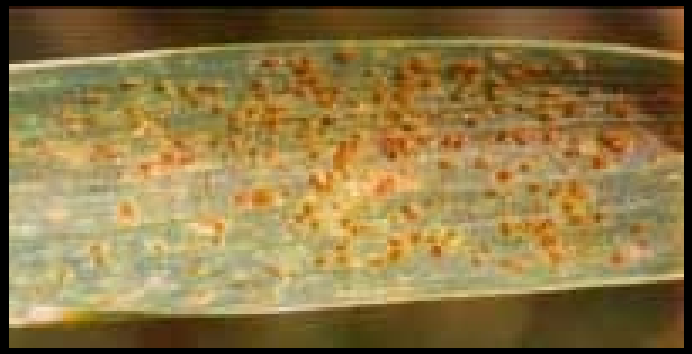


Photo credits: www.news.cornell.edu; www.fao.org

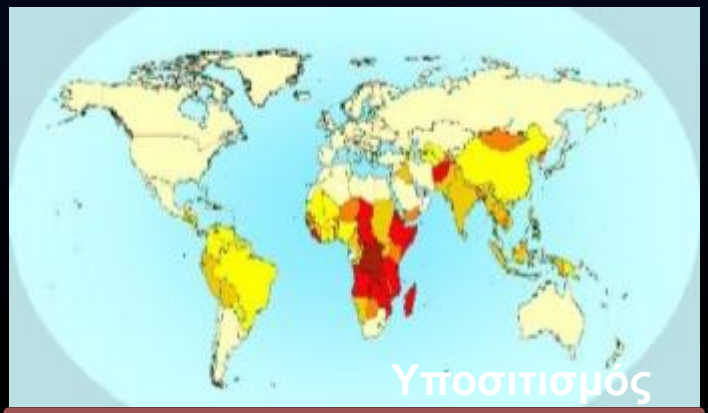
Οι επιστήμονες ερευνούν τρόπους για να διατηρούν τα φυτά φρέσκα μετά τη συγκομιδή

Αυτές οι διαδικασίες καθιστούν τους καρπούς λιγότερο ελκυστικούς και επηρεάζουν τη θρεπτική τους ποιότητα.

Μετά τη συγκομιδή, οι καρποί ωριμάζουν, μαλακώνουν και τελικά σαπίζουν.

Photo credits: Cornell University ; ARC

Το βελτιωμένο περιεχόμενο θρεπτικών στοιχείων στα φυτά μπορεί να αντισταθμίσει τις συνέπειες της κακής διατροφής



Οι δίαιτες βασικής διατροφής είναι συνήθως φτωχές σε θρεπτικά στοιχεία. Η κακή διατροφή είναι ασθένεια της φτώχιας.

Έλλειψη βιταμίνης Α

Αναιμία (νεαρά άτομα)

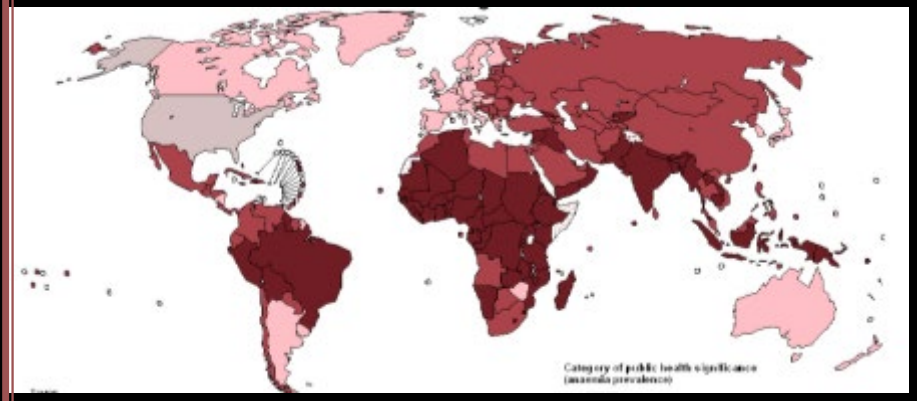


Image sources: Petaholmes based on WHO data; WHO

Η πρακτική ενδυνάμωσης των τροφών με βιταμίνες (όπως το φυλλικό οξύ και η βιταμίνη Α) και μικροστοιχεία (πχ. σίδηρος, ψευδάργυρος, ιώδιο) έχει συμβάλλει δραματικά στην αντιμετώπιση της ανεπάρκειας θρεπτικών στοιχείων, παγκοσμίως.

Πηγή: © UNICEF/NYHQ1998-0891/Giacomo Pirozzi

Γενετικά βιοενδυναμωμένα τρόφιμα

Ρύζι εμπλουτισμένο με σίδηρο

Ρύζι εμπλουτισμένο με βιταμίνη Α

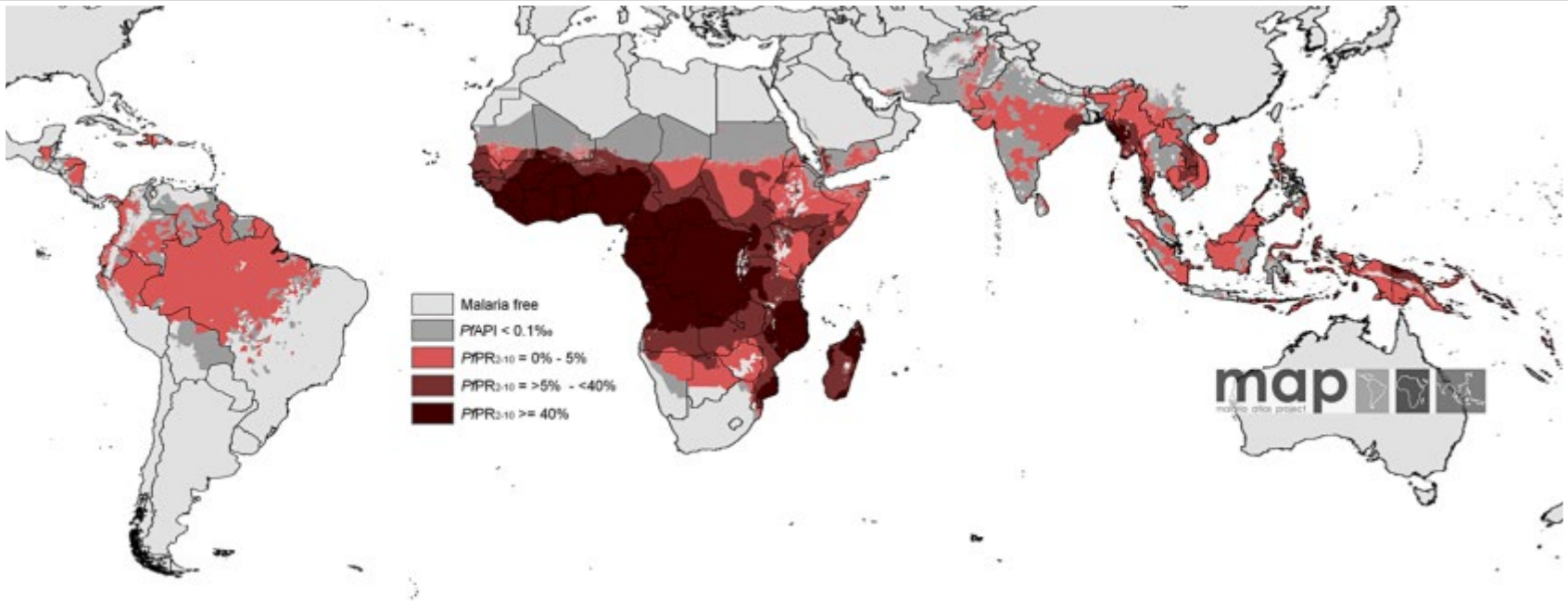
Ντομάτες άγριου τύπου και εμπλουτισμένες με αντιοξειδωτικά

Πηγή: *Golden Rice* Humanitarian Board © 2007; Πηγή: *ETH Zurich / Christof Sautter*; Macmillan Publishers, Ltd: Butelli, E., et al., Nature Biotechnology 26, 1301 - 1308 copyright (2008).

Τα φυτά παράγουν συστατικά που αξιοποιούνται ως φάρμακα

- Ο φλοιός **ιτιάς** (*Salix*) ως πηγή ακετυλοσαλικιλικού οξέος (ασπιρίνης)
- Η **δακτυλίδα** (*Digitalis purpurea*) ως πηγή δακτυλίτιδας (θεραπεία για καρδιακά προβλήματα)
- Το **πουρνάρι Ειρηνικού** (*Taxus brevifolia*) ως πηγή ταξόλης (θεραπεία για τον καρκίνο)
- Ο **καφές** (*Coffea arabica*) και το τσάι (*Camellia sinensis*) ως πηγές καφεΐνης (τονωτικό)

Η ελονοσία ευθύνεται για το θάνατο εκατομμυρίων ανθρώπων



Οι περιοχές του κόσμου με το μεγαλύτερο κίνδυνο για ελονοσία

Hay, S.I., et al., (2009) PLoS Med 6(3): e1000048. doi:10.1371/ journal.pmed.1000048

Το πρωτόζωο *Plasmodium* προκαλεί την ελονοσία

Το Plasmodium μέσα σε ένα κύτταρο ποντικιού

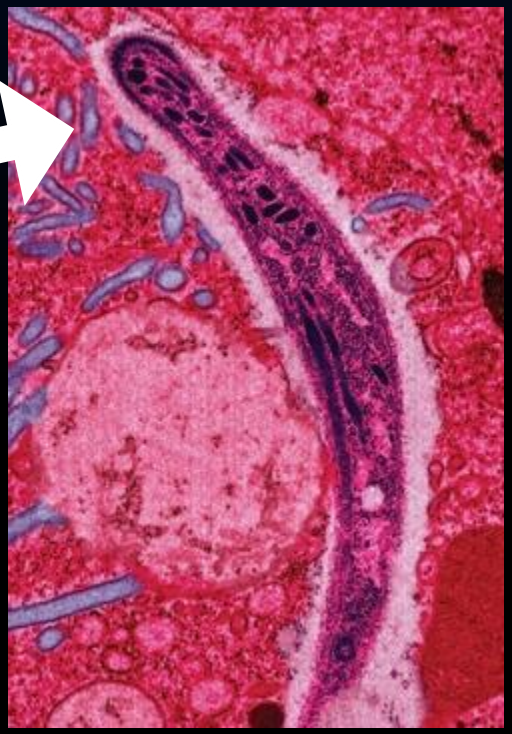
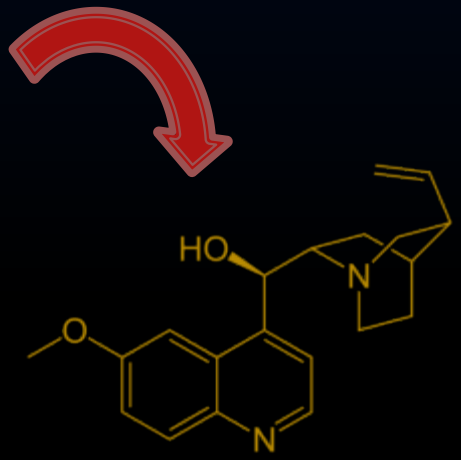


Image by Ute Frevert; false color by Margaret Shear.

Το Plasmodium μεταφέρεται στον άνθρωπο μέσω των μολυσμένων κουνουπιών

Photo credit: CDC

Ο φλοιός του δένδρου Cinchona περιέχει κινήνη, η οποία σκοτώνει το *Plasmodium*



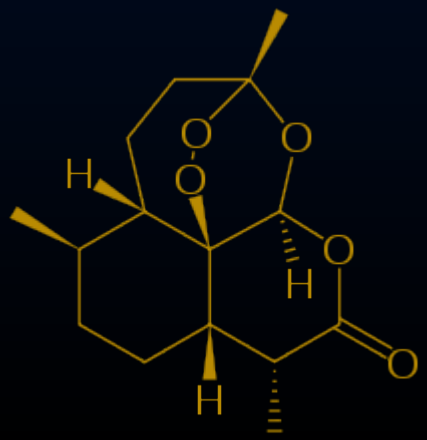
Όμως το *Plasmodium* αναπτύσσει ανθεκτικότητα στην κινήνη, καθιστώντας αναγκαία την εύρεση άλλων πηγών έναντι της ελονοσίας.

Image credits: Köhler; CDC

Gin και κινίνη ?

Σε τροπικές περιοχές χορηγούνταν χάπια κινίνης σε Βρετανούς στρατιώτες για την πρόληψη της ελονοσίας. Προκειμένου να αποφευχθεί η πικρή της γεύση, η κινίνη αναμειγνυόταν με γλυκό ανθρακούχο νερό (“τόνικ”) και συχνά με τζιν, από όπου προέρχεται το “gin and tonic”.

Το φυτό *Artemisia annua* δρα ενάντια στην ελονοσία

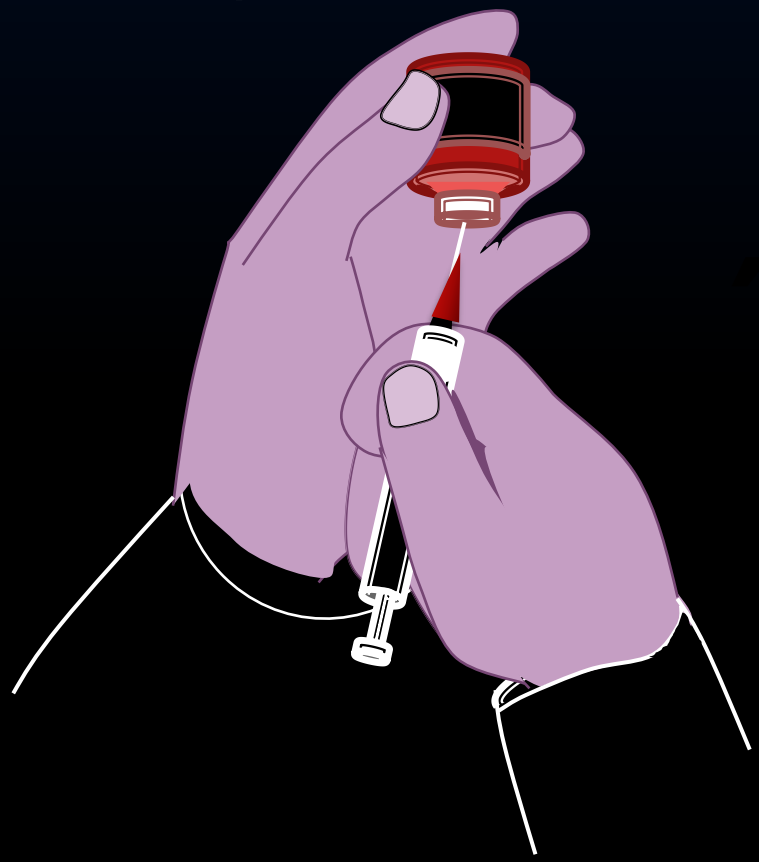


Αρτεμισινίνη

Το φυτό *Artemisia* χρησιμοποιούνταν από Κινέζους βοτανολόγους για χιλιάδες χρόνια. Το 1972 απομονώθηκε η δραστική της ουσία η αρτεμισινίνη.

Photo credit: www.anamed.net

Τα φυτά μπορεί να αποτελέσουν ασφαλή και φθηνά εδώδιμα εμβόλια και αντισώματα



?

Τα κυτταρικά τοιχώματα των φυτών παρέχουν σημαντικά ανθεκτικά υλικά

Το ξύλο συνίσταται κυρίως από φυτικά κυτταρικά τοιχώματα.

Photo credit: tom donald

Τα φυτά μπορεί να αντικαταστήσουν το πετρέλαιο σε πολλά προϊόντα και σκοπούς

Το πετρέλαιο ΔΕΝ αποτελεί ανανεώσιμη πηγή ενέργειας

Δυστυχώς, απαιτούνται εκατομμύρια χρόνων για τη μετατροπή νεκρής οργανικής ύλης σε πετρέλαιο…και τα αποθέματά μας εξαντλούνται

creativecartoons.org.

Τα φυτά μπορεί να αποτελέσουν πηγή βιοντίζελ

Το βιοντίζελ που παράγεται από ελαιούχα φυτά και φύκη αντικαθιστά το ντίζελ που προέρχεται από το πετρέλαιο.

Image sources: Tilo Hauke, University of Minnesota, Iowa State University Extension.

Οι ενεργειακές καλλιέργειες δεν θα επηρεάσουν την παραγωγή ή τις τιμές των τροφίμων

Ο μίσχανθος *(Miscanthus giganteus)* είναι ένα ταχέως αναπτυσσόμενο πολυετές ενεργειακό είδος που αναπτύσσεται σε ακατάλληλες για την παραγωγή τροφίμων εκτάσεις.

Photo Illustration courtesy S. Long Lab, University of Illinois, 2006

Τα φυτά μπορεί να αποτελέσουν πηγές βιοανανεώσιμων και βιοαδιασπόμενων πόρων

Οι επιστήμονες αναζητούν οικονομικά αποδοτικούς τρόπους για να μετατρέψουν τα φυτά σε πλαστικά

Βιοαποικοδόμηση

Photo Illustration courtesy S. Long Lab, University of Illinois, 2006

Τα κύτταρα περιβάλλονται από μια ημιδιαπερατή πλασματική μεμβράνη

Η μεμβράνη έχει διάφορες φάσεις-Ξεχάστε το ρευστό μωσαϊκό μοντέλο

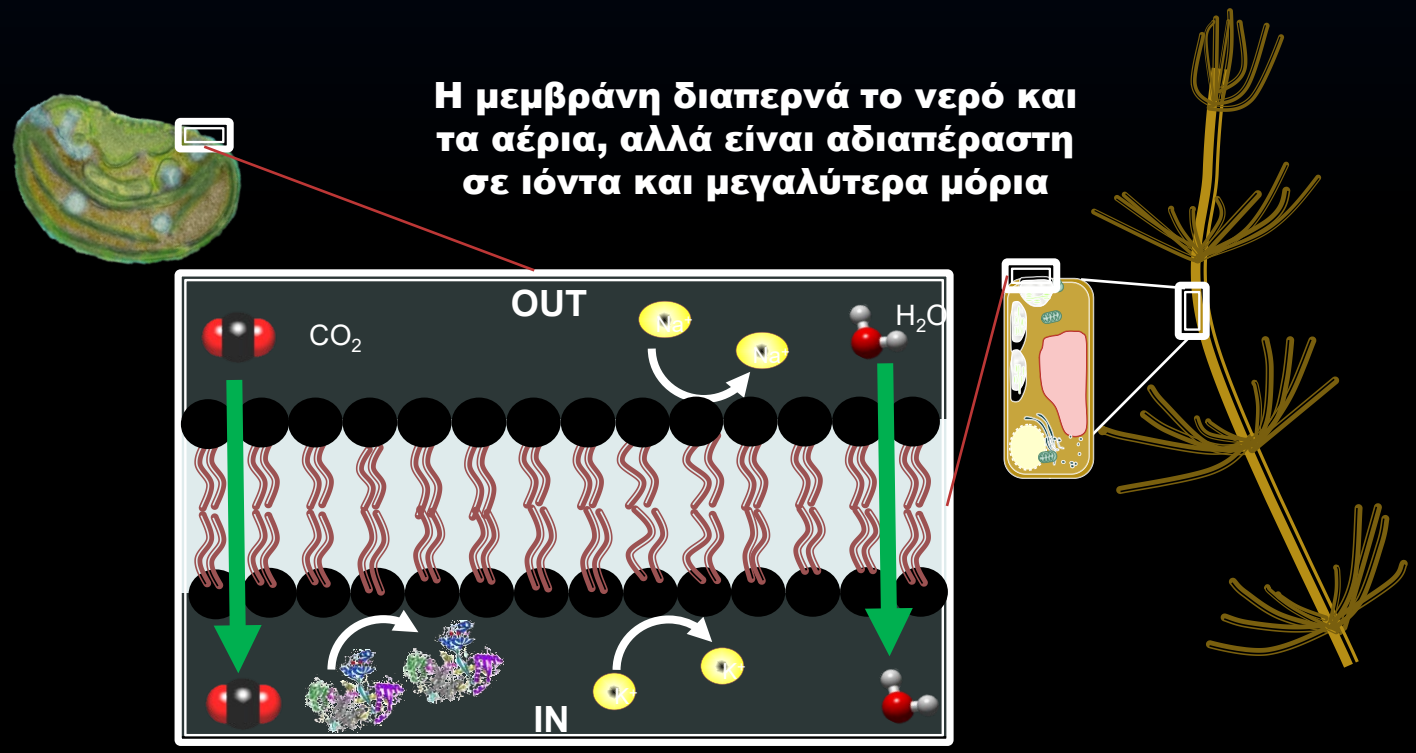
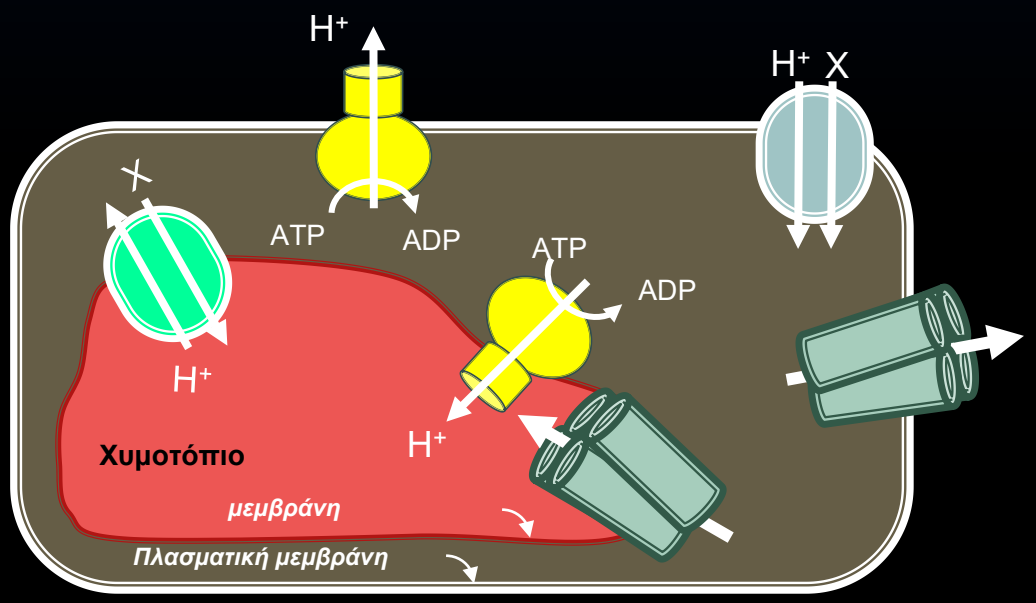


Photo credit: Wenche Eikrem and Jahn Throndsen, University of Oslo

Οι πρωτεΐνες της πλασματικής μεμβράνης και των χυμοτοπίων αντλούν διάφορα μόρια

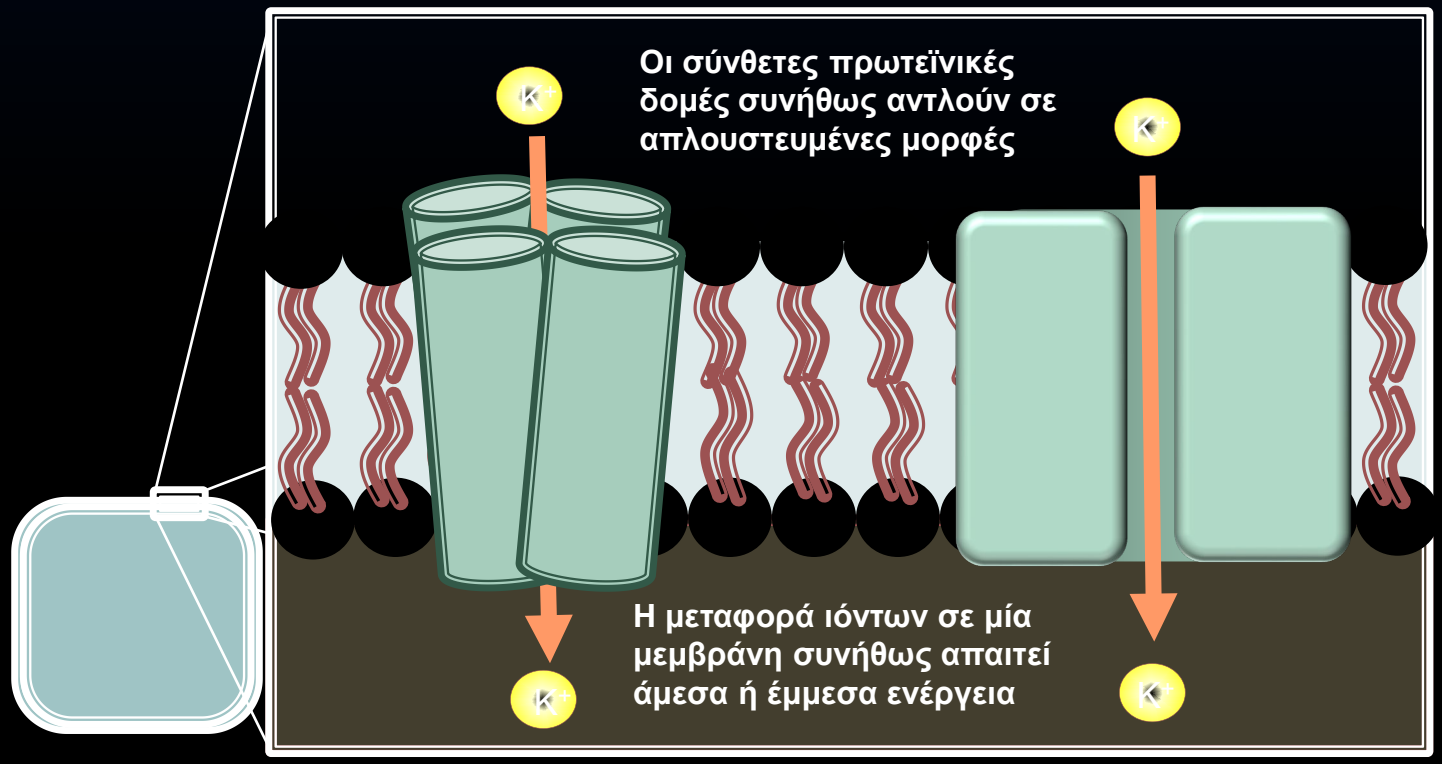
Η μεμβράνη έχει διάφορες φάσεις-Ξεχάστε το ρευστό μωσαϊκό μοντέλο



Αυτοί οι μεταφορείς φέρνουν τα απαιτούμενα ιόντα και άλλες ενώσεις και εξάγουν ανεπιθύμητα μόρια.
Οι μεταφορείς χρειάζονται επίσης για να ρυθμίσουν το ωσμωτικό δυναμικό του κυττάρου

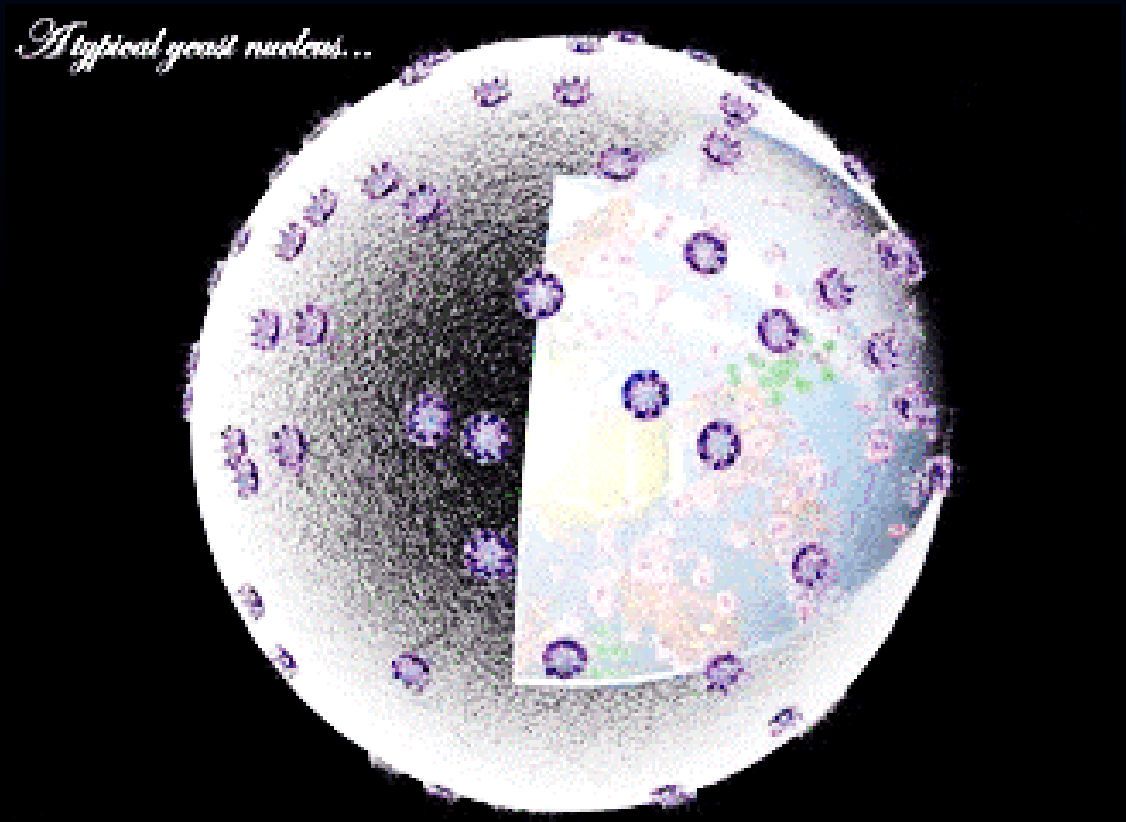
Προσαρμογή από Hedrich, R. (2012). Ion channels in plants. Physiol. Rev. 92: 1777-1811.

Οι μεμβρανικές πρωτεΐνες σχηματίζουν πόρους, κανάλια ή αντλίες μεταφοράς ιόντων



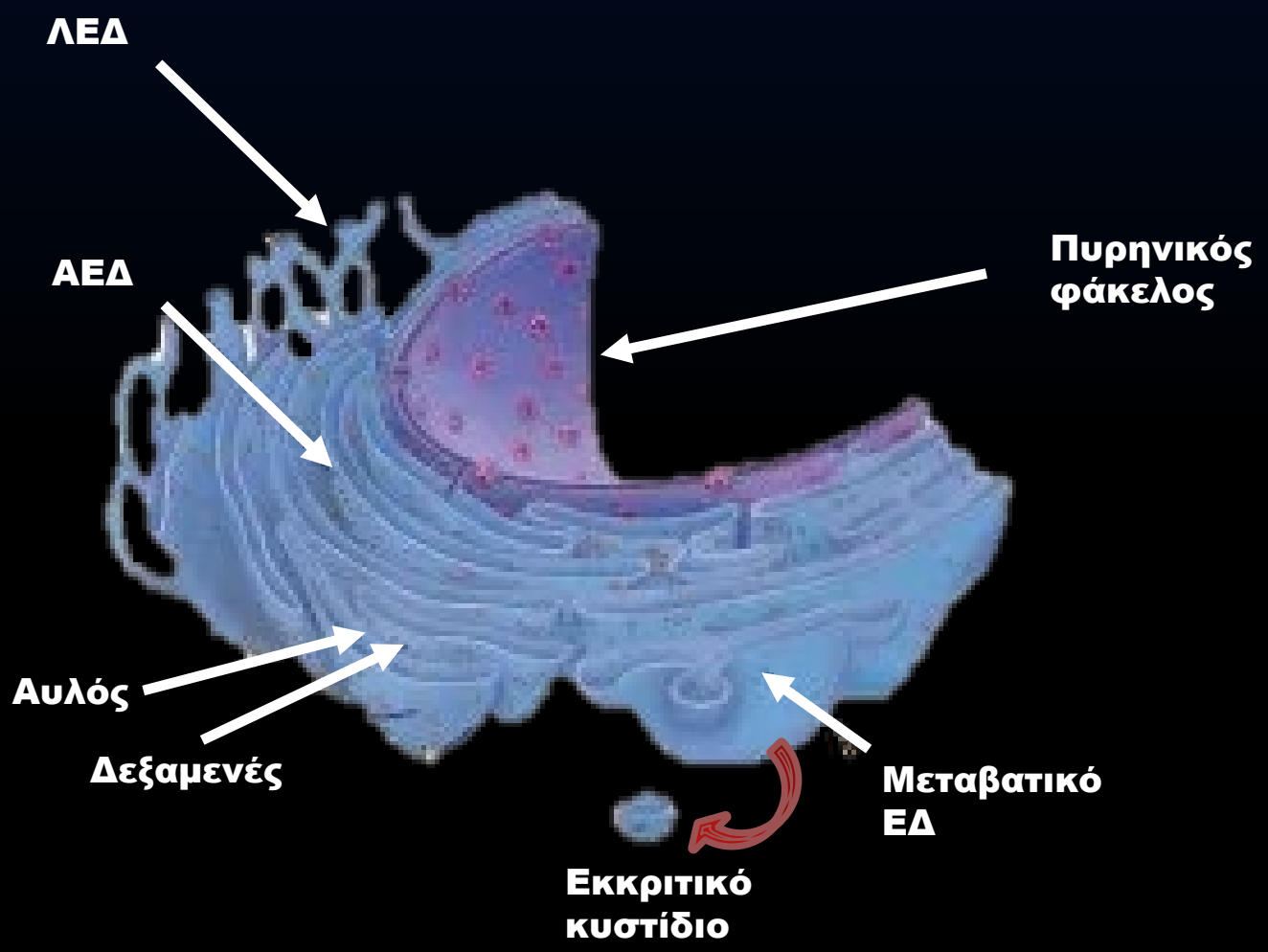
Πυρήνας

Η μεμβράνη έχει διάφορες φάσεις-Ξεχάστε το ρευστό μωσαϊκό μοντέλο

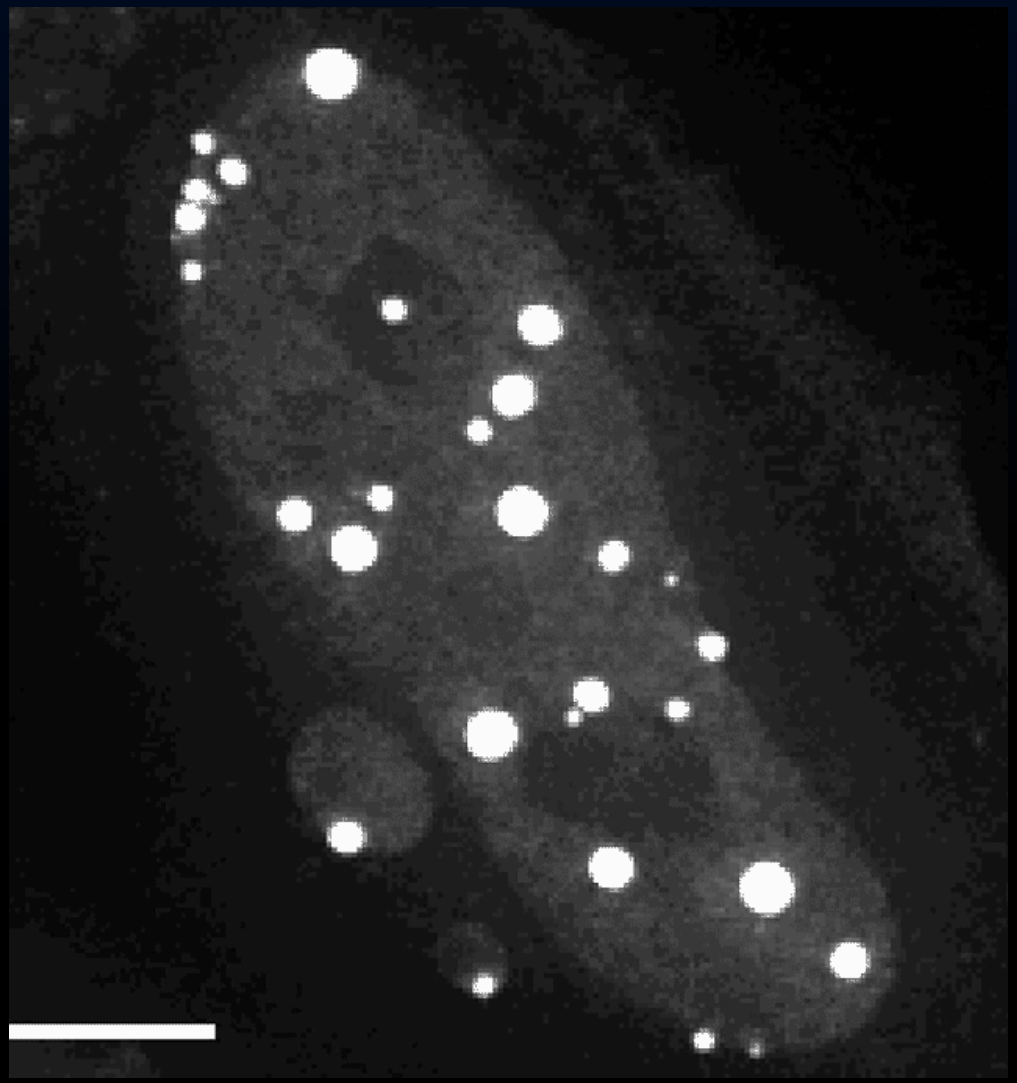


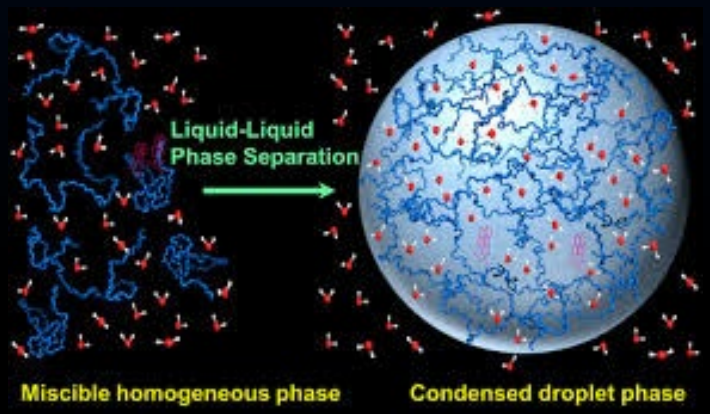
Ενδοπλασματικό δίκτυο

Η μεμβράνη έχει διάφορες φάσεις-Ξεχάστε το ρευστό μωσαϊκό μοντέλο

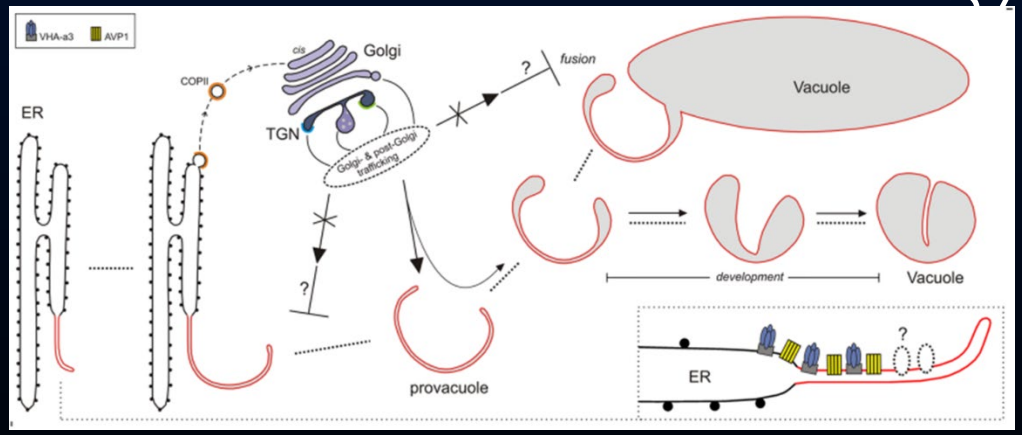


Αλλαγή φάσης

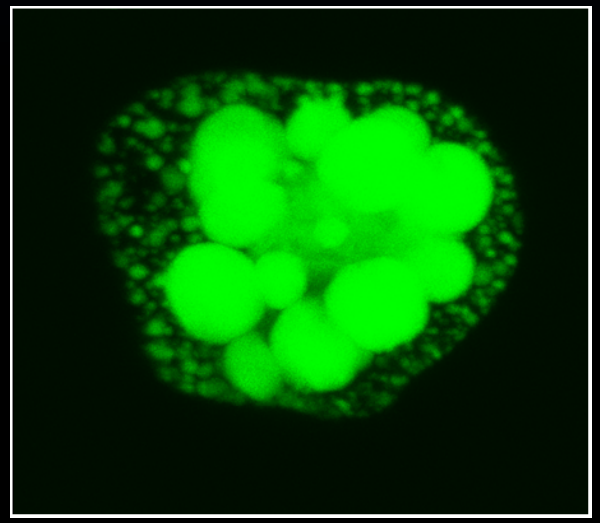




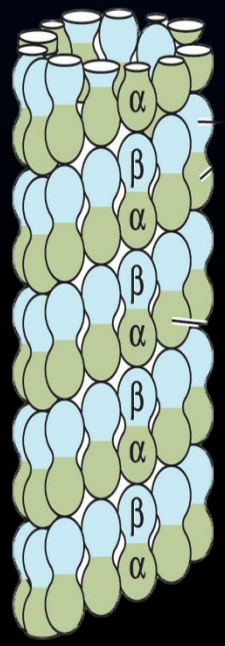
Χυμοτόπιο



- **Μπορεί >80% του κυττάρου**
- **Μονή μεμβράνη (τονοπλάστης)**
- **Περιέχει:**
  - **Νερό, ανόργανα ιόντα, οργανικά οξέα, σάκχαρα, ένζυμα και δευτερεύοντες μεταβολίτες.**
  - **Απαιτείται για τη διεύρυνση των φυτικών κυττάρων**
  - **Η πίεση σπαργής παρέχει τη δομική ακαμψία που απαιτείται για να κρατήσει τα ποώδη φυτά όρθια.**

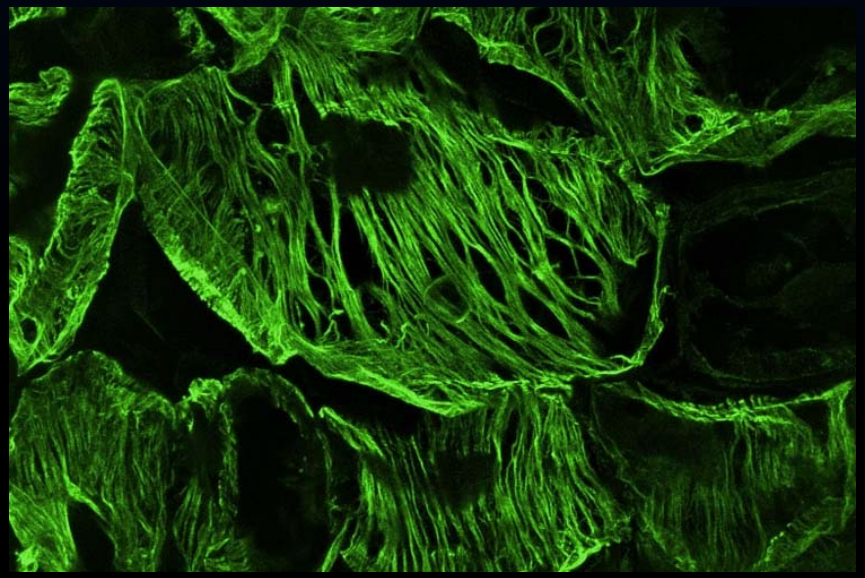


Ο κυτταροσκελετός

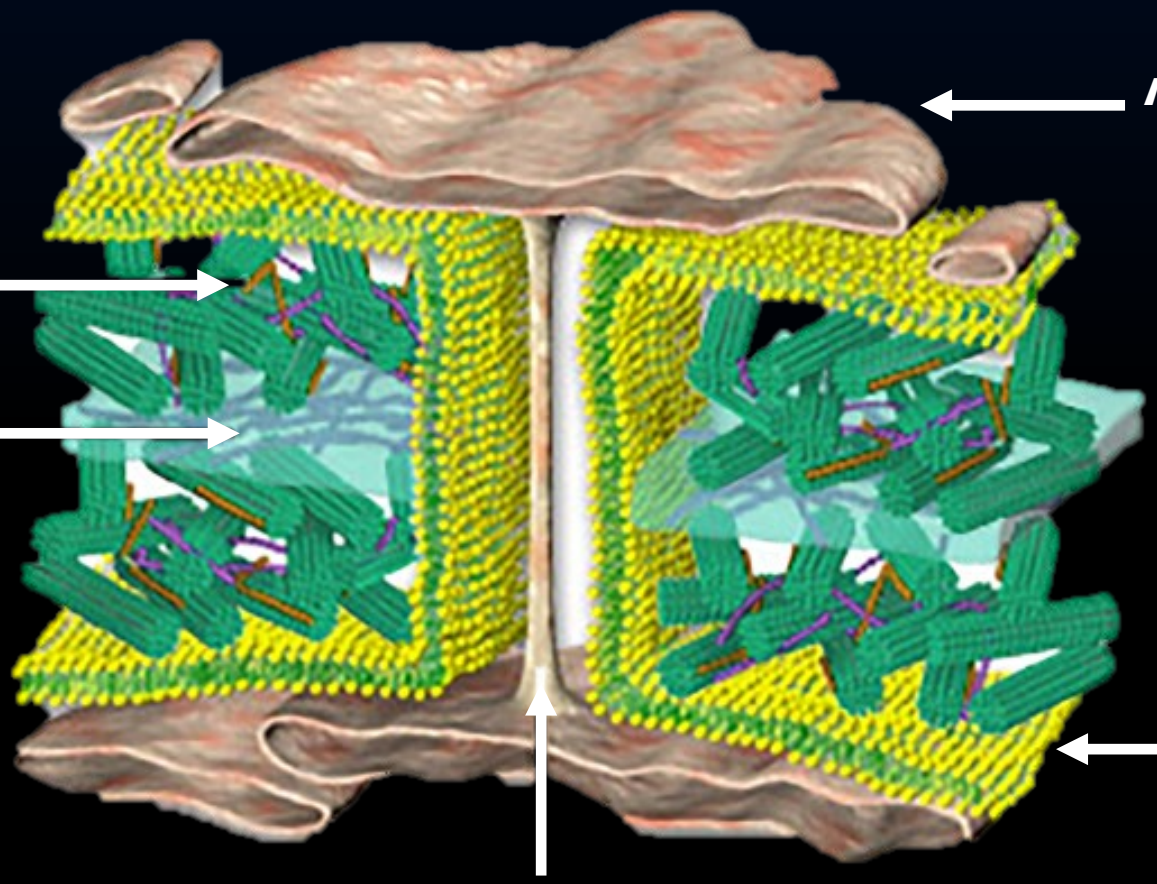


Μικροσωληνίσκοι

Ακτίνη



Πλασμοδέσματα



Κυτταρικά τοιχώματα

Τα πρωταρχικά κυτταρικά τοιχώματα συνίστανται κυρίως από υδατάνθρακες και πρωτεΐνες.

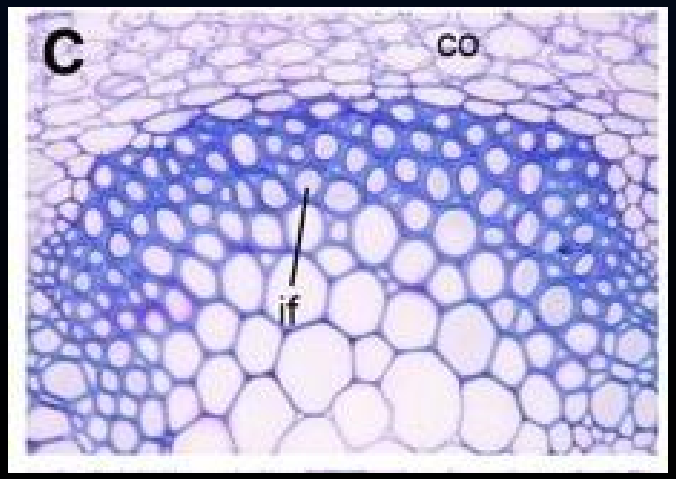
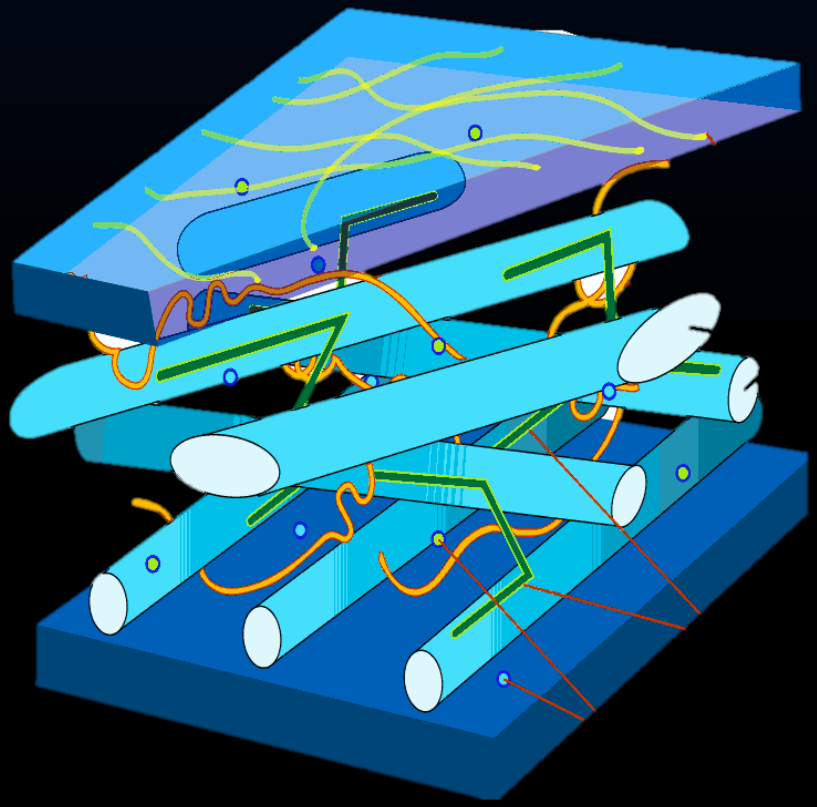


Photo credit: www.wpclipart.com/plants; Zhong, R., et al., (2008) Plant Cell 20:2763-2782 .

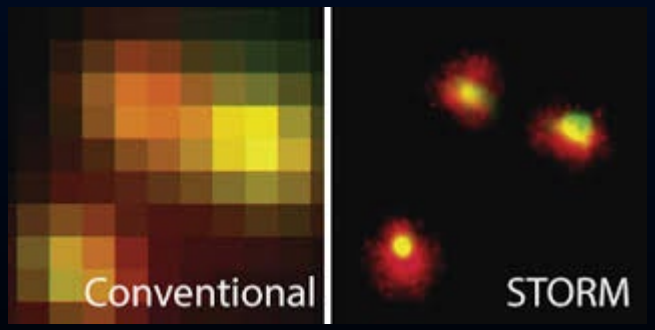


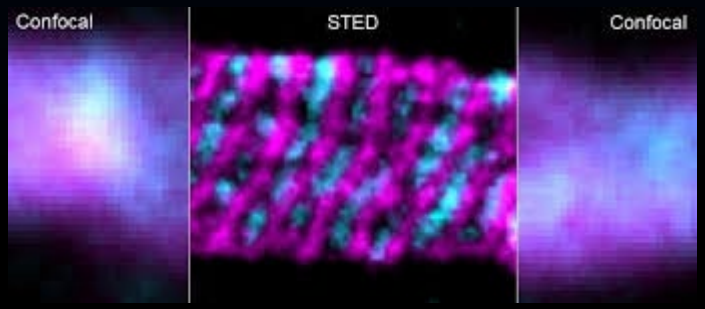
- **Τα κυτταρικά τοιχώματα διατηρούνται μαζί (μεσαίο έλασμα)**
- **Αποτελείται από: Κυτταρίνη, Πηκτίνη, Πρωτεΐνες, Ιόντα, Λιγνίνη, Γλυκάνες, Νερό**

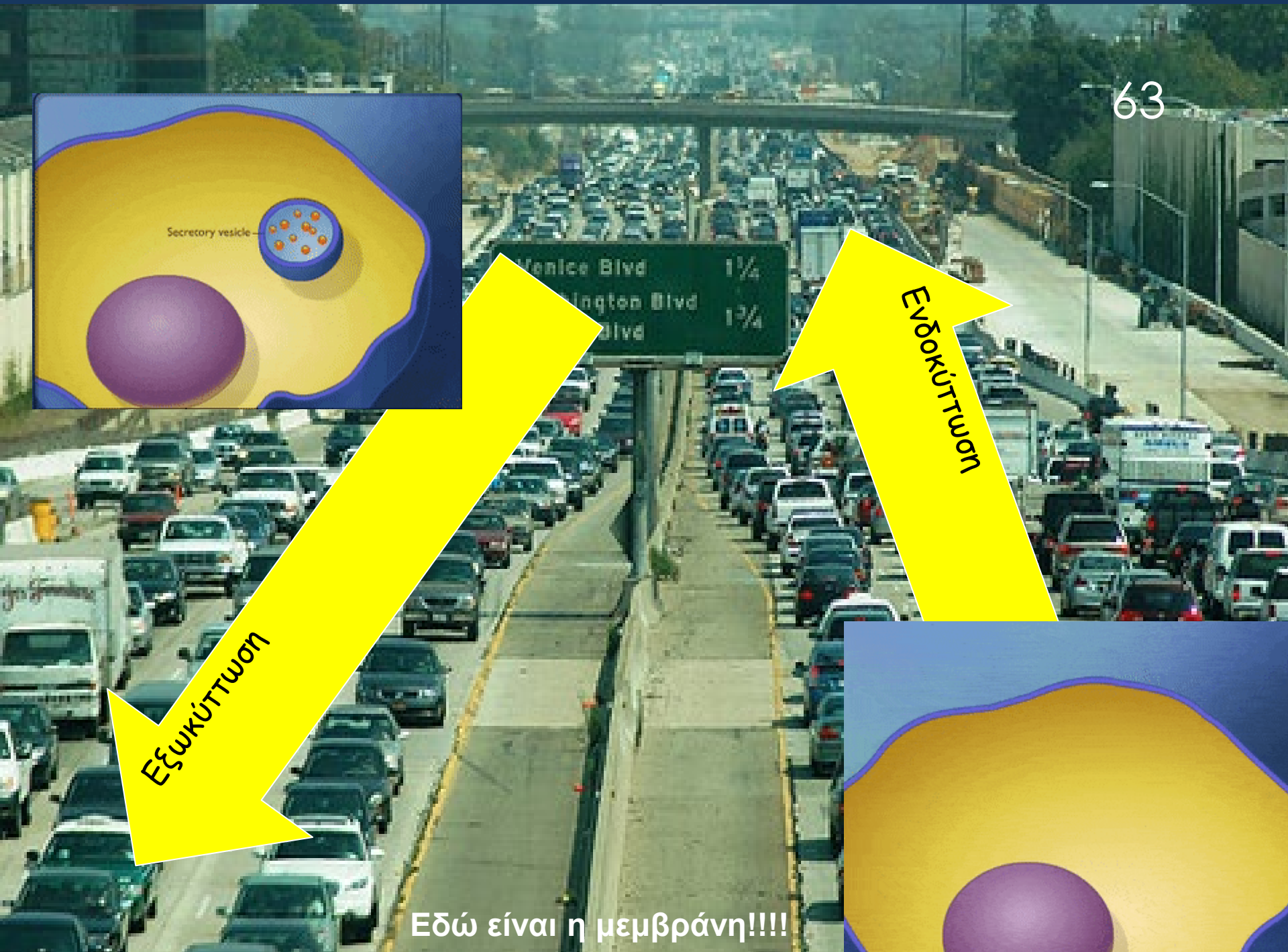
Κυτταρική πολικότητα (cell polarity)

Μία βασική έννοια

- **Μικροσκοπικό**
- **Νανοσκοπικό και πιο μικρά**
- **Μακροσκοπικό**







Εδώ είναι η μεμβράνη!!!!

Την επόμενη φορά…

2. Επιστημονική απεικόνιση (λήψη, δομή, οργάνωση)