



DEBRECENI EGYETEM



Molekuláris biológiai technikák az élelmiszer eredetvizsgálatban

Czeglédi Levente - Sziszkosz Nikolett - Kusza Szilvia

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



DEBRECENI EGYETEM



Molekuláris genetikai alapok

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



DEBRECENI EGYETEM



Az előadás vázlatja

Alapfogalmak

DNS

RNS

Central dogma

Gén

Kromoszóma

Genetikai kód

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



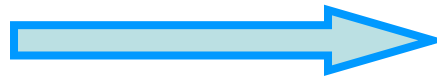
A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



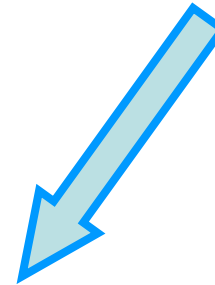
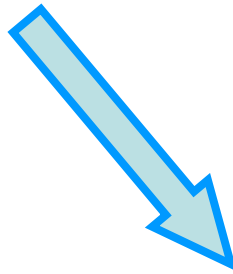
Genetika

Klasszikus genetika elvein alapszik!

Klasszikus
genetika



Molekuláris genetika



Populációgenetika
Evolúciógenetika
Kvantitatív genetika
Ökológiai genetika
.....



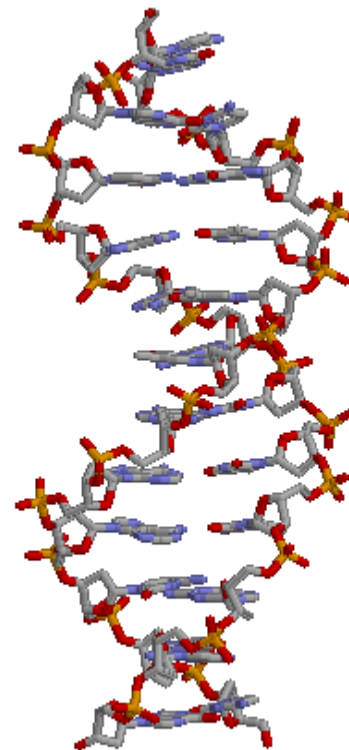


Dezoxiribonukleinsav (DNS)

- Stabil molekula
 - Örökítőanyag
- Prokarióták-eukarióták esetében
Egyes vírusok esetében ribonukleinsav (RNS)

DNS szerkezete

- Kettős hélix
- 1 nukleotid alegység:
nitrogén tartalmú szerves
bázis (adenin, timin,
citozin, guanin)
pentóz cukor(dezoxiribóz)
foszfátcsoport





DNS szerkezete

3 kutató csoport

1: London- M. Wilkins + R. Franklin

2: Cambridge- F. Crick + JD Watson

3: Caltech- L. Pauling

1962 orvosi Nobel díj Watson-Crick-Wilkins

equipment, and to Dr. G. E. R. Deacon and the captain and officers of R.R.S. *Discovery II* for their part in making the observations.

¹ Young, F. B., Gerrard, H., and Jevons, W., *Phil. Mag.*, **40**, 149 (1920).

² Lohmann-Higgin, M. S., *Mon. Not. Roy. Astr. Soc., Geophys. Suppl.*, **5**, 288 (1949).

³ Von Arx, W. S., *Woods Hole Papers in Phys. Oceanogr. Meteor.*, **11** (3) (1950).

⁴ Ekman, V. W., *Arkiv. Mat. Astron. Fysik. (Stockholm)*, **2** (11) (1905).

MOLECULAR STRUCTURE OF NUCLEIC ACIDS

A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid

WE wish to suggest a structure for the salt of deoxyribose nucleic acid (D.N.A.). This structure has novel features which are of considerable biological interest.

A structure for nucleic acid has already been proposed by Pauling and Corey¹. They kindly made their manuscript available to us in advance of publication. Their model consists of three intertwined chains, with two phosphates near the fibre axis, and the bases on the outside. In our opinion, this structure is unsatisfactory for two reasons: (1) We believe that the material which gives the X-ray diagrams is the salt, not the free acid. Without the acidic hydrogen atoms it is not clear what forces would hold the structure together, especially as the negatively charged phosphates near the axis will repel each other. (2) Some of the van der Waals distances appear to be too small.

Another three-chain structure has also been suggested by Fraser (in the press). In his model the phosphates are on the outside and the bases on the inside, linked together by hydrogen bonds. This structure as described is rather ill-defined, and for this reason we shall not comment on it.

We wish to put forward a radically different structure for the salt of deoxyribose nucleic acid. This structure has two helical chains each coiled round the same axis (see diagram). We have made the usual chemical assumptions, namely, that each chain consists of phosphate diester groups joining β -D-deoxyribofuranose residues with 3',5' linkages. The two chains (but not their bases) are related by a dyad perpendicular to the fibre axis. Both chains follow right-handed helices, but owing to the dyad the sequences of the atoms in the two chains run in opposite directions. Each chain loosely resembles Furberg's model No. 1; that is, the bases are on the inside of the helix and the phosphates on the outside. The configuration of the sugar and the atoms near it is close to Furberg's 'standard configuration', the sugar being roughly perpendicular to the attached base. There



This figure is purely diagrammatic. The two ribbons symbolize the two phosphate-sugar chains, and the horizontal rods the pairs of bases holding the chains together. The vertical line marks the fibre axis.

is a residue on each chain every 3.4 Å. in the z-direction. We have assumed an angle of 36° between adjacent residues in the same chain, so that the structure repeats after 10 residues on each chain, that is, after 34 Å. The distance of a phosphorus atom from the fibre axis is 10 Å. As the phosphates are on the outside, cations have easy access to them.

The structure is an open one, and its water content is rather high. At lower water contents we would expect the bases to tilt so that the structure could become more compact.

The novel feature of the structure is the manner in which the two chains are held together by the purine and pyrimidine bases. The planes of the bases are perpendicular to the fibre axis. They are joined together in pairs, a single base from one chain being hydrogen-bonded to a single base from the other chain, so that the two lie side by side with identical z-co-ordinates. One of the pair must be a purine and the other a pyrimidine for bonding to occur. The hydrogen bonds are made as follows: purine position 1 to pyrimidine position 1; purine position 6 to pyrimidine position 6.

If it is assumed that the bases only occur in the structure in the most plausible tautomeric forms (that is, with the keto rather than the enol configurations) it is found that only specific pairs of bases can bond together. These pairs are: adenine (purine) with thymine (pyrimidine), and guanine (purine) with cytosine (pyrimidine).

In other words, if an adenine forms one member of a pair, on either chain, then on these assumptions the other member must be thymine; similarly for guanine and cytosine. The sequence of bases on a single chain does not appear to be restricted in any way. However, if only specific pairs of bases can be formed, it follows that if the sequence of bases on one chain is given, then the sequence on the other chain is automatically determined.

It has been found experimentally^{2,4} that the ratio of the amounts of adenine to thymine, and the ratio of guanine to cytosine, are always very close to unity for deoxyribose nucleic acid.

It is probably impossible to build this structure with a ribose sugar in place of the deoxyribose, as the extra oxygen atom would make too close a van der Waals contact.

The previously published X-ray data^{2,4} on deoxyribose nucleic acid are insufficient for a rigorous test of our structure. So far as we can tell, it is roughly compatible with the experimental data, but it must be regarded as unproved until it has been checked against more exact results. Some of these are given in the following communications. We were not aware of the details of the results presented there when we devised our structure, which rests mainly though not entirely on published experimental data and stereochemical arguments.

It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material.

Full details of the structure, including the conditions assumed in building it, together with a set of co-ordinates for the atoms, will be published elsewhere.

We are much indebted to Dr. Jerry Donohue for constant advice and criticism, especially on interatomic distances. We have also been stimulated by a knowledge of the general nature of the unpublished experimental results and ideas of Dr. M. H. F. Wilkins, Dr. R. E. Franklin and their co-workers at

<http://www.thesubversivearchaeologist.com/2012/03/touchstone-thursday-watson-and-cricks.html>

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,

DE-SZTE-EKF-NYME

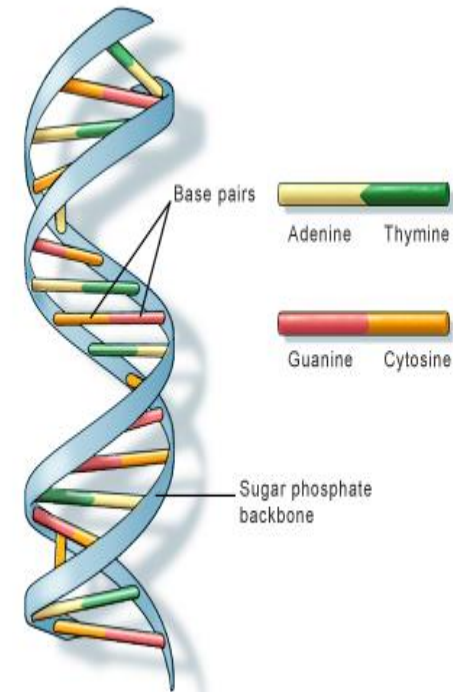
Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

DNS szerkezete

- A nukleotidok szabályosan ismétlődő távolságokban egymás felett helyezkednek el
- A nukleotidok lapos molekuláinak síkja merőleges a szál hossz tengelyére
- A DNS két ellentétes polaritású szálból épül fel
- Purin bázissal szemben mindig pirimidin bázis áll, melyeket hidrogén hidak kötnek össze.



U.S. National Library of Medicine

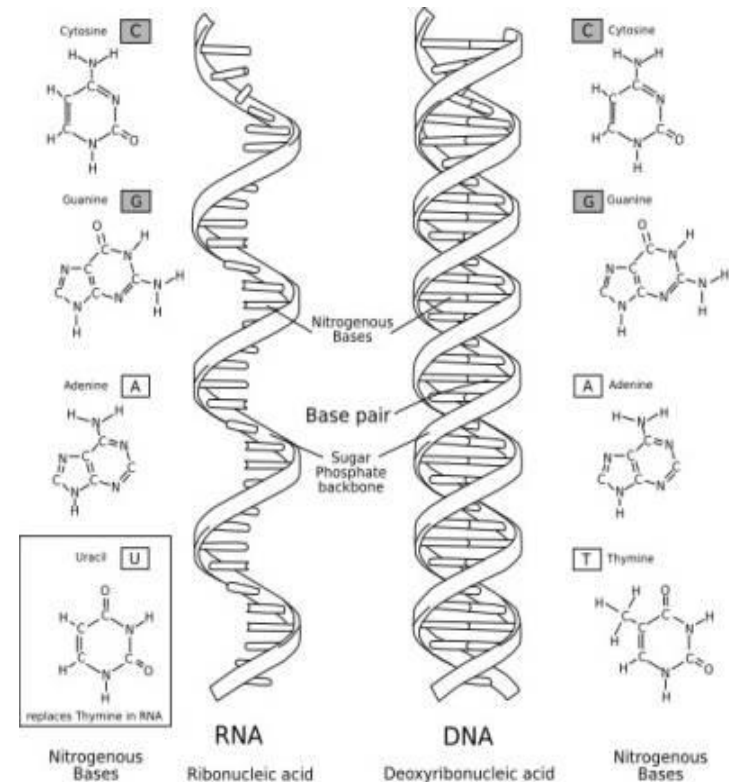
<http://www.news-medical.net/health/What-is-DNA.aspx>

Ribonukleinsav (RNS)

• Ribonukleotidokból álló egyszálú órisámolekula

• 1 nukleotid alegység:
nitrogén tartalmú szerves bázis (adenin, uracil, citozin, guanin),
pentóz cukor(ribóz)
Foszfátcsoport

• Szerepük:
Fehérjeszintézis
Örökítőanyag egyes vírusoknál
Enzimfunkció



<http://dns.bioenergetikus.hu/>

Mitokondriális DNS

Cirkuláris

Kb 17 000 nt

2 fő része van

-kódoló régió

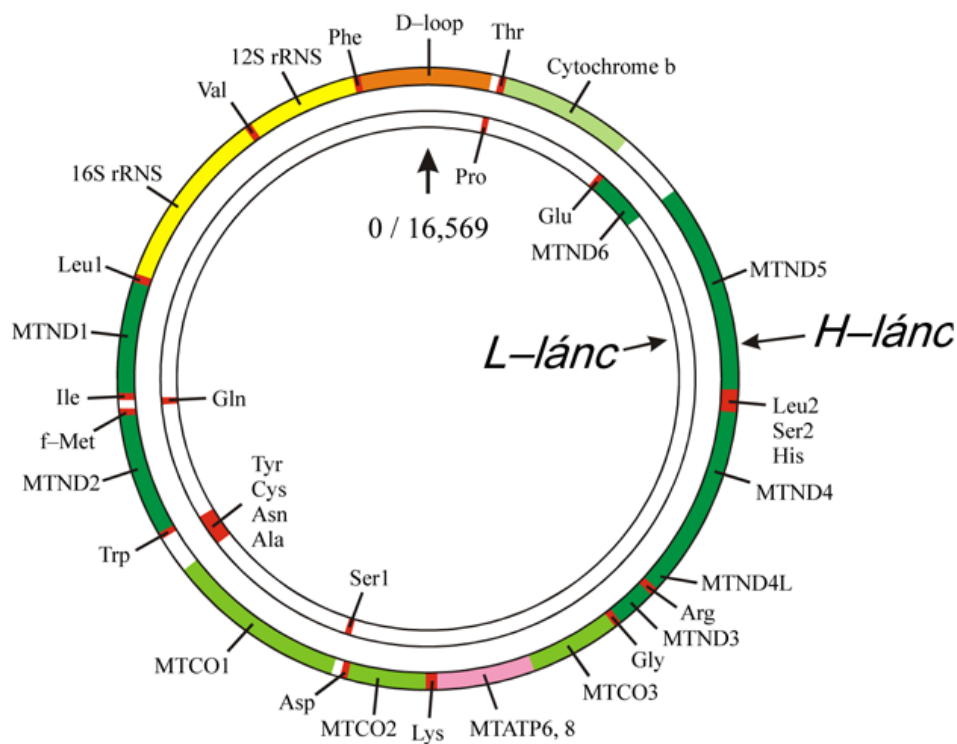
(13 fehérjét, 22+rRNS,
2rRNS)

- D-loop régió

Anyai ágon öröklődik

Nincs rekombináció

Nincs intron



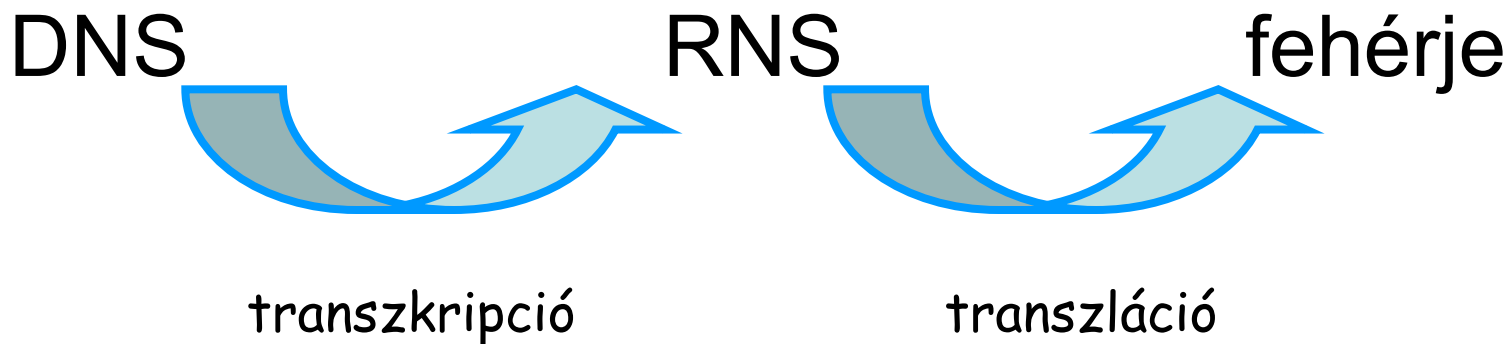
http://www.mvsz.hu/m7vk/pop_16.html

RNS típusai

- hírvivő RNA (mRNA) <math><5\%</math>
hosszúsága, tömege változó
nehéz izolálni, legkisebb mennyiségben fordul elő a sejtekben
- riboszómális RNA (rRNA) <math>< 80\%</math>
3 típusa van (23S, 16S, 5S)
nem túl stabil
riboszómák felépítésében fontos
- transzfer RNA (tRNA) $\sim 15\%$
legkisebb RNS molekula, 75-80 nukleotid egység
legalább 61 formája van
- számos RNS csoport pl kis sejtmagi RNS (snRNP).



Central dogma



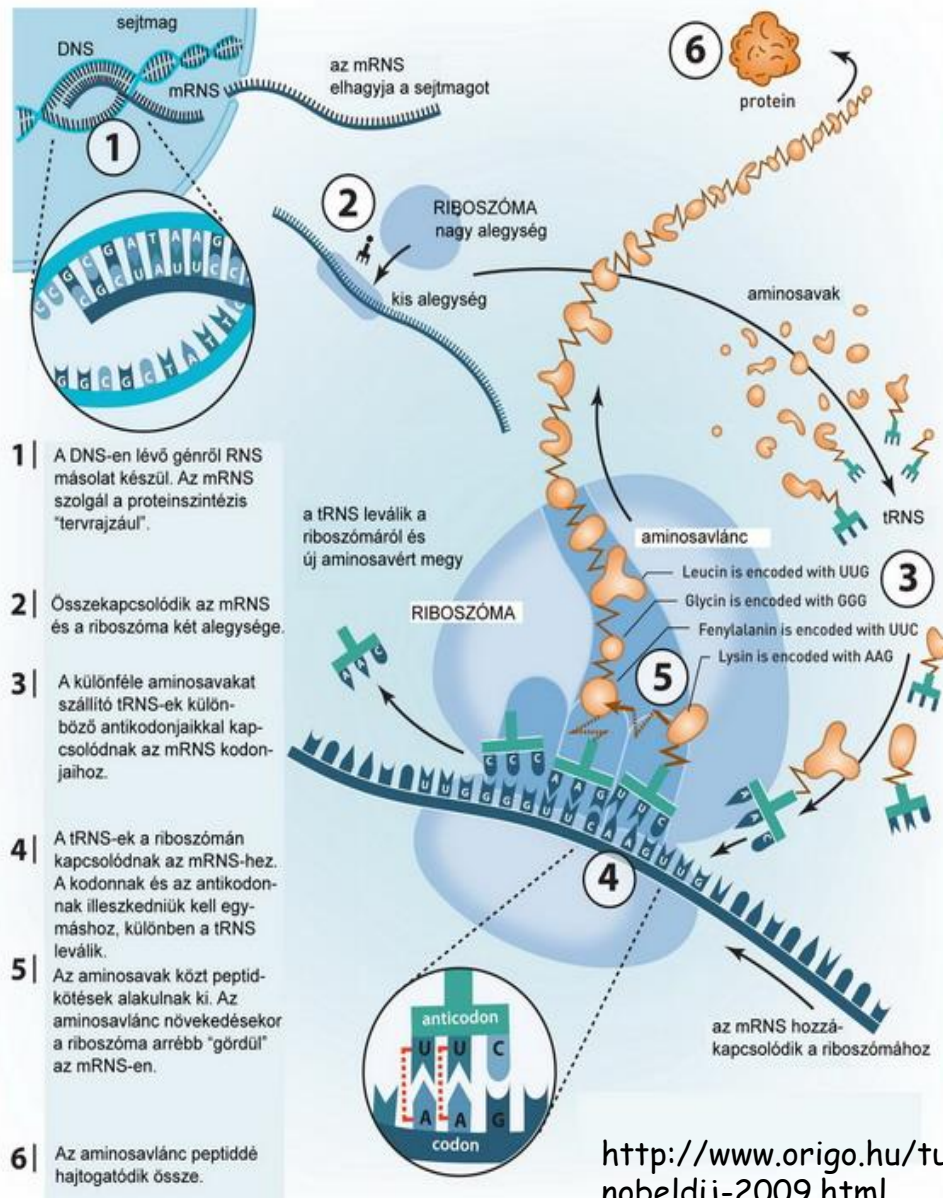
Mi volt először???

DNS-enzimek





Fehérjlesztés



- 1 | A DNS-en lévő génről RNS másolat készül. Az mRNS szolgál a proteinszintézis "tervrajzául".
- 2 | Összekapcsolódik az mRNS és a riboszóma két alegysége.
- 3 | A különféle aminosavakat szállító tRNS-ek különböző antikodonjaikkal kapcsolódnak az mRNS kodonjaihoz.
- 4 | A tRNS-ek a riboszómán kapcsolódnak az mRNS-hez. A kodonnak és az antikodonnak illeszkedniük kell egymáshoz, különben a tRNS leválik.
- 5 | Az aminosavak közt peptidkötések alakulnak ki. Az aminosavlánc növekedésekor a riboszóma arrébb "gördül" az mRNS-en.
- 6 | Az aminosavlánc peptiddé hajtogatódik össze.

<http://www.origo.hu/tudomany/20091007-kemiai-nobeldij-2009.html>

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

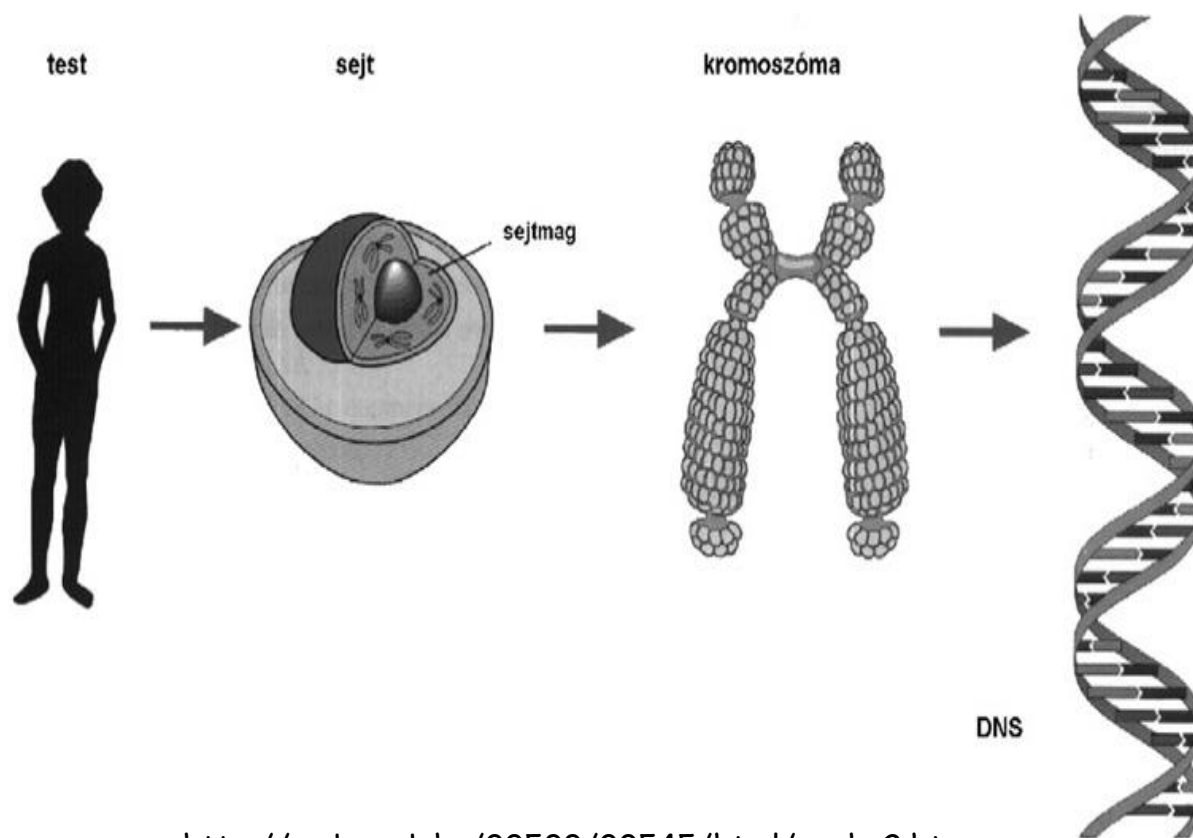
Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

Egy szervezet felépítése



<http://mek.oszk.hu/00500/00545/html/genhu2.htm>

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

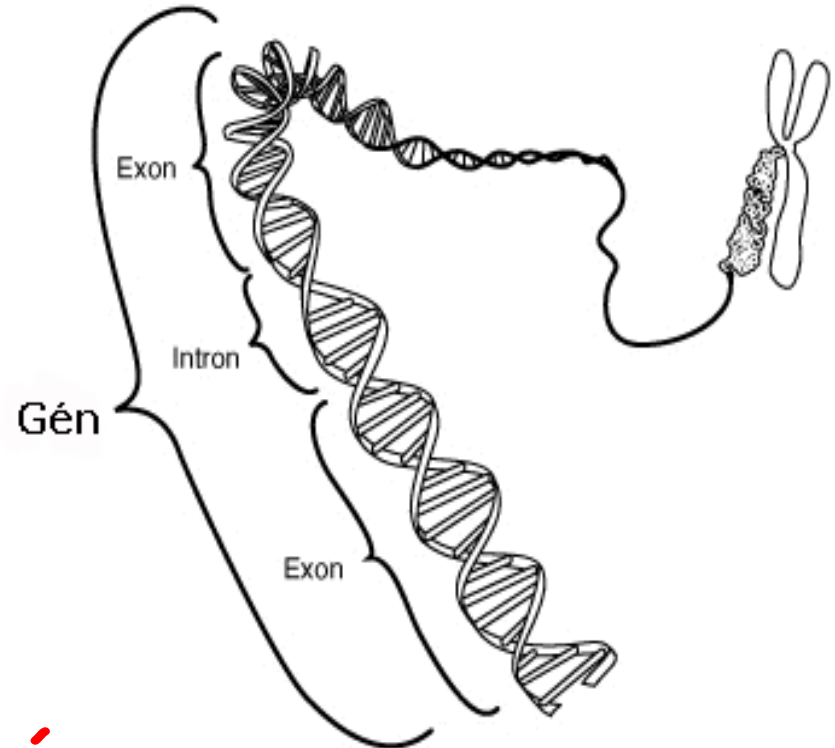
Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

GÉN - DNS - KROMOSZÓMA

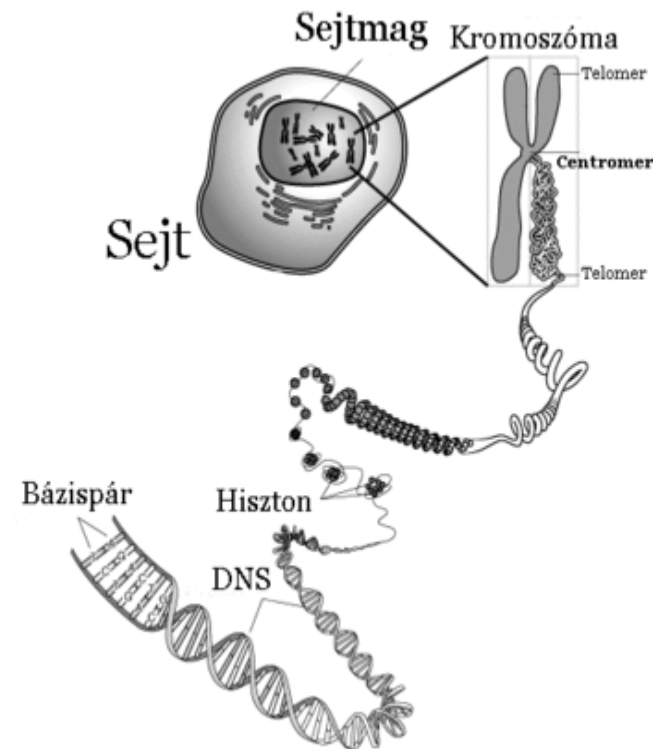


A gén az öröklődés egysége

<http://hu.wikipedia.org/wiki/G%C3%A9n>

Génekel szembeni elvárások

- többszöröződés, replikációs képesség
- változékonyság megtartása
- az adott fajra, fajtára jellemző alakot, szerkezetet határozzon és tartson meg az utódokban



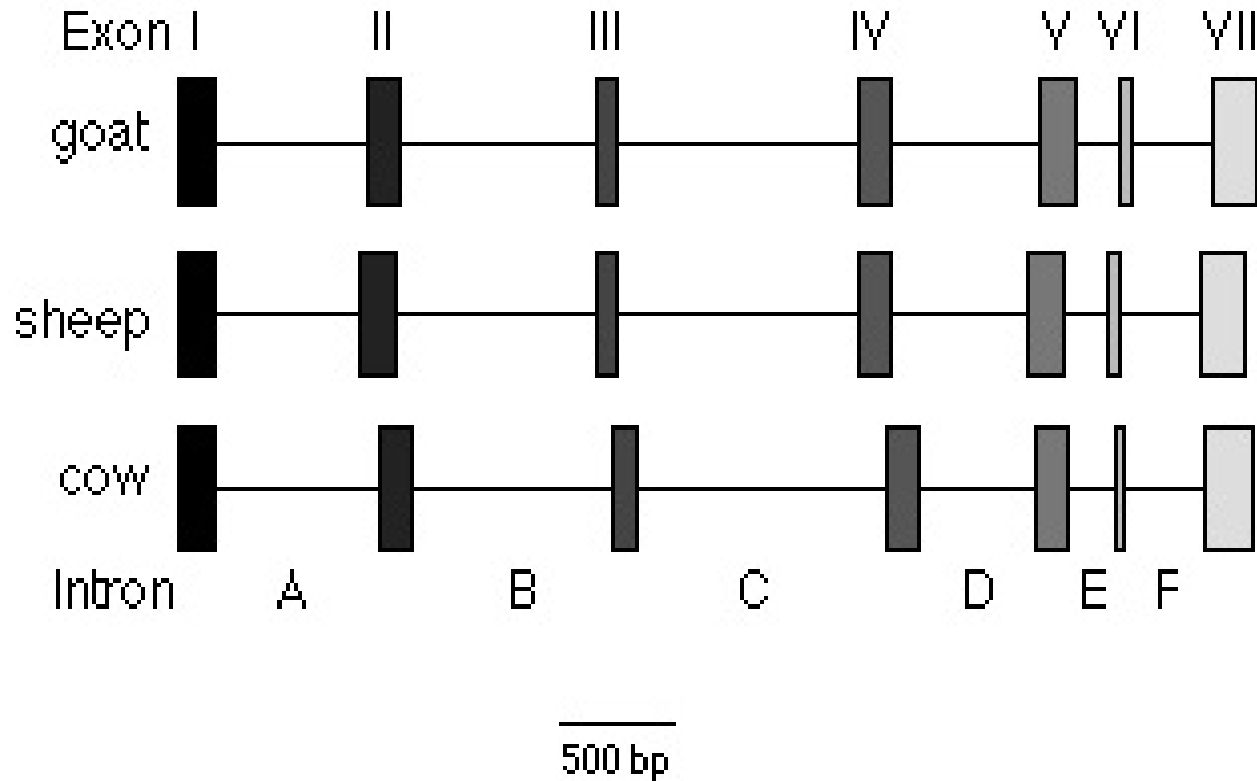
<http://hu.wikipedia.org/wiki/G%C3%A9n>



Gének fajtái

- Fehérje kódoló gének
- RNS-t kódoló gének
siRNS-small interfering RNS
snRNS-small nuclear RNS
ribozimok
- Át nem írt gének
szabályozó szekvenciák
szegregátor gének
replikáló gének

Gének szerkezeti felépítése



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

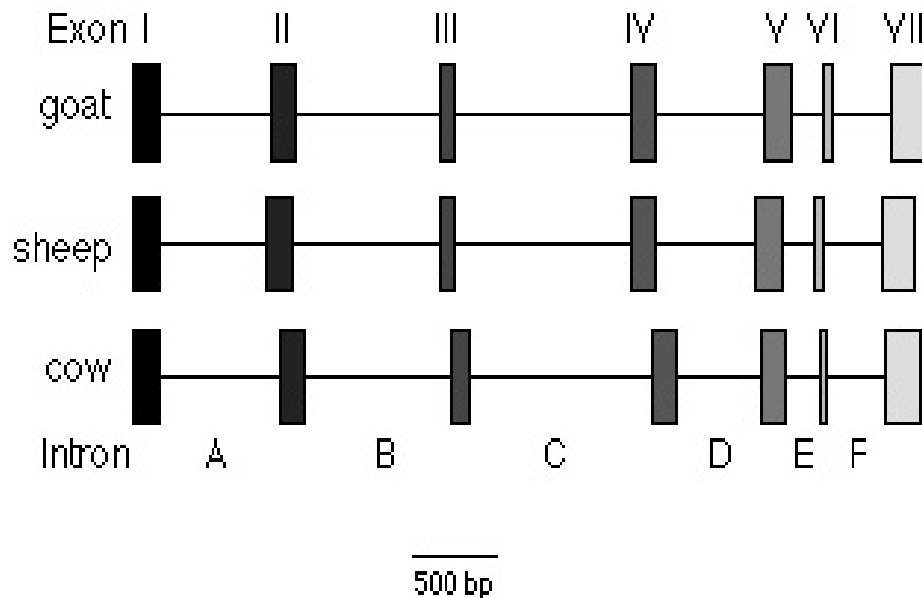
Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

kódozó régió: exon: átíródik intron: kivágódik



szabályozó régió: promóter régió- kódozó régió előtt
kódozó régió előtt, benne, mögött



Alternatív splicing

150 000 gént feltételeztek

The Plant Cell, Vol. 1, 815–825, August 1989 © 1989 American Society of Plant Physiologists

Alternative mRNA Splicing Generates the Two Ribulosebisphosphate Carboxylase/Oxygenase Activase Polypeptides in Spinach and *Arabidopsis*

Jeffrey M. Werneke, J. Mark Chatfield,¹ and William L. Ogren²

Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture, 1102 South Goodwin Avenue, Urbana, Illinois 61801

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



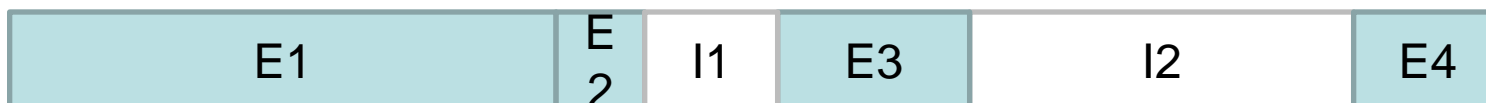
A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Alternatív splicing

Normál esetben

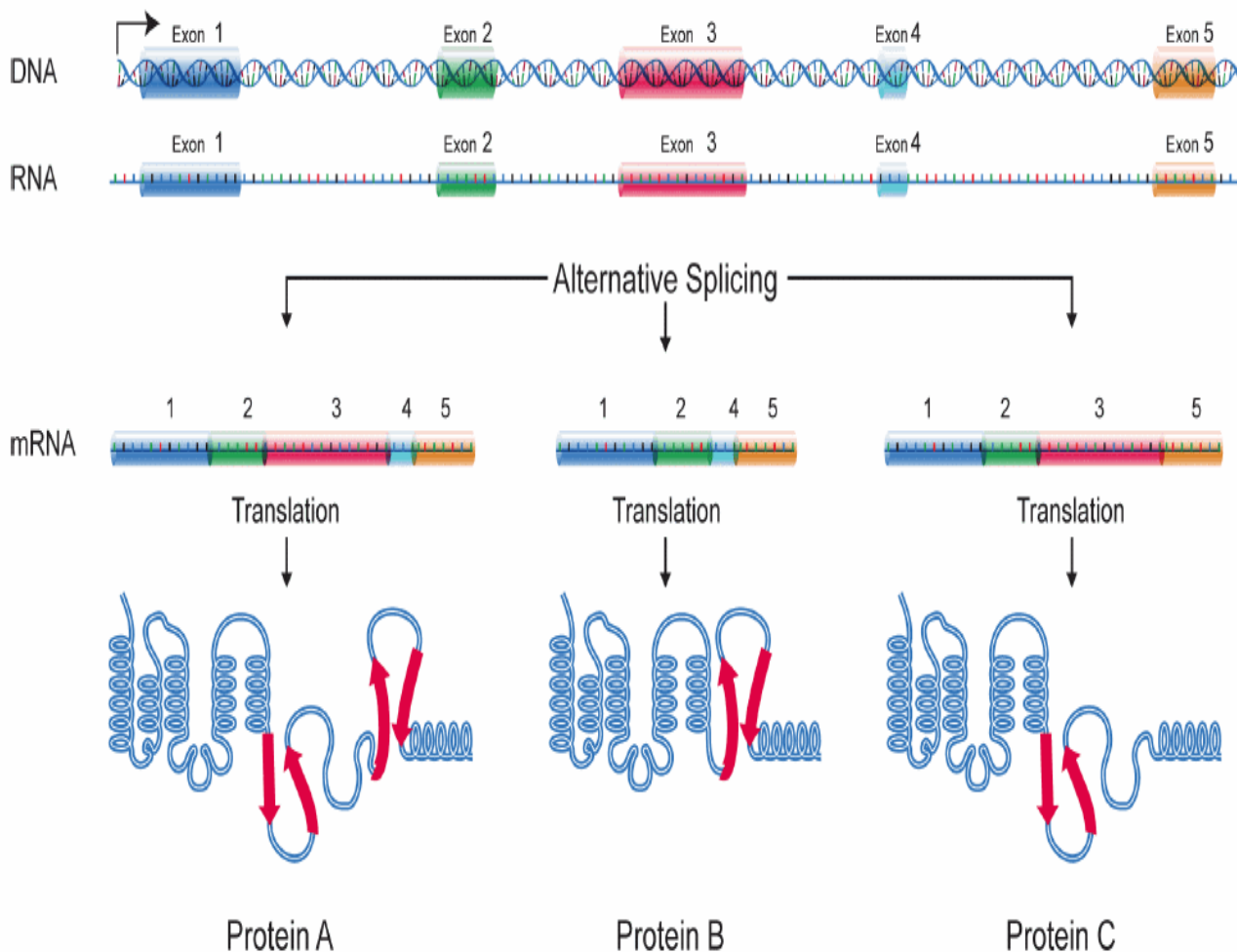
Pre-mRNS



Átírt mRNS



Alternatív splicing



http://www.thefullwiki.org/Proteomics/Protein_Primary_Structure/Alternative_Splicing

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

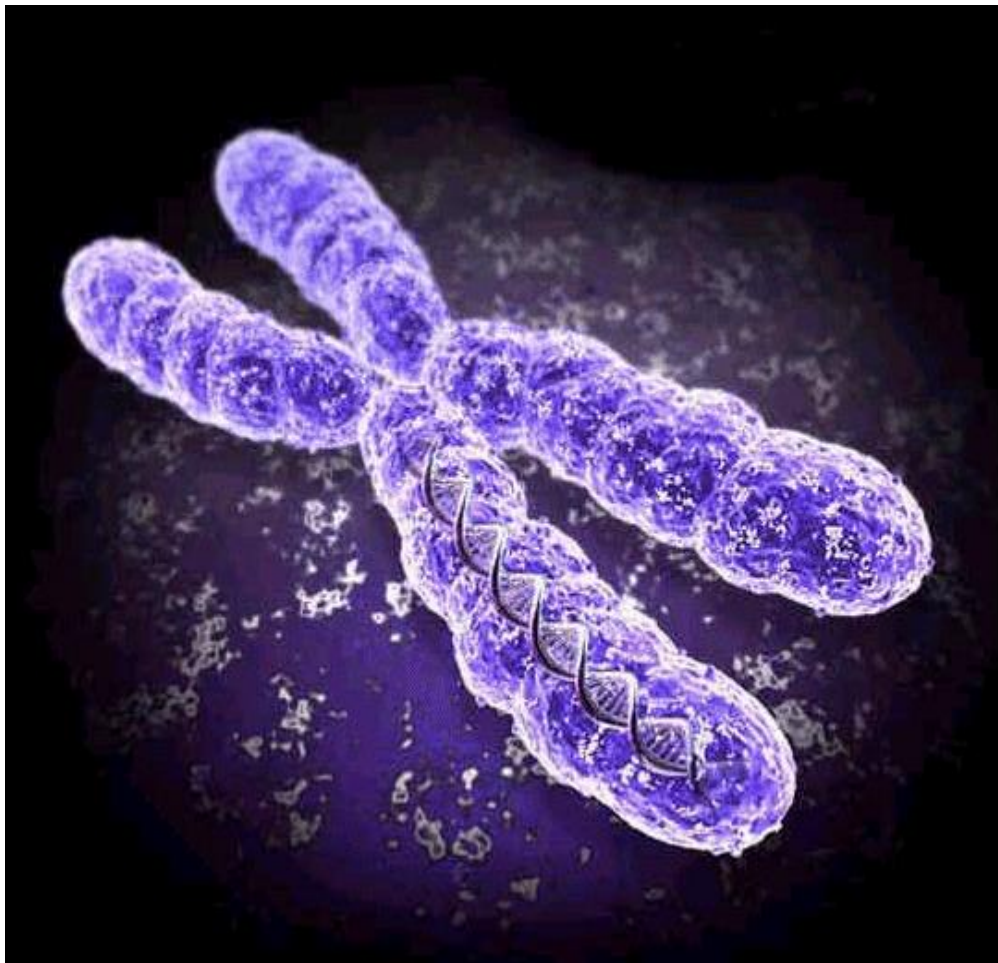
Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

Kromoszóma



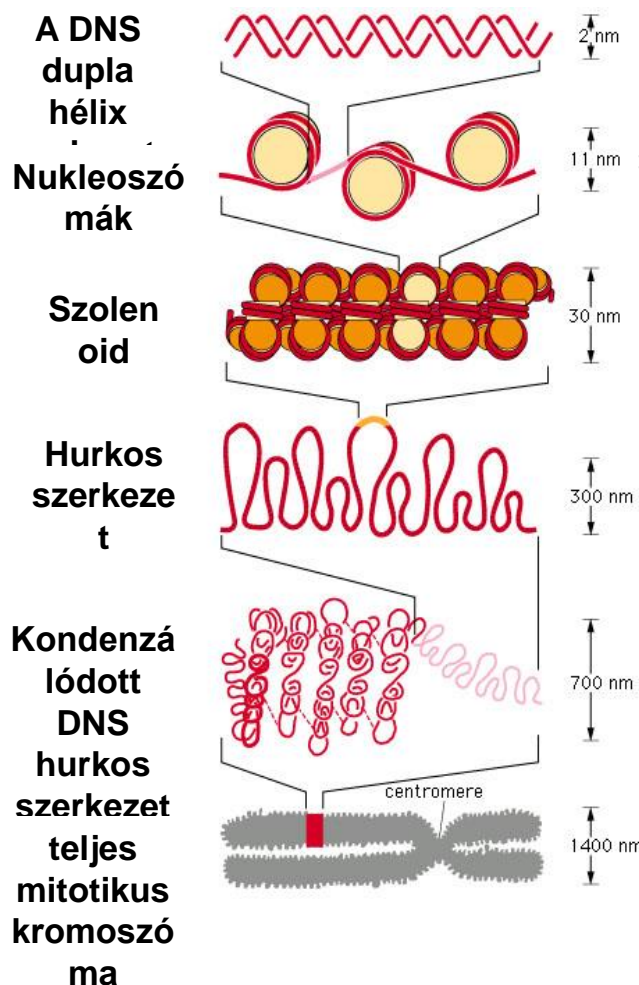
1 kromoszóma 1 DNS molekula

<http://index.hu/tudomany/biotech/dns250108/>

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

A DNS kromoszómába „csomagolása”



Elektromikroszkópos felvételek:

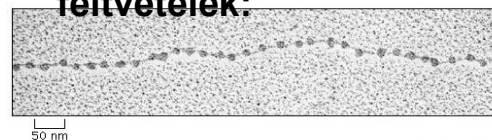
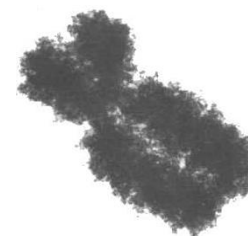


Figure 8-8 from Essential Cell Biology



A Textbook of Histology, Chapman and Hall 12th edition, Figure 1-14

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638

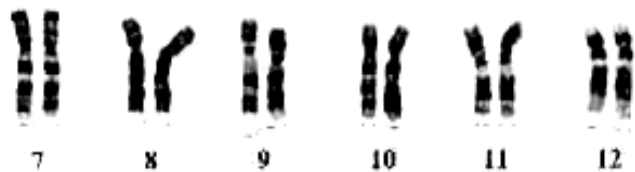


A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

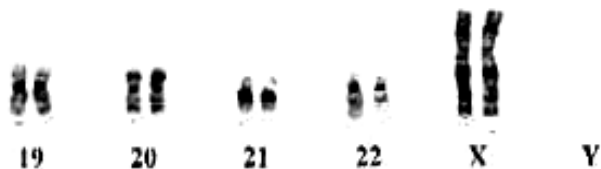
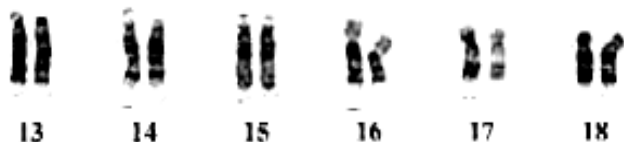
Kariogram - kariotípus



Kariogram: egy sejt/szervezet kromoszómakészlete



Kariotípus: a fajra jellemző kariogram



<http://hu.wikipedia.org/wiki/Kromosz%C3%B3ma>

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Különböző szervezetek haploid kromoszóma száma

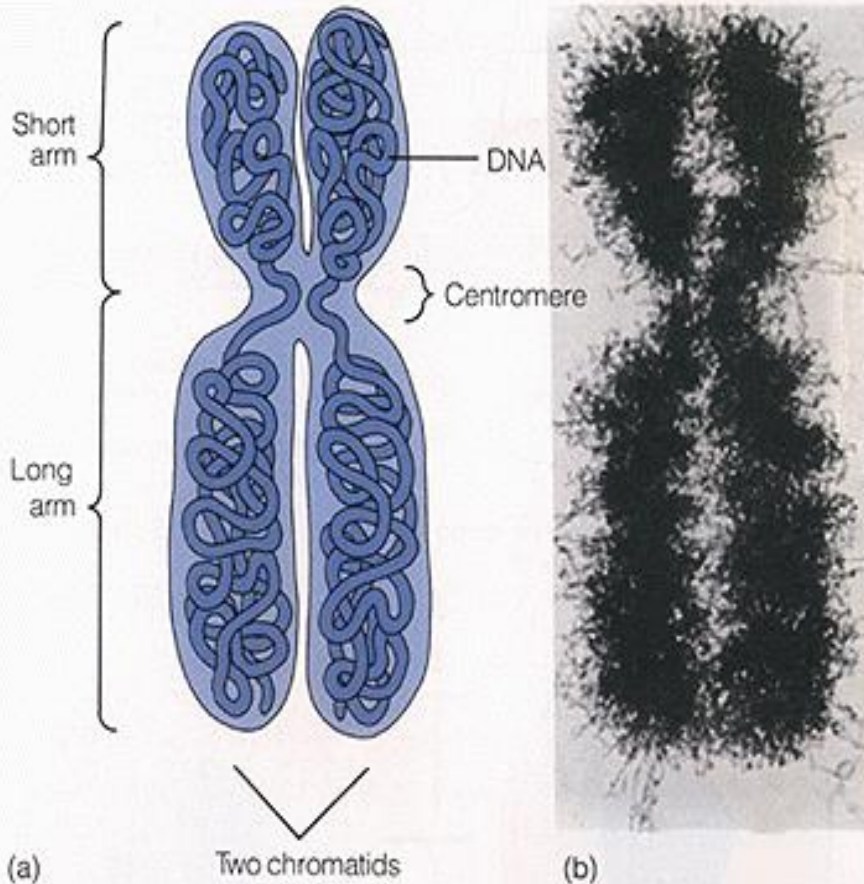
THE HAPLOID NUMBER OF CHROMOSOMES FOR A VARIETY OF ORGANISMS

Common Name	Scientific Name	Haploid Number	Common Name	Scientific Name	Haploid Number
Black bread mold	<i>Aspergillus nidulans</i>	8	House mouse	<i>Mus musculus</i>	20
Broad bean	<i>Vicia faba</i>	6	Human	<i>Homo sapiens</i>	23
Cat	<i>Felis domesticus</i>	19	Jimson weed	<i>Datura stramonium</i>	12
Cattle	<i>Bos taurus</i>	30	Mosquito	<i>Culex pipiens</i>	3
Chicken	<i>Gallus domesticus</i>	39	Mustard plant	<i>Arabidopsis thaliana</i>	5
Chimpanzee	<i>Pan troglodytes</i>	24	Pink bread mold	<i>Neurospora crassa</i>	7
Corn	<i>Zea mays</i>	10	Potato	<i>Solanum tuberosum</i>	24
Cotton	<i>Gossypium hirsutum</i>	26	Rhesus monkey	<i>Macaca mulatta</i>	21
Dog	<i>Canis familiaris</i>	39	Roundworm	<i>Caenorhabditis elegans</i>	6
Evening primrose	<i>Oenothera biennis</i>	7	Silkworm	<i>Bombyx mori</i>	28
Frog	<i>Rana pipiens</i>	13	Slime mold	<i>Dictyostelium discoidium</i>	7
Fruit fly	<i>Drosophila melanogaster</i>	4	Snapdragon	<i>Antirrhinum majus</i>	8
Garden onion	<i>Allium cepa</i>	8	Tobacco	<i>Nicotiana tabacum</i>	24
Garden pea	<i>Pisum sativum</i>	7	Tomato	<i>Lycopersicon esculentum</i>	12
Grasshopper	<i>Melanoplus differentialis</i>	12	Water fly	<i>Nymphaea alba</i>	80
Green alga	<i>Chlamydomonas reinhardi</i>	18	Wheat	<i>Triticum aestivum</i>	21
Horse	<i>Equus caballus</i>	32	Yeast	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	16
House fly	<i>Musca domestica</i>	6	Zebrafish	<i>Danio rerio</i>	25

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYMENemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638

A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Centromer (befűződés):
a húzófonalak tapadási helyei a kromoszómán

Telomer:
A szabad DNS vég védelme a lebomlástól
A replikációs rövidülés megakadályozása.

A két kromatida alakja, mérete azonos!

http://www.dnafordummies.nl/chromosomen_en.php

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME



Genetikai kód

- Az mRNS által szállított bázisok sorrendjét tartalmazza a genetikai kód
- Egy kód négy betűt tartalmazhat (A, G, C, U)
- Ez a kód elég ahhoz, hogy a 20 különböző aminosavból felépülő fehérjék szintetizálódjanak



Genetikai kód

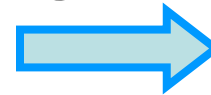
- Ha **egy bázis** egy aminosavat határozna meg
4 féle lehetőség (A, C, G, U)
- Ha **egy bázispár** egy aminosavat határozna meg
 $4 \times 4 = 16$ féle lehetőség (AA, AC, AG, AU, CA, CC, CG, CU stb)
- Ha **egy bázistriplet** egy aminosavat határozna meg
 $4 \times 4 \times 4 = 64$ féle lehetőség **DE** 3 stop kodon: TAA, TAG, TGA



Genetikai kód

1 aminósavat 3 bázis határoz meg

Pl: metionin-ATG



triplet

mRNS bázishármasai



kodon

A természet biztosítóka

1 aminosavat NEM EGY triplet határoz meg

Az mRNS bázishármasa (kodon)					
1. bázis	2. bázis				3. bázis
	U	C	A	G	
U	fenilalanin	szerin	tirozin	cisztein	U
	fenilalanin	szerin	tirozin	cisztein	C
	leucin	szerin	STOP	STOP	A
	leucin	szerin	STOP	triptofán	G
C	leucin	prolin	hisztidin	arginin	U
	leucin	prolin	hisztidin	arginin	C
	leucin	prolin	glutamin	arginin	A
	leucin	prolin	glutamin	arginin	G
A	izoleucin	treonin	aszparagin	szerin	U
	izoleucin	treonin	aszparagin	szerin	C
	izoleucin	treonin	lizin	arginin	A
	metionin lánckezdő	treonin	lizin	arginin	G
G	valin	alanin	aszparaginsav	glicin	U
	valin	alanin	aszparaginsav	glicin	C
	valin	alanin	glutaminsav	glicin	A
	valin	alanin	glutaminsav	glicin	G



Témakörhöz kapcsolódó kérdések

Hogyan jellemzi a DNS-gén-kromoszóma kapcsolódási rendszerét?

Hasonlítsa össze a DNS-t és RNS-t!

Hasonlítsa össze a genomiális és mitokondriális DNS-t!

Felhasznált és ajánlott irodalom

Fésüs László - Komlósi István - Varga László - Zsolnai Attila:

Molekuláris genetikai módszerek alkalmazása az állattenyésztésben.

Agroinform Kiadó. Budapest. 2000.

Heszky L. - Fésüs L. - Hornok L. (2005): Mezőgazdasági

Biotechnológia. Agroinform Kiadó. Budapest





DEBRECENI EGYETEM



Genetikai öröklődés, populáció genetikai szerkezete

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Az előadás vázlatja

Alapfogalmak

Genotípus-környezet interakció

Ki volt Gregor Mendel?

Mendel törvényei

HWE



Fogalmi áttekintő

DNS-gén-kromoszóma

Allél

Lókusz

Fenotípus-genotípus

Diploid - haploid

Homozigóta - heterozigóta



Genotípus

Egy szervezet genetikai felépítése, allélok összessége.

Fenotípus

A genotípus által meghatározott és más külső tényezők által befolyásolt megjelenés



A **genotípus** megszabja a fenotípust.

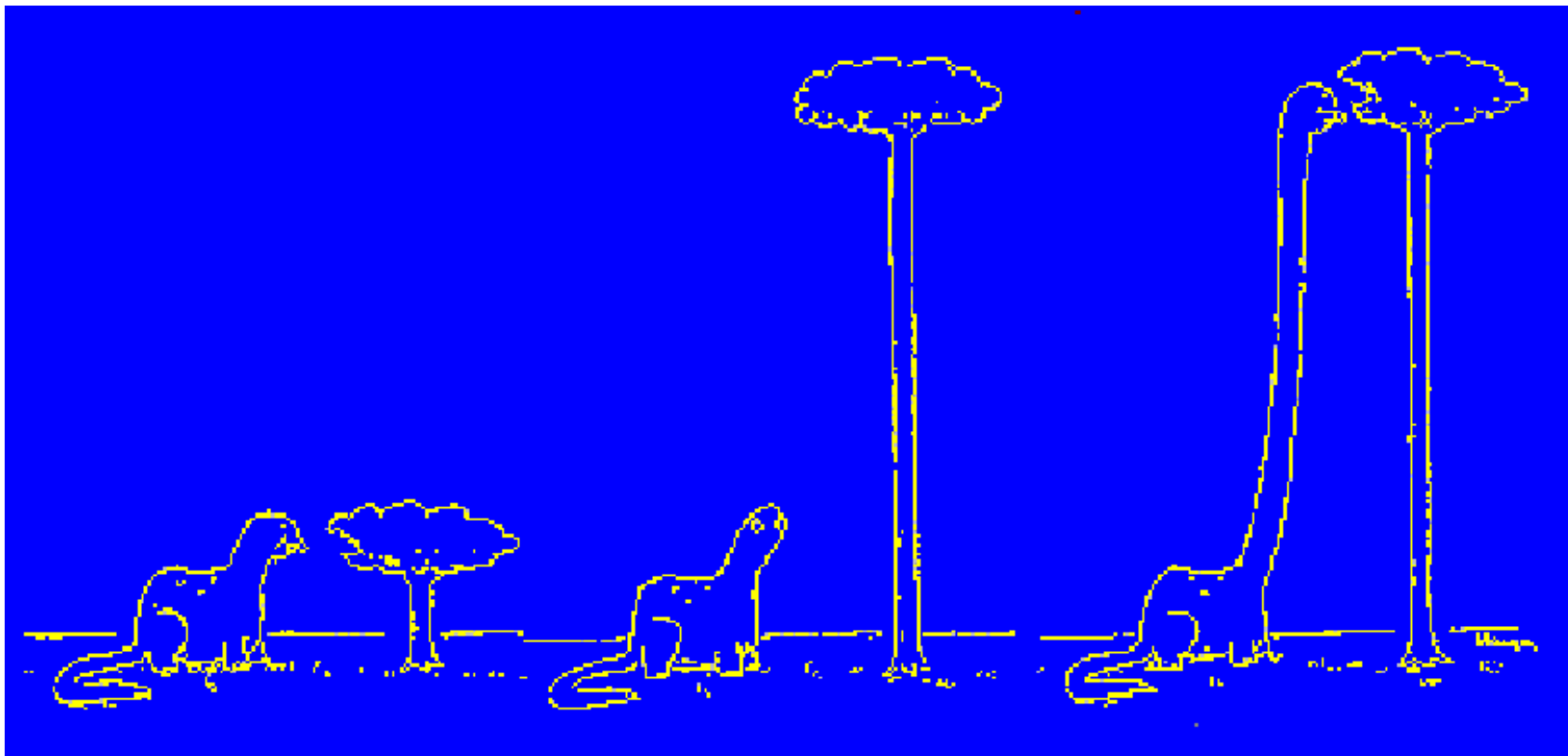
A **fenotípus** azonban **nem** csak a genotípustól függ!

A fenotípus kialakulása a genotípus és a környezet kölcsönhatása során valósul meg.

A genetika központi kérdése, hogy milyen módon alakítja ki a genotípus a fenotípust, és ezt milyen egyéb tényezők befolyásolhatják?



A genetika fő kérdése:
milyen módon alakítja ki a genotípus a fenotípust,
és ezt milyen más tényezők befolyásolják még?



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



A genotípus környezet interakció

A genotípus folyamatos kölcsönhatásban van a környezettel.

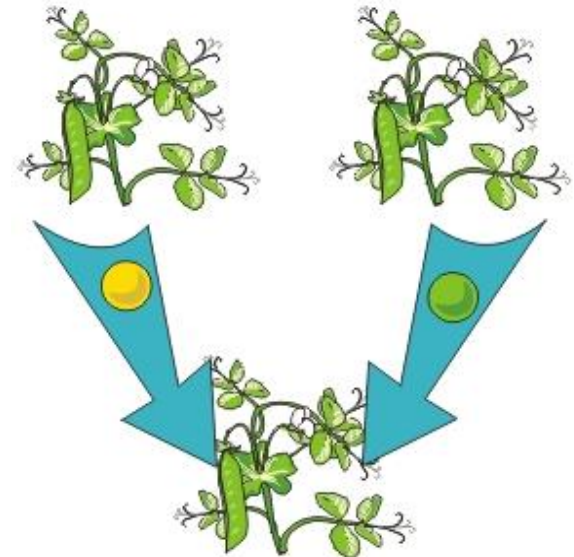
Különböző genotípusok azonos környezetben **különböző fenotípust** eredményezhetnek.

Különböző környezetben **azonos genotípusok** eredményeznek **különböző fenotípusokat**.

Különböző genotípusok különböző környezetben eredményezhetnek **azonos fenotípust**.

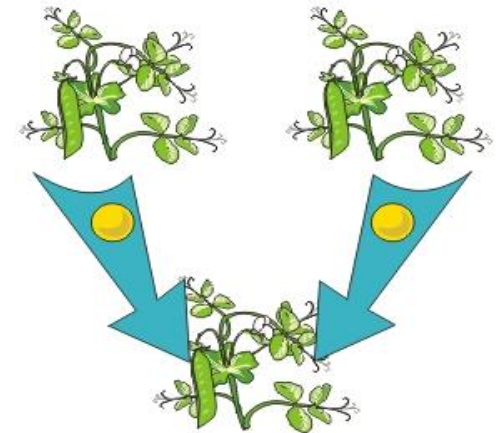
Heterozigóta

A két génjükre nézve más-más szint örökölték, heterozigóták.



Homozigóta

A két génjükre nézve ugyanazt a szint örökölték, homozigóták.





Johann Gregor Mendel (1822-1884)



<http://ecodevoevo.blogspot.com/2012/05/what-do-we-know-about-gregor-mendel-and.html>

A genetika alapjait, törvényszerűségeit fektette le.

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

Ágoston rendi szerzetes

Borsónövényeken vizsgálta a gének természetes átörökítésének törvényszerűségeit

Munkáját, eredményeit halála után ismerték el



<http://www.mindennapi.hu/cikk/kultura/a-google-ma-egy-botanikus-szerzetesre-emlekezik/2011-07-20/5260>

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Rájött, hogy minden örökletes tulajdonságot az egyedekben két, meglehetősen stabil „faktor” (ma: DNS) határoz meg, míg az ivarsejtekben minden tulajdonságra nézve csak egy „faktor” található (ma: diploid-haploid).

Az öröklésért felelős „faktorok” nem elegyednek egymással, hanem véletlenszerűen kombinálódva jutnak az utódokba.

Azt is megfigyelte, hogy ha a hibridekben két különböző „faktor” van jelen, akkor az egyik domináns hatású lehet a másikkal szemben.



Miért borsó kísérlet?

Kis terület szükséges

Sok utód születik

Mesterségesen keresztbe beporozható



<http://www.tuja.hu/webaruhaz/borsofa-borso-cserje-caragana-arborescens.html>

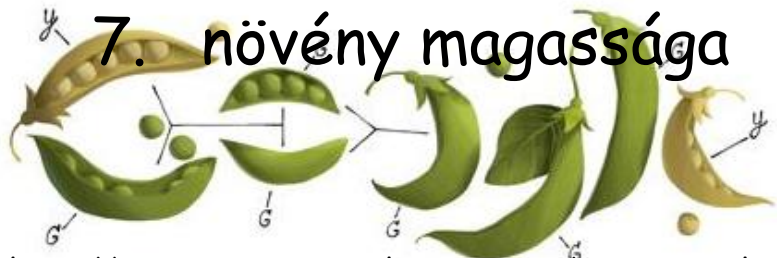
TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME



7 tulajdonságot vizsgált















1. virágszín
2. virág elhelyezkedés
3. mag színe
4. mag alakja
5. hüvely alakja
6. hüvely színe
7. növény magassága



http://www.comparative-legumes.org/news_articles

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Character	Dominant Trait	×	Recessive Trait	F ₂ Generation Dominant:Recessive	Ratio
Flower color	Purple 	×	White 	705:224	3.15:1
Flower position	Axial 	×	Terminal 	651:207	3.14:1
Seed color	Yellow 	×	Green 	6022:2001	3.01:1
Seed shape	Round 	×	Wrinkled 	5474:1850	2.96:1
Pod shape	Inflated 	×	Constricted 	882:299	2.95:1
Pod color	Green 	×	Yellow 	428:152	2.82:1
Stem length	Tall 	×	Dwarf 	787:277	2.84:1

<http://gathabiotens.wordpress.com/2010/08/12/ipadio-brookes-phlog-3rd-phonecast/>

I. Uniformitás-törvénye

Ha homozigóta szülőket keresztezünk



Genotípus





PP

pp

I. Uniformitás-törvénye

Lila virágú szülő (PP)

Fehér virágú szülő (pp)

 <p>Purple (Pp)</p>	 <p>Purple (Pp)</p>
 <p>Purple (Pp)</p>	 <p>Purple (Pp)</p>

Az F1 utódnemzedék minden egyede egyforma geno- (Pp) és fenotípusú (lila virágú).

Hova lett a szülői generáció feno- és genotípusa???

II. Hasadás-törvénye

Ha az F1 nemzedék egyedeit keresztezünk



Genotípus





Pp

Pp

II. Hasadás-törvénye

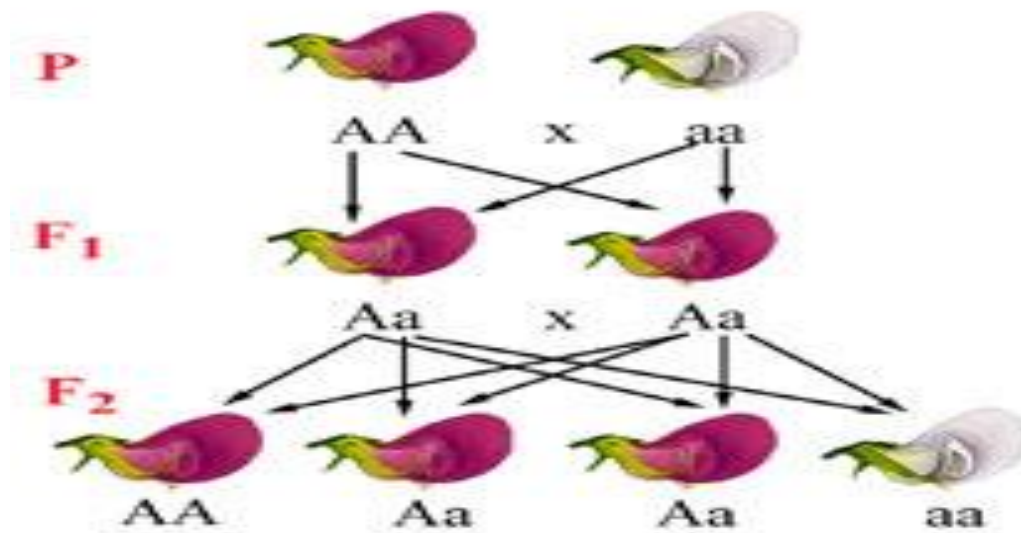
Lila virágú szülő (Pp)

Lila virágú szülő (Pp)

 Purple (PP)	 Purple (Pp)
 Purple (Pp)	 White (pp)

Az F2 utódnemzedékben megjelennek a nagyszülők mind geno- (PP, pp) mind fenotípusban (lila és fehér virágú).

Uniformitás és hasadás törvénye



	A	a
A	AA	Aa
a	Aa	aa

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
 vonatkozású egyetemi együttműködés,
 DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
 06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



III. Szabad kombinálódás / független öröklődés törvénye

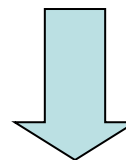
Különböző tulajdonságok egymástól függetlenül öröklődnek.

Azonban ez akkor igaz, ha a két lókuszt nem kapcsolt, különböző kromoszómákon helyezkednek el, vagy egymástól távoli pozícióban.



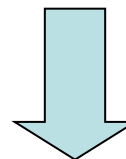
Mennyiségi és minőségi tulajdonságok öröklése

Egy tulajdonságot több gén határoz meg
pl. tejmennyiség, testsúly, testmagasság



Mennyiségi tulajdonságok

Egy tulajdonságot egy gén határoz meg
pl. szarvaltság



Minőségi tulajdonságok





IV. Gaméták tisztaságának törvénye

Egy tulajdonságért felelős gén allélpárjának két tagja elválik egymástól (szegregál) az ivarsejtképzés, azaz a meiózis során.

Meiózis

I. főszakasz

II. főszakasz



Előszakasz

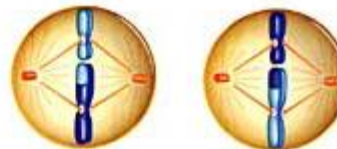
kétkromatidás kromoszómák



homológ párok

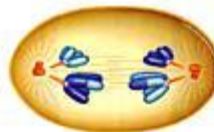


Középszakasz



homológ párok szétválása

kromatidák szétválása

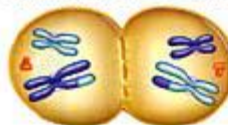


Utószakasz



kétkromatidás kromoszómák

egykromatidás kromoszómák



Végszakasz

2 utódsejt ($n=2$)4 utódsejt ($n=2$)

<http://tudasbazis.sulinet.hu/hu/termeszet tudomanyok/biologia/biologia-11-evfolyam/a-meiozis-es-a-genetikai-valtozatossag/a-meiozis>

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Eltérések a Mendel törvényeitől

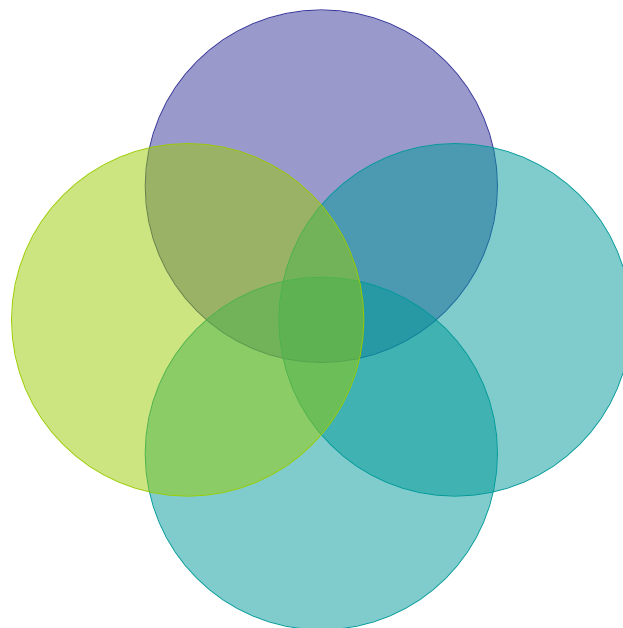
- Letális (halálos), szubletális allélok
- Recesszív episztázis
- Kapcsoltság



Öröklés menetek

Domináns-recesszív

poligénes



kodomancia

pl.emberi vércsoport

intermedier

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

Domináns-recesszív öröklésmenet

Egy allél kifejeződése



Domináns

Recesszív

háromféle genotípus

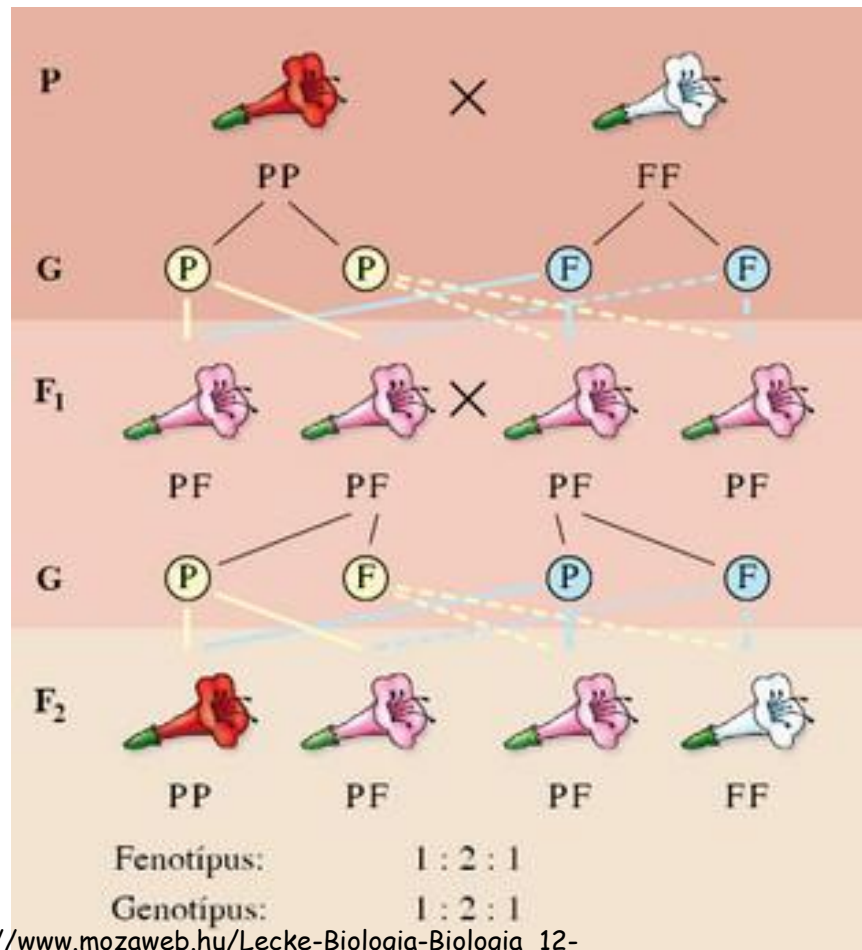
kétféle fenotípus



Intermedier / köztes öröklésmenet

háromféle genotípus

háromféle fenotípus



http://www.mozaweb.hu/Lecke-Biologia-Biologia_12-Egy_gen_altal_meghatározott_tulajdonsag_oroklodese_allelikus_kolcsonhataso_k-102643

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Példa

Ha fekete homozigóta nyulakat párosítunk fehér nyulakkal minden utód fekete lesz. Miért?



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Fekete nyúl (BB)

Fehér nyúl (bb)



(Bb)



(Bb)



(Bb)



(Bb)

<http://www.buckeyevalleyfarms.freesevers.com/photo.html>

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Hardy-Weinberg egyensúly

Ideális populációban az allélgyakoriságok nemzedékről nemzedékre változatlanok.

Ha **A** allél gyakorisága p ,
a allél gyakorisága q

AA gyakorisága: p^2

Aa gyakorisága: $2pq$

aa gyakorisága: q^2

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1$$



Hardy-Weinberg egyensúly

De a HWE megváltozik

- Mutáció hatására
- migráció hatására
- szelekció hatására
- Ha a populáció kicsi → génsodródás
- Nem véletlenszerű párosodás (belfényésztés)



Témakörhöz kapcsolódó kérdések

Mi a genotípus-környezet interakció jelentősége?

Ki volt Mendel és miért fontos személyiség?

Mendel törvényeit ismertesse!

Felhasznált és ajánlott irodalom

Fésüs L. - Komlósi I. - Varga L. - Zsolnai A.: Molekuláris genetikai módszerek alkalmazása az állattenyésztésben. Agroinform Kiadó. Budapest. 2000.

Komlósi I.- Veress L.: Általános állattenyésztés.

Heszky L. - Fésüs L. - Hornok L. (2005): Mezőgazdasági Biotechnológia. Agroinform Kiadó. Budapest



DEBRECENI EGYETEM



Mutációk előfordulása, jelentősége, típusai

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Az előadás vázлата

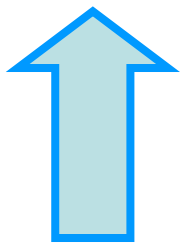
Genetikai diverzitás jelentősége

Mutációk csoportosítása, típusai

Mutációk felhasználási lehetőségei



Genetikai diverzitást befolyásoló tényezők



mutáció
rekombináció
migráció



szelekció
gén sodródás

egyedek közötti azonosság: 99.9%



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014
Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

A mutáció

A mutáció a DNS megváltozása
Általában káros allélok keletkeznek



http://www.egzotikus_allatok.abbcenter.com/?galstep=1&id=279269

Azonban előnyös mutációk is lehetnek



<http://budapestcity.org/11-egyeb/hungaricum/allatok/juhok-hu.htm>

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



A mutáció

Előny: az evolúció alapja a diverzitás, így a mutációk jelenthetik a változatosság forrását is



Hátrány: betegségek





A mutáció

több féle mutáció létezik

- időben
- hatásukban
- kialakulásának helyében
- kialakulásának okában



A mutációk típusai

- 1. kromoszóma mutáció - nagy mutáció**
 - Kromoszóma szerkezetében következik be változás
- 2. genom mutáció - nagy mutáció**
 - Kromoszómák számában történik változás
- 3. gén vagy pont mutáció - kis mutáció**
 - DNS-ben, bázispárban következik be a változás



Kromoszóma és genom mutáció

a kromoszómákon bekövetkező vagy a kromoszómák szerkezetbeli, számbeli változása

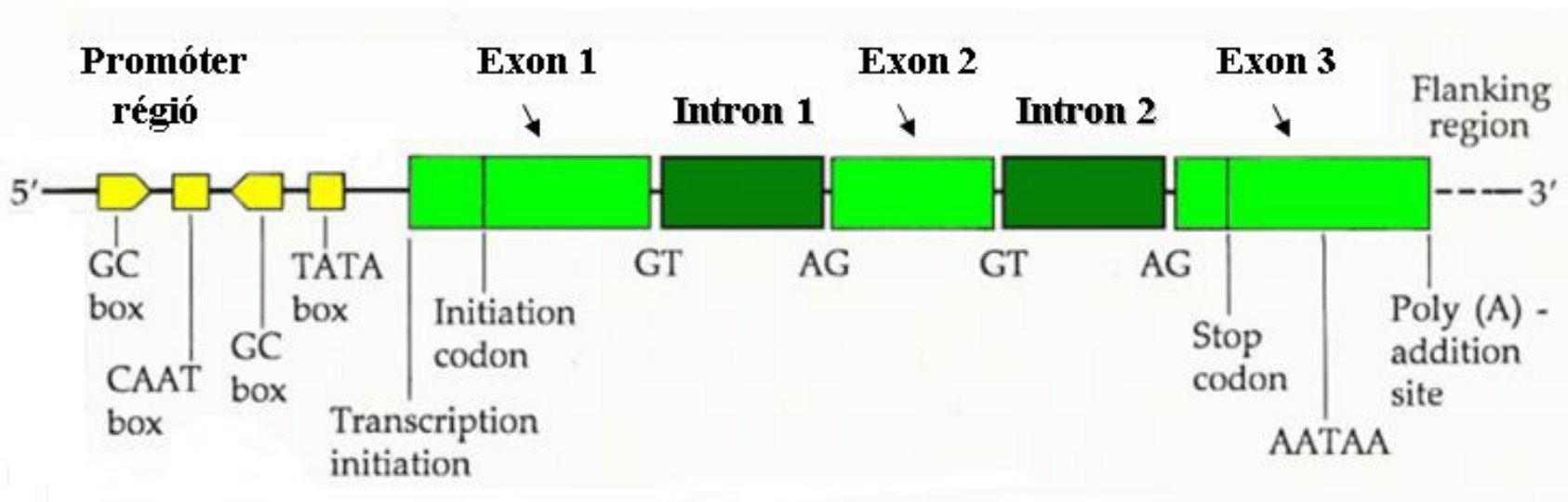
Típusai:

- Kromoszómatörések: kiesés (deléció), megfordulás (inverzió), régió megkettőződése (duplikáció); két nem homológ kromoszóma közötti részek áthelyeződése (transzlokáció);
- Kromoszómaszám változás: egy kromoszómával bekövetkező változás (aneuploidia), kromoszómaszerelvény-sokszorozódás (poliploidia)

Fehérjét kódoló gének szerkezete

- **kódoló szakasz = exon**
- * gének kb 4%-a
- * **a teljes genom ~1%-a**

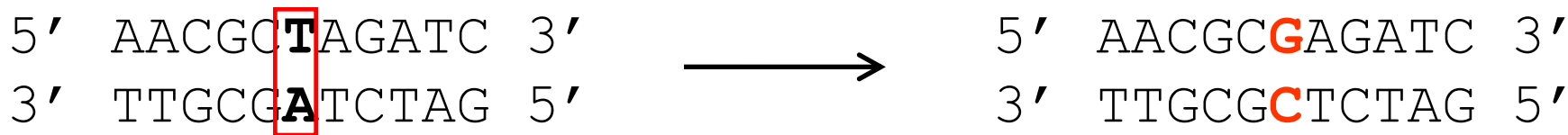
- nem kódoló szakasz = intron**
- * a gének kb 94%-a





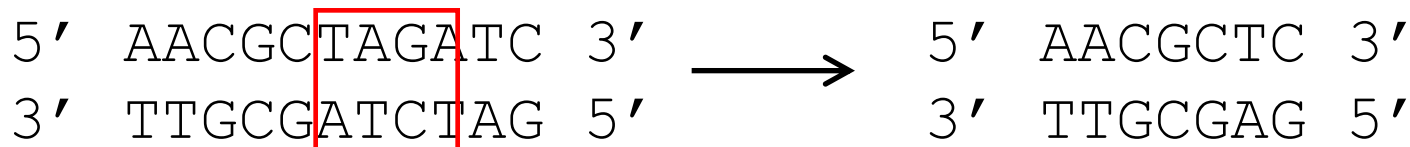
Pont mutáció (SNP)

- egy bázispár megváltozása

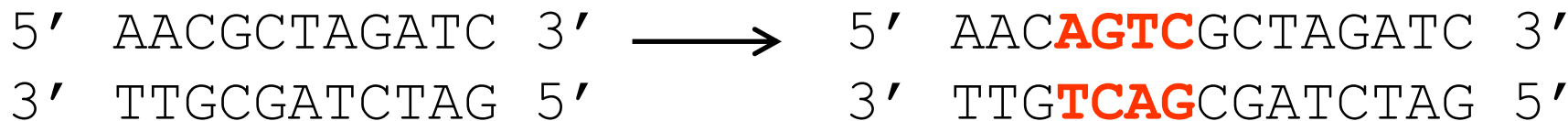


Pont mutáció (SNP)

- egy bázispár beékelődése vagy elvesztése



4 bázis pár elvesztése



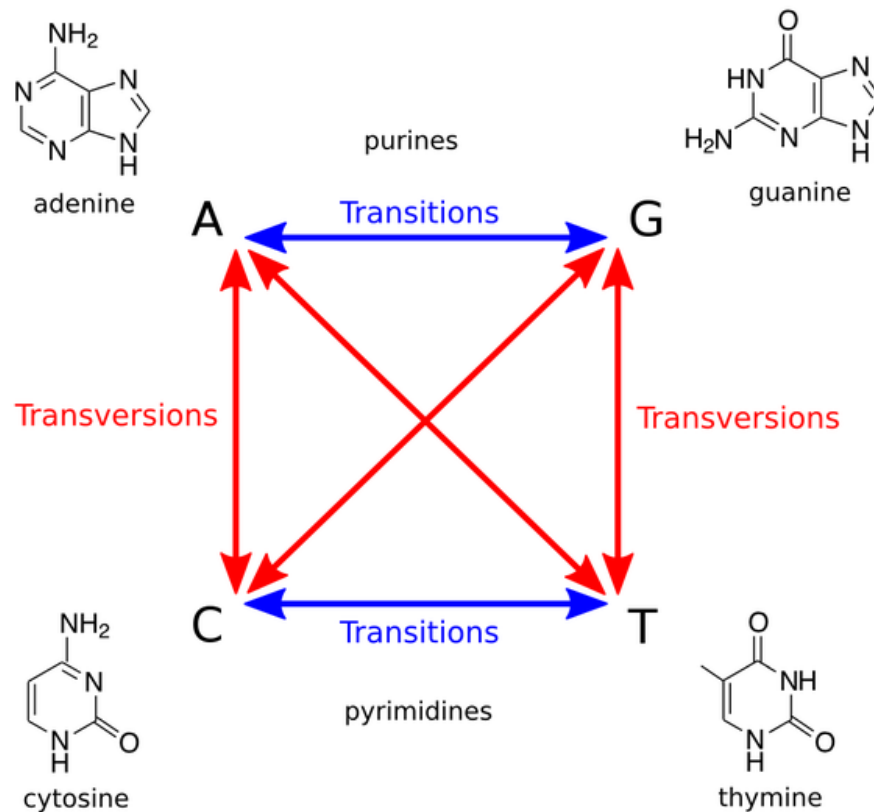
4 bázis pár beékelődése

Pont mutáció (SNP)

Tranzíció: purin csere purinra (A, G) vagy pirimidin csere pirimidinre (C, T)

Tranzverzión: pirimidin csere purinra vagy purin csere pirimidinre

Tranzíció a gyakoribb



<http://en.wikipedia.org/wiki/Transversion>



Mutációk hatása

- Intergénikus
- Intragénikus
 - Kódoló régió:

csendes mutáció: A triplet utolsó bázisa változik, de ugyanazt az aminosavat kódolja.

AUU (Ile)

AUC (Ile)

semleges mutáció: A kódolt aminosav hasonló jellegűre változik, de a fehérje szerkezete és funkciója nem biztos változik.

AAA (Lys bázikus)

AGA (Arg bázikus)

misszensz mutáció: Egy másik nem funkcióképes aminosav kódolódik.

GAG (Glu savas)

GTG (Val semleges)





nonszensz mutáció: STOP kód keletkezik.

TAC (Tyr)

TAG (Stop)

kereteltolódási mutáció: Egy vagy két bázis kiesése vagy hozzáadódása miatt elcsúszik a leolvasási keret.



- **Nem-kódoló régió (Intron)**

Nincs aminosav csere, ez is **csendes** mutáció

TABLE 16.1
Consequences of Point Mutations Within the Coding Sequence

Type of Change	Mutation in the DNA	Example
None	None	5'-A-T-G-A-C-C-G-A-C-C-C-G-A-A-A-G-G-G-A-C-C-3' * Met - Thr - Asp - Pro - Lys - Gly - Thr -
Silent	Base substitution	5'-A-T-G-A-C-C-G-A-C-C-C-C-A-A-A-G-G-G-A-C-C-3' * Met - Thr - Asp - Pro - Lys - Gly - Thr -
Missense	Base substitution	5'-A-T-G-C-C-C-G-A-C-C-C-G-A-A-A-G-G-G-A-C-C-3' * Met - Pro - Asp - Pro - Lys - Gly - Thr -
Nonsense	Base substitution	5'-A-T-G-A-C-C-G-A-C-C-C-G-T-A-A-G-G-G-A-C-C-3' * Met - Thr - Asp - Pro - STOP!
Frameshift	Addition/deletion	5'-A-T-G-A-C-C-G-A-C-G-C-C-G-A-A-A-G-G-G-A-C-C-3' * Met - Thr - Asp - Ala - Glu - Arg - Asp -

*DNA sequence in the coding strand. Note that this sequence is the same as the mRNA sequence except that the RNA contains uracil (U) instead of thymine (T).

Athar



Promoter régiót érintő mutációk

Génexpresszióban következnek be változások

A közeli rokon fajok közti különbségek döntő részét ezek okozhatják (csimpánz-ember)

Up promoter mutációk konszenzusokban az eredeti promoter erősségét növelik

Transzkripció mértékét növeli

Down promoter mutációk konszenzusokban az eredeti promoter erősségét csökkentik

Transzkripció mértékét csökkenti



TABLE 16.2**Possible Consequences of Gene Mutations Outside of the Coding Sequence**

Sequence	Effect of Mutation
Promoter	May increase or decrease the rate of transcription
Response element/operator site	May disrupt the ability of the gene to be properly regulated
5'-UTR/3'-UTR	May alter the ability of mRNA to be translated; may alter mRNA stability
Splice recognition sequence	May alter the ability of pre-mRNA to be properly spliced

Athar

Mutációs ráta

A mutációk bekövetkezésének esélyét mutatja.

Mutációs ráta: Egy generáció alatt a génállományban vagy egy génben megfigyelhető mutációk gyakorisága.

Általában kicsi, valószínűsége:
 10^{-9} /nukleotid/DNS másolás

RNS vírusoknál nagyobb:
 10^{-4} /nukleotid/DNS másolás

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
 vonatkozású egyetemi együttműködés,
 DE-SZTE-EKF-NYME

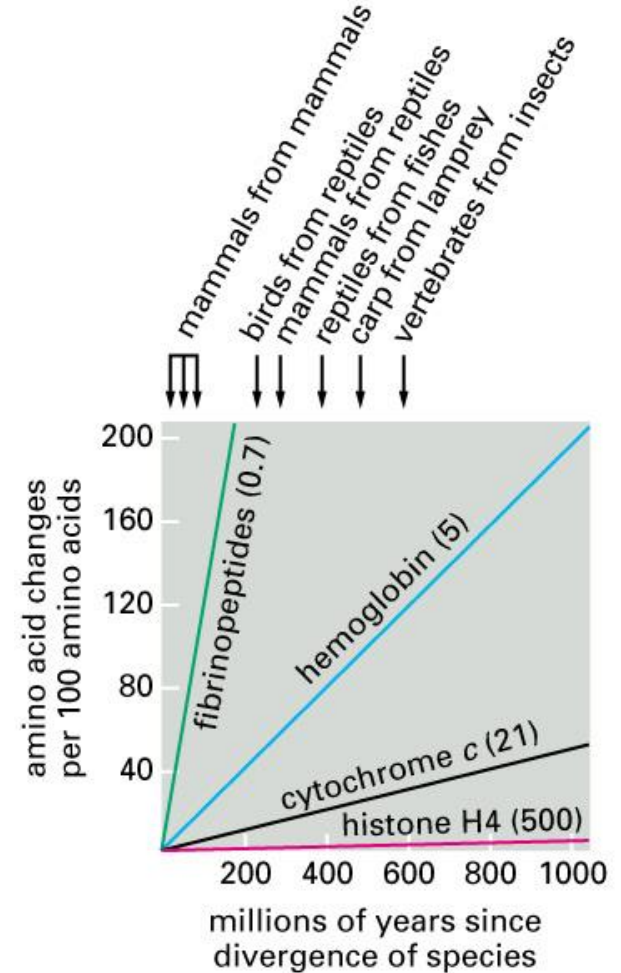


Figure 5-1. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Mutációk kialakulása

Spontán



http://magyarasztal.blog.hu/2009/03/22/marhat_de_milyet_is

Indukált



<http://zoldvalasz.hu/node/110>

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Spontán mutáció

A biológiai / kémiai folyamatokban következik be változás, de pontos kiváltó okát nem ismerjük

PI. Replikáció

Gyakran nem állapítható meg, hogy a mutációt belső vagy külső tényező hozta létre. Ilyenkor általában spontán mutációnak tekintjük.



Spontán mutáció

A mutációk valóban spontán jelennek meg alkalmanként vagy a környezeti hatások változására?

- **Jean Baptiste Lamarck**
 - A tulajdonságok aszerint öröklődik, hogy szüksége van-e rájuk
- **Charles Darwin**
 - A genetikai különbségek a véletlen műve



Indukált mutáció

A mutációt külső tényező okozza (mutagén)

Kémiai: akridinfestékek, nitrogénmustárok, pörkanyagok

Fizikai: elektromágneses sugárzások: röntgen, UV
részecskesugárzások



TABLE 16.4
Causes of Mutations

Common Causes of Mutations	Description
<i>Spontaneous</i>	
Aberrant recombination	Abnormal crossing over may cause deletions, duplications, translocations, and inversions (see chapter 8).
Aberrant segregation	Abnormal chromosomal segregation may cause aneuploidy or polyploidy (see chapter 8).
Errors in DNA replication	A mistake by DNA polymerase may cause a point mutation (see chapter 11).
Toxic metabolic products	The products of normal metabolic processes may be chemically reactive agents that can alter the structure of DNA.
Transposable elements	Transposable elements can insert themselves into the sequence of a gene (see chapter 17).
Depurination	On rare occasions, the linkage between purines (i.e., adenine and guanine) and deoxyribose can spontaneously break. If not repaired, it can lead to mutation.
Deamination	Cytosine and 5-methyl cytosine can spontaneously deaminate to create uracil or thymine.
Tautomeric shifts	Spontaneous changes in base structure can cause mutations if they occur immediately prior to DNA replication.
<i>Induced</i>	
Chemical agents	Chemical substances may cause changes in the structure of DNA.
Physical agents	Physical phenomena such as UV light and X rays damage the DNA.

Athar

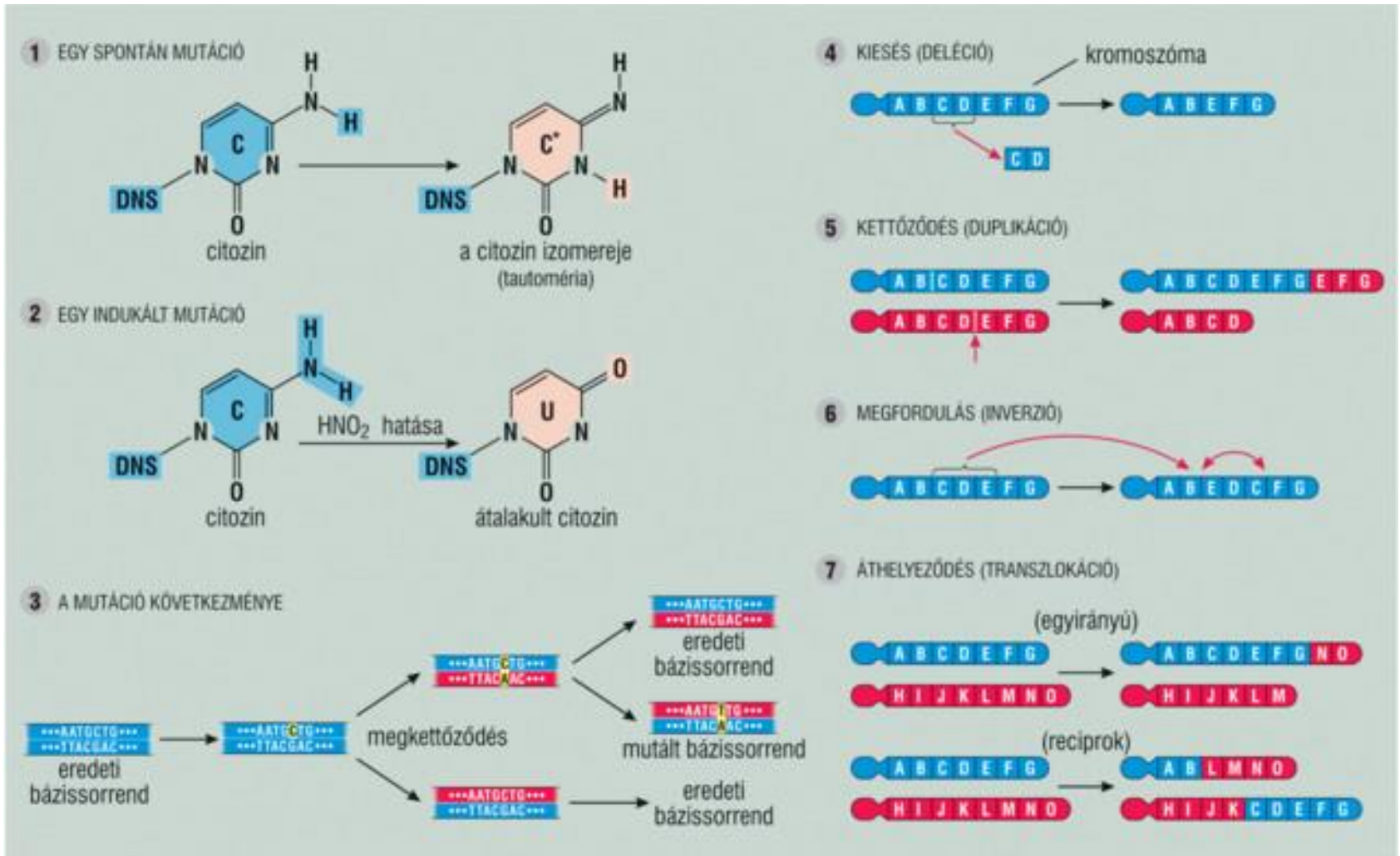
TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638




A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.




http://www.mozaweb.hu/Lecke-Biologia-Biologia_11-A_mutaciok_tpusai_es_kovetkezmenyei-102520



Mutációk megjelenése

Ivarsejtek  Ivarsejtek mutációja

- Gaméta sejtek (petesejt és spermium)

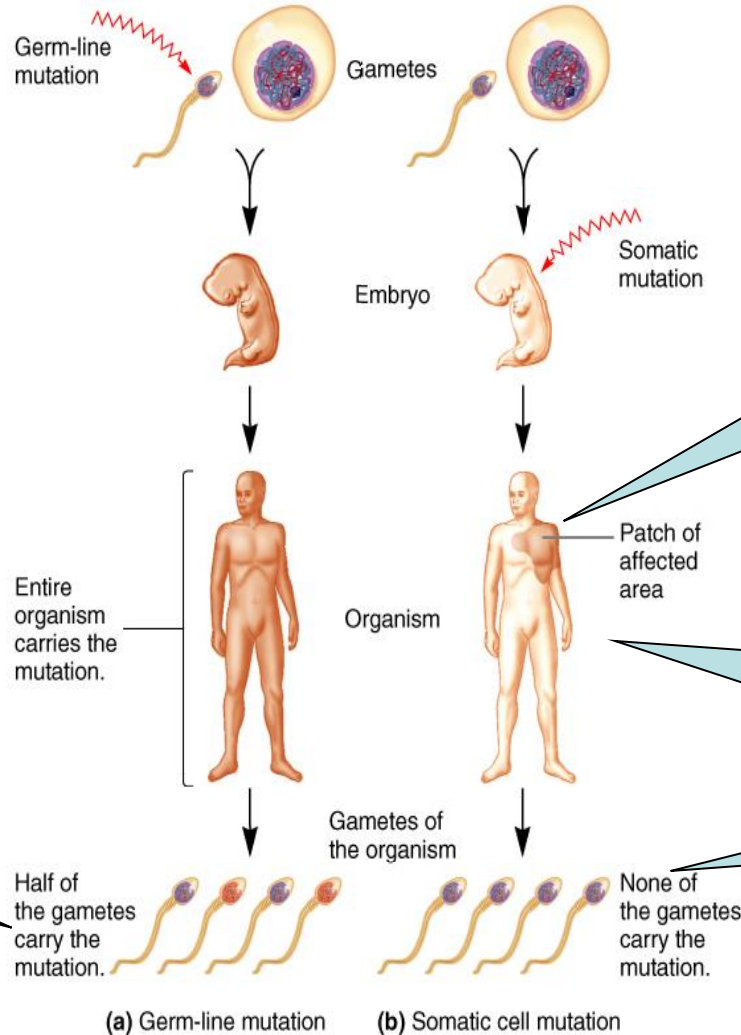
Testi sejtek  Testi sejtek mutációja

- Az összes többi sejt



Ivarsejtek mutációja

Testi sejtek mutációja



A terület mértéke a mutáció bekövetkezése óta eltelt időtől függ

Mozaicizmus: egy többsejtű egyednek az a különleges állapota, amikor testének különböző sejtcsoportjai eltérő genotípusúak.

A mutáció nem öröklődik a következő generációra

A mutáció a következő generációra öröklődik





A mutáció mindig átadódik az utódsejtekre, de az utódokba (egyedekbe) csak az a mutáció öröklődik, amely az ivarsejteket (vagy az azokat képző sejteket) érinti.



Mutációk felhasználása

- Géntérképezés
- Termékeredet igazolás

- Szelekció

Marker assisted selection MAS = markerek segítségével végzett szelekció;

Gene assisted selection GAS= gének segítségével végzett szelekció



Témakörhöz kapcsolódó kérdések

Hogyan csoportosítja a mutációkat?

Az egyes csoportokba tartozó mutációkat jellemezze!

Milyen előnyei-hátrányai vannak a mutációknak?

Felhasznált és ajánlott irodalom

Fésüs L. - Komlósi I. - Varga L. - Zsolnai A.: Molekuláris genetikai módszerek alkalmazása az állattenyésztésben. Agroinform Kiadó. Budapest. 2000.

Komlósi I.- Veress L.: Általános állattenyésztés.

Heszky L. - Fésüs L. - Hornok L. (2005): Mezőgazdasági Biotechnológia. Agroinform Kiadó. Budapest





DEBRECENI EGYETEM



A genom

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Az előadás vázlatja

Alapfogalmak, ismétlés

Genom

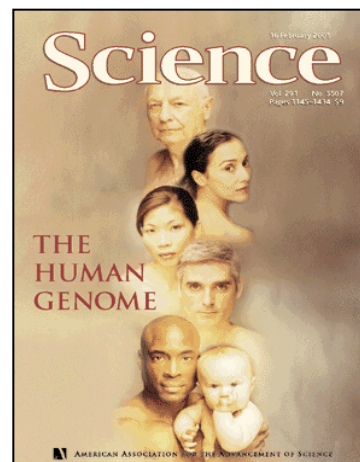
Humán genom szerkezeti felépítése

Genom projektek

Gének



Genotípus



Fenotípus

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Central dogma

DNS

RNS

fehérje



transzkripció

transzláció



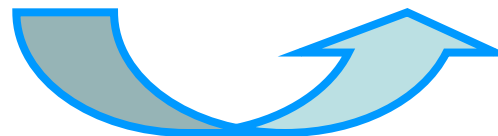


Central dogma

DNS

RNS

fehérje



transzkripció

transzláció

Vizsgáló tudományág

Genomika

Transzkriptomika

Proteomika





Genomika: A genomszekvencia meghatározása, összerakása, annotálása és elemzése.

Transzkriptomika: A szervezetben termelődő RNS-ek (elsősorban a hírvivő RNS) kísérleti módszerekkel történő meghatározása és bioinformatikai elemzése.

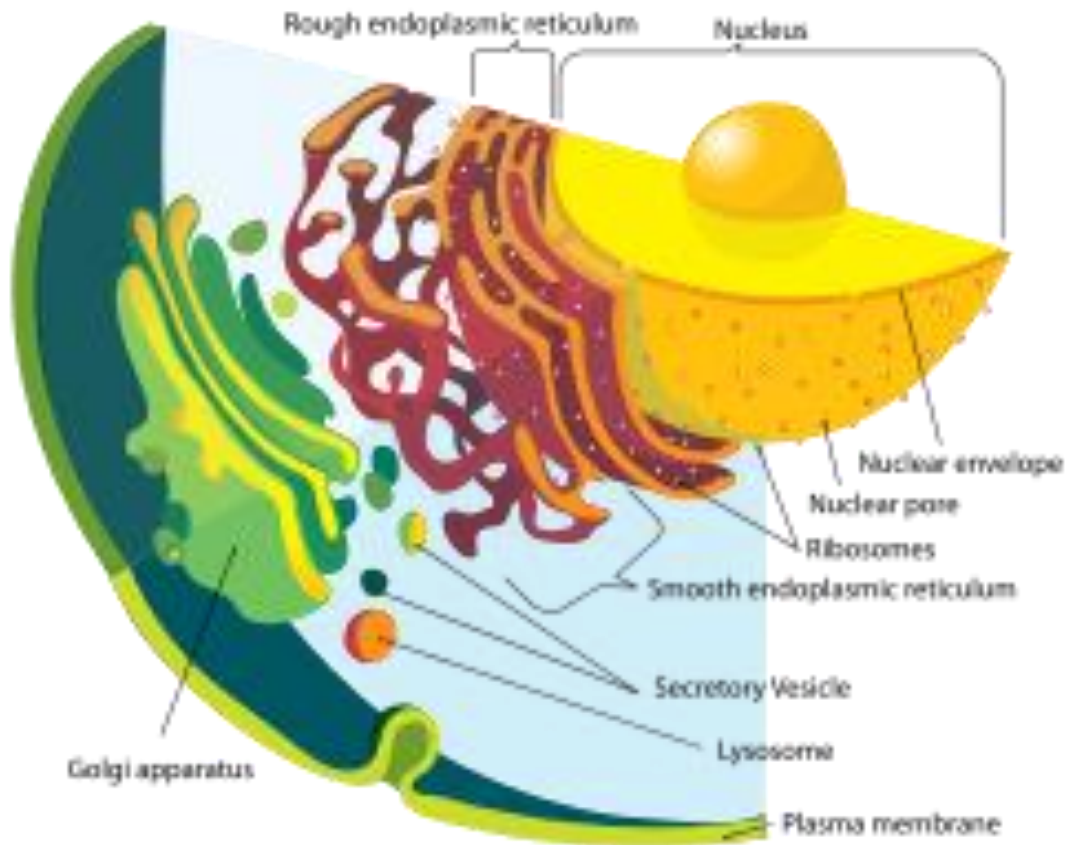
Proteomika: A szervezetben termelődő fehérjetermékek meghatározása és bioinformatikai elemzése.



Genom

A genom egy élőlényben található genetikai információ összessége, tehát a szervezetben található DNS-ben (vagy az RNS vírusoknál RNS-ben) tárolt örökölhető információ (szekvenciasorrend).

A genom részei



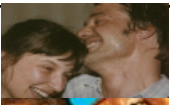







<http://hu.wikipedia.org/wiki/Eukari%C3%B3t%C3%A1k>

Sejtszervecskék: (1)magvacska v. nukleólusz; (2) sejtmag; (3)riboszóma; (4)vezikula; (5) durva felszínű endoplazmatikua reitkulum (ER); (6)Golgi készülék; (7)sejtváz;; (8) sima felszínű ER; (9) mitokondriumok; (10)sejtnedvüreg (vakuólum); (11) citoplazma; (12)liposzóma; (13)centriólumok

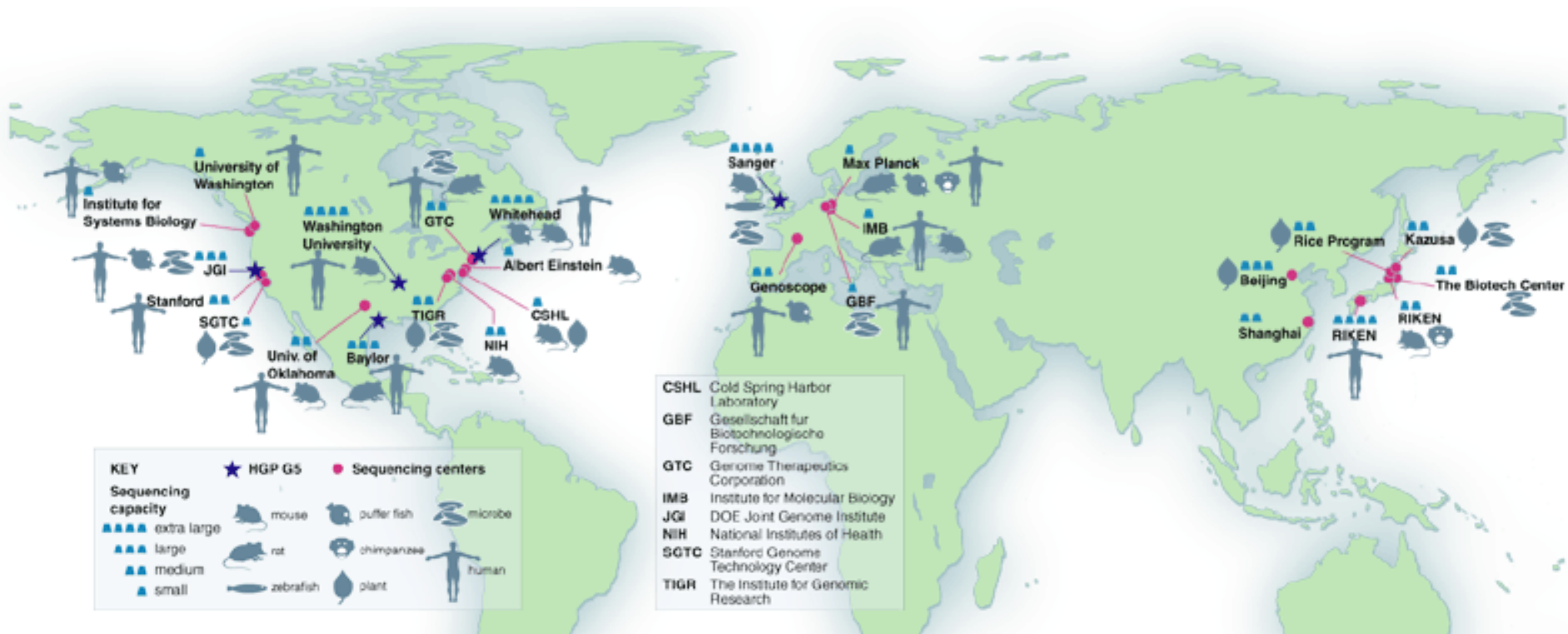
TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

A genom mérete

szervezet		Kromoszómaszám	Genom mérete (milló bp)
Ember (Homo sapiens)		46 (23 pár)	3 400
Sertés (Sus scrofa)		38 (19 pár)	3 100
Szarvasmarha (Bos taurus)		60 (30 pár)	3 650
Tyúk (Gallus gallus)		78 (39 pár)	1 200
Ló (Equus caballus)		64 (32 pár)	3 310
Juh (Ovis aries)		54 (27 pár)	3 250
Béka (Bufo bufo)		26 (13 pár)	6 900
Amőba (Amoeba dubia)		-	670 000

Fő genom kutatási centrumok a világon



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
 vonatkozású egyetemi együttműködés,
 DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
 06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



A humán genom kutatáshoz vezető út

- 1953 DNS dupla hélix szerkezet (Watson és Crick)
- 1972 Rekombináns DNS (Berg, *et al.*)
- 1977 DNS szekvenálás (Maxam és Gilbert, és Sanger)
- 1980 Fizikai térképek készítése RFLP-vel (Bostein, Davis, White)
- 1985 PCR (Mullis)
- 1986 Automata DNS szekvenálók megjelenése (Hood és Smith)
- 1987 YACs (Burke, Olson, and Carle)
Fluorescent chain-terminating dideoxynucleotides (DuPont)
DNS szekvenálók kereskedelmi forgalomban (Applied Biosystems)
- 1991 Expressed Sequence Tag-expresszált szekvencia szakasz (EST, Venter *et al.*)
- 1992 Bakteriális mesterséges kromoszóma (BACs, Shizuya *et al.*)
- 1997 Kapilláris szekvenáló berendezések (Molecular Dynamics)
- 2000 Új generációs szekvenáló berendezések



A bioinformatika fejlődése

- 1970 globális alignment (Needleman és Wunsch)
- 1981 helyi alignment (Smith and Waterman)
- 1990 BLAST (Altschul et. al.)

- 1994 Hidden Markov Model (HMM, Krogh et. al.)
 - Fehérje domén
 - Gén szerkezet

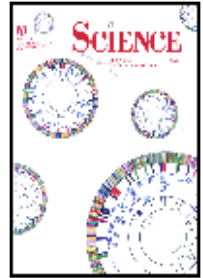
- 1995 Phred/phrap (Phil Green és Brent Ewing)
 - Phred: assign confidence score to sequenced nucleotide
 - Phrap: assemble szekvenciák



Mérföldkövek a genomkutatásban

1995 The *Haemophilus influenzae* genome (1.8 Mb); Science 269, 496-512.

Az első szabadon élő szervezet (egy baktérium) teljes genomja



1996 The *Saccharomyces cerevisiae* genome (12.1 Mb); Science 274, 546-67.

Az első teljes eukarióta genom (élesztő)



1998 The *Caenorhabditis elegans* genome (97 Mb); Science 282, 2012-18.

Az első többsejtű szervezet teljes genomja

Mérföldkövek a genomkutatásban

2000: *D. melanogaster* genom (180Mb); Science 287, 2185-2195.

Első szekvencia publikálása teljes genomra irányuló szekvenálással



2001 A humán genom (első „durva” szekvencia) (3Gb)
Nature 409, 860-921; Science 291, 1304-51.
~ 94%-a teljes genomnak



2003 A teljes humán genom

- két ember közötti átlagos eltérés 1 ezrelék
- ember/csimpánz 1,5%
- ember/egér 10%



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638

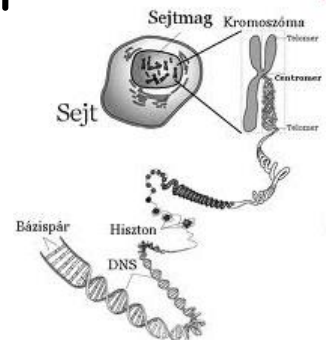


A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

Mérföldkövek a genomkutatásban

A teljesen megismert genomok száma napról napra nő!

- Vírus: virális genom (~1377); viroid (~36)
- Sejtszervecskék: mitochondrium (~600); kloroplaszt (~40)
- Mikróbák: archae-ák (~20); baktérium (~700)



<http://hu.wikipedia.org/wiki/G%C3%A9n>

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Mérföldkövek a genomkutatásban

Eukarióták:

- Gombák
 - *Saccharomyces cerevisiae*; *Schizosaccharomyces pombe*
- Többsejtű állatok
 - *Homo sapiens*; *Pan troglodytes*; *Mus musculus*; *Rattus norvegicus*; *Gallus gallus*; *Drosophila melanogaster*;
 - *Anopheles gambiae*; *Caenorhabditis elegans*; *Fugu rubripes*; *Danio rerio*
- Növények
 - *Arabidopsis thaliana*; *Oryza sativa*; *Avena sativa*; *Glycine max*; *Hordeum vulgare*; *Lycopersicon esculentum*; *Triticum aestivum*; *Zea mays*

Mérföldkövek a genomkutatásban

Tyúk - 2004

első feltérképezett madár

2003. márciusban indult a kutatás -

Ázsiában őshonos bankivaktyúk (*Gallus gallus*)

Nemzetközi konzorcium: 50 millió \$

A genom ismeretének fontossága:

- Termelési tulajdonságokat befolyásoló gének azonosítása
- Embriológiai kutatások „eszköze” a tojás
- Evolúciós kutatások



Photo by Bill Payne, Michigan State, Lansing

A genom mérete az emberi genom 1/3-a, de a gének száma megközelítően azonos



DEBRECENI EGYETEM



Mérföldkövek a genomkutatásban

Szarvasmarha - 2004

2003 decemberben kezdték, hereford tehén -
Dominette

Nemzetközi konzorcium (7 tag), 60 millió \$
További fajták bevonása: holstein, angus, jersey,
limousin,
norvég vörös, brahman



Fotó: Michael MacNeil, USDA

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Mérföldkövek a genomkutatásban

Juh -

Nemzetközi konzorcium (45 tag), 45 millió \$

Több mint 450 mikroszatellit ismert

Vizsgálják a gyapjú tulajdonságokat, karkassz összetételt, parazitákkal szembeni rezisztenciát, növekedési tulajdonságokat, egygénés defetusokat



Fotó: Gerald és Buff Corsi, California Academy of Sciences



Mérföldkövek a genomkutatásban

Sertés -

Nemzetközi konzorcium (40 tag), 60 millió \$

Több mint 650 gén és 1500 marker ismert (>90%-a a genomnak ismert)

Emberi összetett tulajdonságok vizsgálatánál fontos szerepe van (elhízás, szív és érrendszeri betegségek)

Evolúciós szempontból: főemlősök és rágcsálók között



Fotó: Agricultural Research Service, USDA





Egyéb genomprojektek

Egér (*Mus musculus*) 2002

Kutya (*Canis lupus familiaris*) 2003

Poodle és Boxer

Csimpánz (*Pan troglodytes*) 2004

A csimpánz a legközelebbi rokon faj az emberhez. 98%-ban megegyezik a genom, de a maradék 2% magyarázatot adhat arra hogy miért nem betegszik meg a csimpánz AIDS-ben vagy kap Alzheimer kórt.

Patkány (*Rattus norvegicus*) 2004



A további genomkutatások céljai I. AMIT MÉG NEM TUDUNK...

- Gének száma, pontos helyük, funkciójuk
- Génszabályozás
- Kromoszóma struktúra és szerveződés
- Nem-kódoló DNS szakaszok, elhelyezkedésük, információ tartalmuk, szerepük
- Génexpresszió szabályozás, fehérjeszintézis és poszttranszlációs események
- Vélt és kísérletileg bizonyított génfunkciók összevetése
- Evolúciós konzerváció különböző organizmusok között

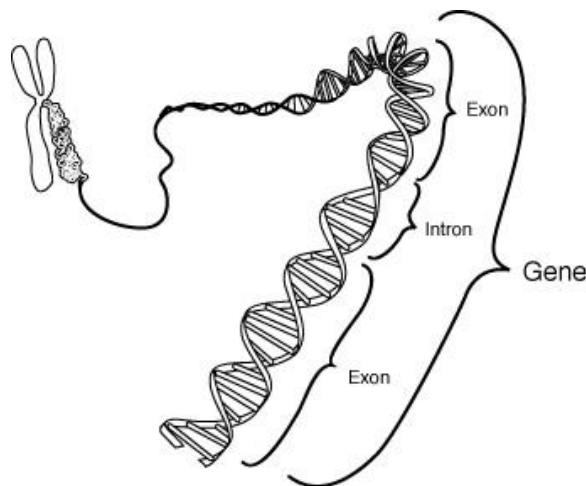
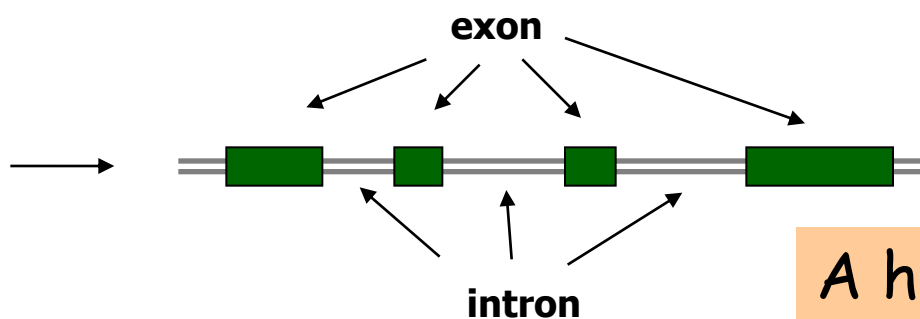


A további genomkutatások céljai II. AMIT MÉG NEM TUDUNK...

- Fehérje konzerváció (szerkezet és funkció)
- Proteom vizsgálat (teljes fehérje tartalom és funkció)
- SNP azonosítások
- Betegségekre való fogékonyság előrejelzése génszekvenciákra alapulva
- Többgénes betegségek genetikai háttere
- Komplex rendszerbiológia vizsgálata

ÉS MÉG SOK MÁS

Fehérjét kódoló gének szerkezeti felépítése



A humán genom:

~25% gének

~75% gének közötti régiók

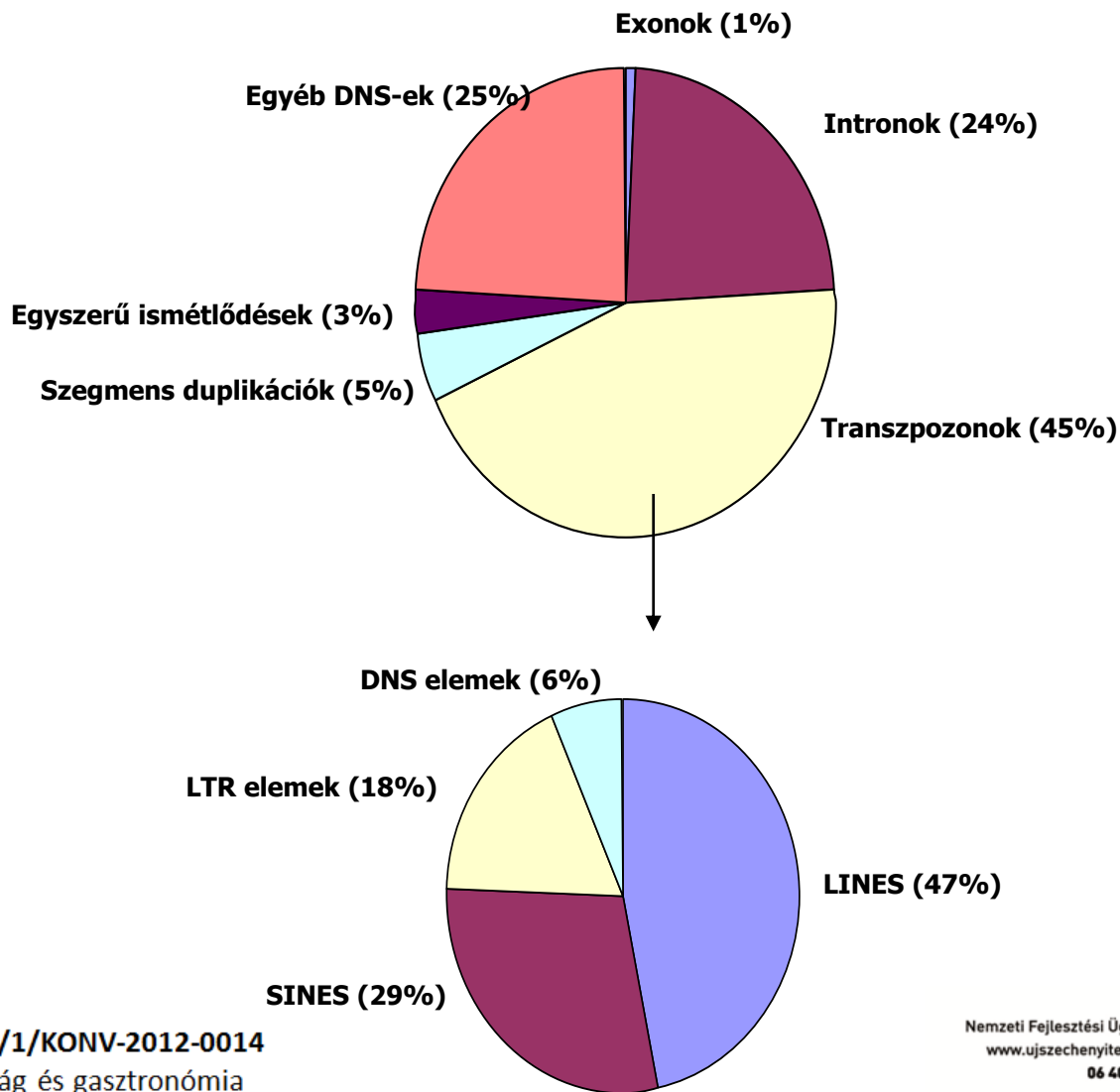
~4% exonok

~96% intronok

Gének közötti régiók

- 1. Transzpozonok (ugráló gének) – helyüket változtató gének, génszakaszok**
 - Hosszú közbeiktatott szakaszok (LINES)
 - Rövid közbeiktatott szakaszok (SINES)
 - Retrovirus-szerű (LTR) elemek
 - DNS elemek
- 2. Szegmens duplikációk – közel azonos szekvenciájú DNS elemek**
 - Intrakromoszómális
 - Interkromoszómális
- 3. Egyszerű szekvencia ismétlődések (SSRs)**
 - Mikroszatellitek: rövid ismétlődések (n=1-13 nt)
 - Miniszatellitek: hosszabb ismétlődések (n=14-500 nt)
- 4. Egyéb DNS-k**

Gének közötti régiók



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME



Egyszerű szekvencia ismétlődések

Mikroszatellit: $n=1-13$ bázis

Miniszatellit: $n=14-500$ bázis

Ismétlődő bázisok	SSR- k száma/Mb
AC	27.7
AT	19.4
AG	8.2
GC	0.1
AAT	4.1
AAC	2.6
AGG	1.5
AAG	1.4
ATG	0.7
CGG	0.6
ACC	0.4
AGC	0.3
ACT	0.2
ACG	0.0

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME



Egyszerű szekvencia ismétlődések

Miniszatellitek (VNTRs = változó számú tandem ismétlődés)

Ismétlődő bázisok száma: $5 <$ – A. J. Jeffreys fedezte fel 1985-ben

Mikroszatellitek (STRs = rövid tandem ismétlődések)

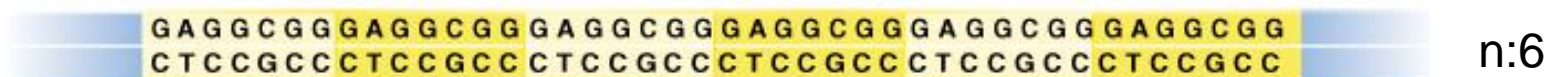
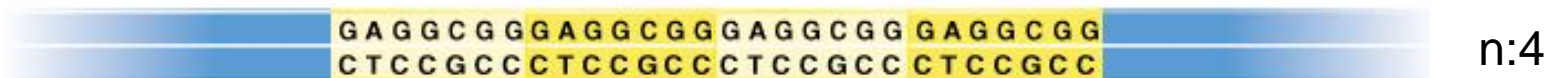
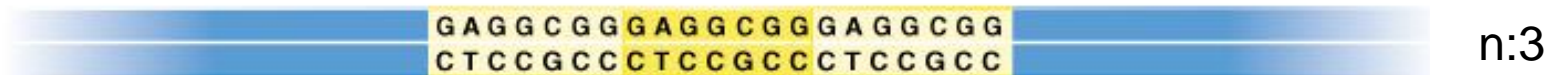
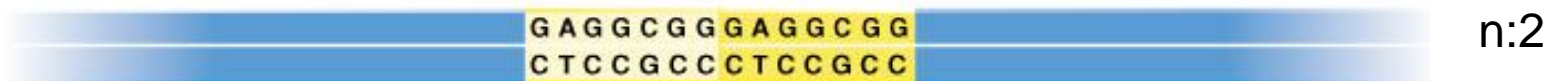
Ismétlődő bázisok száma 2-6

5' -**TAATAATAATAATAA**-3'
3' -**ATTATTATTATTATT**-5'



Egyszerű szekvencia ismétlődések

Ismétlődések száma





Mikroszatellitek jellemzői

1. Polimorf, nagyfokú heterozigotitással rendelkeznek
1. Egy lokusz - könnyen használható
1. Általánosan és bárhol előfordul a genomban (szemben a miniszatellitokkal, melyek a kromoszómák végein találhatóak)
4. Mendeli szegregáció szabályait követik
5. Ugyanaz a marker különböző állatfajokban is előfordulhat (az egyik állatfajban elért eredmények másik faj kutatásánál felhasználhatók)
6. Semleges - nem kódoló DNS, gyakran funkciója sem ismert (de valószínű szabályozó szekvenciákhoz kapcsolódik)



Témakörhöz kapcsolódó kérdések

Mi a genom?

Milyen genomprojekteket ismer?

Milyen egy fehérjét kódoló gén szerkezeti felépítése?

Mit tud a gének közötti régiókról?

Felhasznált és ajánlott irodalom

Fésüs L. - Komlósi I. - Varga L. - Zsolnai A.: Molekuláris genetikai módszerek alkalmazása az állattenyésztésben. Agroinform Kiadó. Budapest. 2000.

Komlósi I.- Veress L.: Általános állattenyésztés.

Heszky L. - Fésüs L. - Hornok L. (2005): Mezőgazdasági Biotechnológia. Agroinform Kiadó. Budapest



DEBRECENI EGYETEM



Biotechnika - biotechnológia

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Az előadás vázlata

Mi a biotechnika és biotechnológia fogalma

Milyen biotechnikai és biotechnológiai eljárások vannak

Biotechnológia fejlődésének története



Biotechnika: „genetikai ellenőrzés alatt álló biológiai folyamatok specifikus fizikai és kémiai tényezőkkel való **befolyásolása**”

„Technikai eszközök orvosi-gyógyászati alkalmazása”

Biotechnológia: „...olyan folyamat amelyet olyan sejtek, vagy azok sejtneél is kisebb elemei hajtanak végre, amelyek valamilyen öröklődő tulajdonságait a hasznosíthatóság érdekében **módosítják**, melynek természetes öröklésmenetét megváltoztatják”

„Technikai műveletek és ipari termelés keretében alkalmazott biológiai eljárások”



DEBRECENI EGYETEM



Biotechnika

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

1. Mesterséges termékenyítés (Artificial insemination; AI)

1788. Spallanzani

1914. Amentea alapján műhüvely

1928. Ivanov 600 állomáson 62 ezer kanca termékenyítés

1949. Hazai mesterséges termékenyítő hálózat kiépítése

3 eljárás (ondó hígítást, hűtést illetően)

1. Levett ondó helyszínen való felhasználása; nincs hígítás/tartás.
2. Laborban minősített ondót hígítják/hűtik és 0°C fokon szállítható; 1-2 napig végezhető vele inszeminálás
3. Ondó minősítés, hígítás, majd 196 °C fokon hűtik N-ben, műszalmában adagolva, vagy szemcsésen fagyaszttva tárolják

2. Ivarzás szinkronizálás

Természetes és mesterséges hormonszintetizálókkal (gesztagénekkel) gátolják az ivarzást, peteleválást



Hatás megszűnik és egyszerre, **szinkronizáltan** jelentkeznek az ivarzás, peteleválás



Együtt ellenek, ivadékok egyszerre értékesíthetők

Ha szezonon kívül akarnak elletni (pl. juh) a gátlás elmúlásával ivarzást serkentő hormonszintetizáló fülös adagban - egyidejűleg több pete leválása **SZUPEROVULÁCIÓ**



4. Embrió darabolás

- A megtermékenyült petesejt 2-64 sejtes állapotában, mikor a teljes öröklési anyag birtokában nem barázdálódik (totipotens)
- Két , vagy több teljes értékű, életképes ivadék nyerhető (egypetés ikrek)

5. Indukált ikerelés

- Ikek mesterséges előállítása unipara fajokban,
- a recipiens üsző két méhszarvába tesznek 1-1 zigótát
- Ikerborjak elhullása nagyobb, tehenek később ivarzanak újból



6. In Vitro Fertilizáció

- Laboratóriumi úton végzik, mikor mindkét szülő ivarsejtjei termékenyítésre/termékenyülésre alkalmasak

7. Ivarspecifikus, vagy ivarra orientált sperma

Kizárólag hím, vagy nőivarú utódot hoz létre; ivararány eltolása a cél
PI

tej- Nagyarányú nőivarú egyed születése szükséges

hús- Nagyobb arányú hímivarú egyed születése szükséges





DEBRECENI EGYETEM



Biotechnológia

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszecenytterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



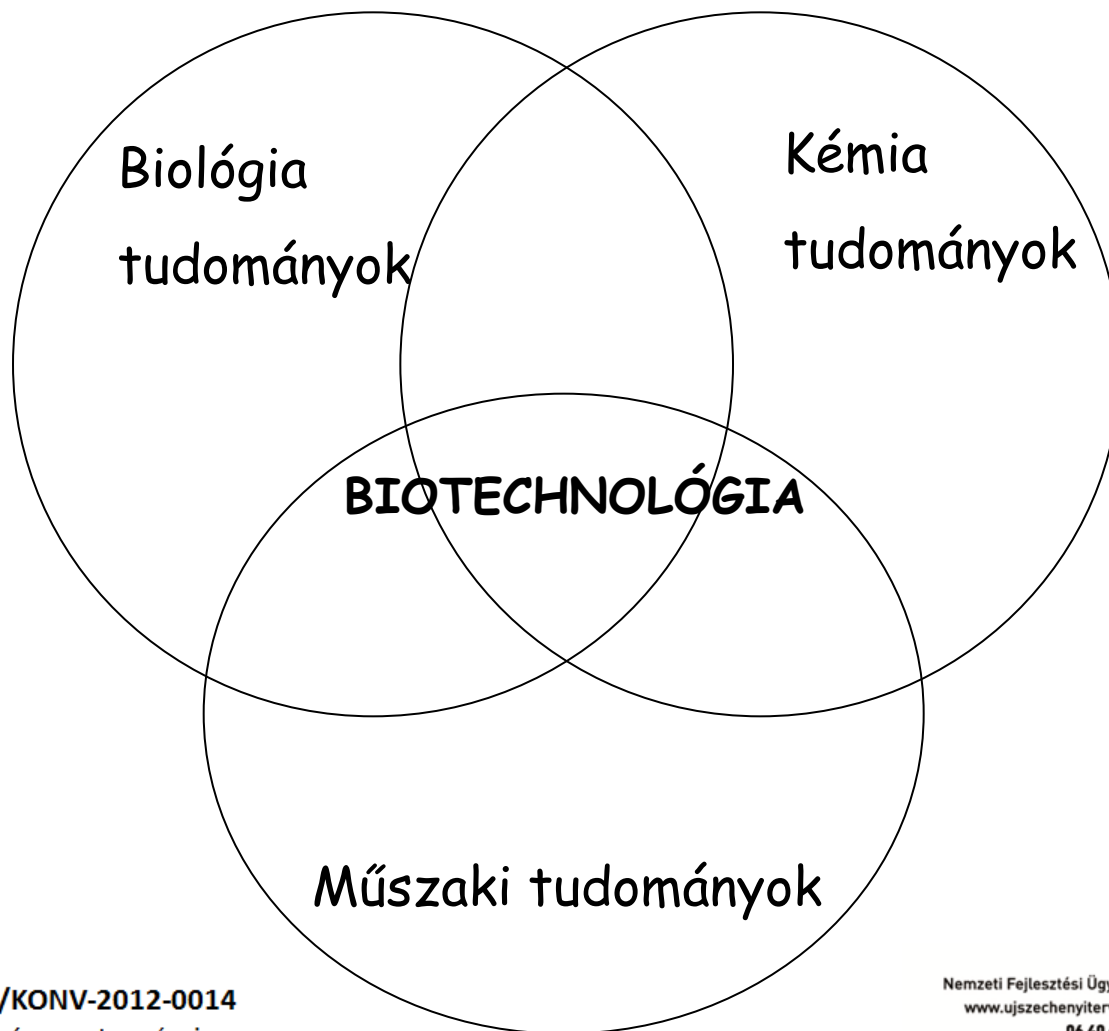
Mi a biotechnológia?

„...olyan folyamat amelyet olyan sejtek, vagy azok sejtjénél is kisebb elemei hajtanak végre, amelynek valamilyen öröklődő tulajdonságait a hasznosíthatóság érdekében **módosít**ják, melynek természetes öröklésmenetét megváltoztatják”

„Technikai műveletek és ipari termelés keretében alkalmazott biológiai eljárások”



Biotechnológia kapcsolódási területei



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



A biotechnológia fejlődésének áttekintése

Időszámításunk előtt

sörgyártás, borkészítés (sumér, Babilon, Egyiptom)

kenyér kovászolás (Egyiptom)

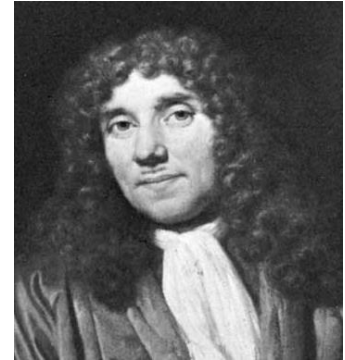
joghurt készítés (enzimek)

ecetgyártás, alkoholos erjesztés

A biotechnológia fejlődésének legfőbb állomásai

1675 - Antony van Leeuwenhoek

- Mikrobiológia megteremtője;
- első baktériumokat, mikroorganizmusokat fedezte fel



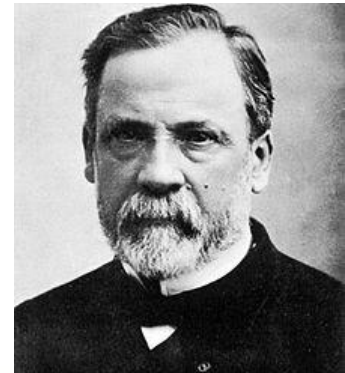
1863 - Gregor Mendel

- Öröklés alaptörvényei



1870-es évek - Louis Pasteur

- Baktériumok kórokozó hatásának vizsgálata és védőoltási módszerek kidolgozása



A biotechnológia fejlődésének legfőbb állomásai

1869 - Friedrich Miescher

- DNS izolálás halspermából



1919 - Ereky Károly

A biotechnológia kifejezés megteremtése

A biotechnológia „atyja”



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

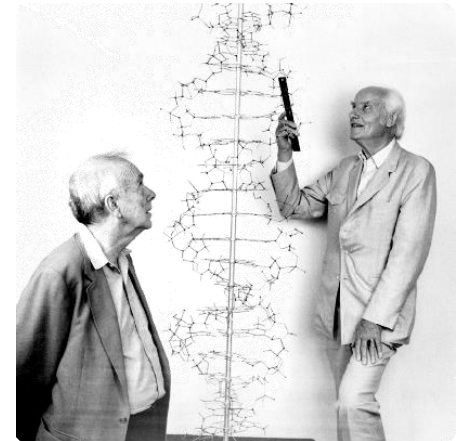
A biotechnológia fejlődésének legfőbb állomásai

1940-1950 -

Több kutatócsoport kezdte vizsgálni a DNS szerkezeti felépítését, funkcióját

1953 - James Watson és Francis Crick Nobel díj

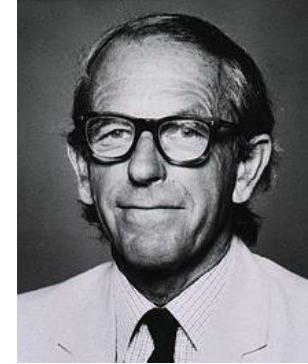
- DNS kettős hélix szerkezete





A biotechnológia fejlődésének legfőbb állomásai

1958 - Frederick Sanger - Nobel díj
Fehérjék, főleg az inzulin szerkezetének feltárása



1978 - Werner Arber és Hamilton Smith és Daniel Nathans -Nobel díj
Restriktív enzimek felfedezése

1980 Paul Berg és Walter Gilbert és Frederick Sanger- Nobel díj
• a nukleinsavakkal kapcsolatos alapvető kutatásaiért, különös tekintettel a rekombináns DNS-re; DNS szekvenálás



A biotechnológia fejlődésének legfőbb állomásai

1980-1990 évek

Transzgenikus organizmusok (GMO) megjelennek, majd széleskörben terjednek, elsősorban a növénytermesztésben (kukorica, szója)

1996 - Ian Wilmut

Dolly, a világ első klónozott emlőse



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



DEBRECENI EGYETEM



A biotechnológia fejlődésének legfőbb állomásai

Napjaink

Folyamatosan új tudományos eredmények születnek

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



1. Kimérák előállítása

-Különböző szülőktől nyert teljes, vagy félembriók összeolvadása

Fajkiméra (juh-kecske kiméra; M.óvár+Bécs)

Fajtakiméra (HF + MT kiméra)



Kistermelők
2008.február

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Biotechnológiai eljárások

2. Poliploidia (Sejtmag többszöröződés)

- Elektromos, vagy kémiai kezelés hatására a sejtmagban a kromoszóma állomány $2x$, vagy többszörösére gyarapodik – óriásnövények
- Növénynemesítésben jelentős



Biotechnológiai eljárások

3. Parthenogenezis (szűz nemzés)

Ivaros szaporodás nélkül az egyik szülő hoz világra ivadékot.

Ha nőivar = **gynogenezis**

hímivar=**androgenezis**

Méhекnél; herék haploidok, gynogenezisből



4. Sejtmagátültetés

Megtermékenyített (osztódni képes), vagy meg nem termékenyített, de osztódásra indukált petesejt magját eltávolítják és más petesejt, hímivarsejt vagy testi sejt magját helyezik át.

5. Génebesztet

Egy gént vagy DNS szekvenciákat egy másik állatba, állatfajba ültetnek át. (pl. 1982. patkány növekedési hormon gén, majd emberi n.h. gén átültetése az egér genomba - „óriásegér”).

Transzgénikus állatok;

Rezisztencia nemesítésben várnak eredményeket

Transzgénekkel a fajhatárok eltűnése

6. Klónozás

Állat testi sejtjéből, egy vele teljesen azonos másik - vagy több állat hozható létre.

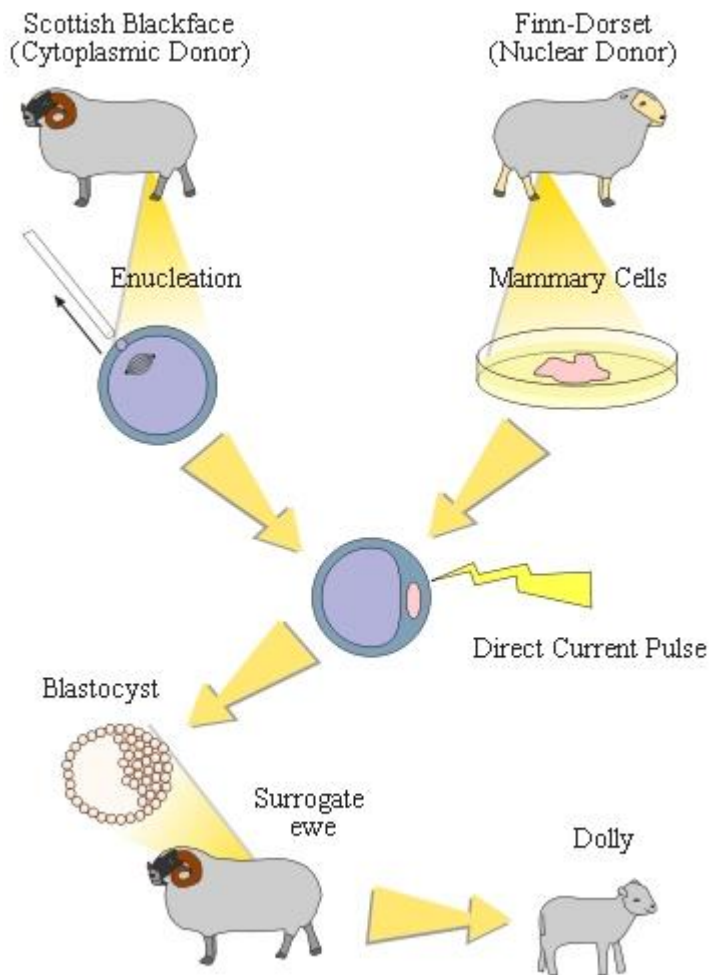
Növénytermesztés: vetőgumó, oltás;

Dolly: 1997. tőgysejtéből előállítottak 1. bárányt

Kivitelezés

1. Egypetés homozigóta ikrek előállítása többszöri embriódarabolással
2. Sejtmag átültetéssel. Donor állat diploid krom.-t tart. Sejtmagját egy sejtmagjától megfosztott petesejtbe ültetik, mely létrehozza az embriót és az eredetileg azonos állatot
3. Megtermékenyített ivarsejtéből az egyik pronukleusz eltávolítása, így csak az egyik szülő haploid garnitúráját teszik diploiddá (biostimulátorral)
4. Haploid kétsejtes embriókat egymással egyesítve diploidok hozhatók létre

Biotechnológiai eljárások



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

<http://molbiol.blog.hu/>

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

Biotechnológia alkalmazási lehetőségei



élelmiszeripar



növénytermesztés

állattenyésztés

vegyipar



gyógyszeripar



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



DEBRECENI EGYETEM



Biotechnológiai módszerek használatával felmerülő kérdések

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



1. A transzgenikus organizmusok hatása a természetes populációra?

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



2. *GMO* és a biotechnológiai eljárások váratlan hatásai más organizmusokra és a környezetre?

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



DEBRECENI EGYETEM



3. A transzgenikus állatok előállítása mennyire kifizetődő?

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



4. Élelmiszer biztonság, etikai kérdések?

Mennyire biztonságos emberi fogyasztásra a GMO-ból készülő termékek?

- Allergének?



5. Mind a fogyasztók mind a termelők hiányos tudás a biotechnológiai eljárásokról és termékekről.



Témakörhöz kapcsolódó kérdések

Mi a biotechnika és biotechnológia?

Milyen biotechnikai eljárásokat ismer, azokat jellemezze!

Milyen biotechnológiai eljárásokat ismer, azokat jellemezze!

Felhasznált és ajánlott irodalom

Fésüs L. - Komlósi I. - Varga L. - Zsolnai A.: Molekuláris genetikai módszerek alkalmazása az állattenyésztésben. Agroinform Kiadó. Budapest. 2000.

Komlósi I.- Veress L.: Általános állattenyésztés.

Heszky L. - Fésüs L. - Hornok L. (2005): Mezőgazdasági Biotechnológia. Agroinform Kiadó. Budapest



DEBRECENI EGYETEM



Állati eredetű termékek nyomkövetésének módszerei (faj-, fajtaazonosítás)

Eredetvizsgálat célja, jelentősége

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Az előadás vázlatja

Mi a hamisítás?

Milyen termékeredetvizsgálatok léteznek

DNS alapú vizsgálatok



DEBRECENI EGYETEM



A különböző állati eredetű termékek hamisítása tilos!

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Mi számít hamisításnak?

- Az olyan élelmiszer, amelyet a rá vonatkozó előírásokban vagy a gyártmánylapban meghatározott minőségi előírásoknak nem megfelelően állítottak elő, vagy olyan termék, amelyet az adott tevékenységre nem engedélyezett, illetve nem nyilvántartott módon állítottak elő, illetve hozták forgalomba, tiltott összetevőt tartalmaz.
- Betilthatnak egy terméket akkor is, ha az előállítása és forgalomba hozatala, átcímkézése vagy átcsomagolása jogsértő módon történt, vagy minőségmegőrzési, illetve fogyaszthatósági idejét jogellenesen meghosszabbították, illetve amelyet részben vagy egészben lejárt minőségmegőrzési, illetve fogyaszthatósági idejű anyagokból készítettek.



Az elmúlt évtizedekben számos élelmiszerbotrány volt a világban.

hormonok élelmiszerekben

dioxin botrány

folyamatos borhamisítások

mézhamisítás

lőhús a marhahúst tartalmazó termékekben stb.



Miért fontos, hogy ismerjük egy termék eredetét?

Adalékanyagok, vagy más fajták használatával
alacsonyabb minőségű termékek keletkeznek, viszont
magasabb áron árusítják fogyasztóvédelem

Vallási okok
Közegészségügy

Termékeredetvizsgálatok

Fizikai „módszerek”

- szín
- állag
- szag
- áru címke (összetevők)



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

Termékeredetvizsgálatok Anatómiai „módszerek”

- Fogazat
- Csigolyák száma
- Bordák száma





Termékeredetvizsgálatok Hisztológiai „módszerek”

- Izom rostok hossza
- Izom rostok átmérője
- Izom rostok sűrűsége
- Izom rostok mintázata



Termékeredetvizsgálatok

Kémiai és biológiai „módszerek”

Kémiai módszerek:

- Hús zsírtartalma
- Hamu tartalom a húslisztben

Biológiai módszerek (szerológiai vagy immunológiai):

- Precipitációs teszt
- Komplement fixációs teszt (CFT)
- Enzimhez kapcsolt immunoszorbens teszt (ELISA)
- Radioimmuno vizsgálat (RIA)

Termékeredetvizsgálatok Molekuláris „módszerek”

- DNS alapú módszerek
- PCR
nem PCR alapú



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



PCR alapú technikák

- Mindenféle termék vizsgálható
- Friss és feldolgozott termék is vizsgálható
- Megbízható
- Kis mennyiségű termék is használható (<1%)

Nem PCR alapú technikák

- Fajok azonosítása hibridizációval



- Immunológiai módszerek a világon az elterjedtebbek, viszont nem annyira pontosak, különösen rokon fajok esetén nem.

Ezért először a DNS alapú módszereket ismertetjük

DNA-based methods for species-identification in meat products		
Method	Features	Disadvantages
Hybridisation to oligonucleotide	<ul style="list-style-type: none"> * versatile screening of many samples with several different probes * rapid procedure * detection of admixture 	<ul style="list-style-type: none"> * hybridisation dependent on exact experimental condition * species-specific probes need to be developed
Hybridisation to PCR-generated	<ul style="list-style-type: none"> * convenient screening of many samples * detection of admixtures 	<ul style="list-style-type: none"> * species-specific probes need to be developed
PCR-RFLP of mitochondrial DNA	<ul style="list-style-type: none"> * most suitable for degraded samples * detection of admixture 	<ul style="list-style-type: none"> * sensitive to contaminations
PCR and sequencing of mitochondrial DNA	<ul style="list-style-type: none"> * most suitable for degraded samples * one procedure for all species 	<ul style="list-style-type: none"> * sensitive to contaminations * not suitable for samples of mixed origin
MIR-PCR [See Ref.5]	<ul style="list-style-type: none"> * one fast procedure for all mammalian species * detection of unknown species * suitable for degraded samples 	<ul style="list-style-type: none"> * requires special equipment and software * not validated in practice * not suitable for samples of mixed origin

Lenstra et al, 2001



PCR alapú genetikai módszerek

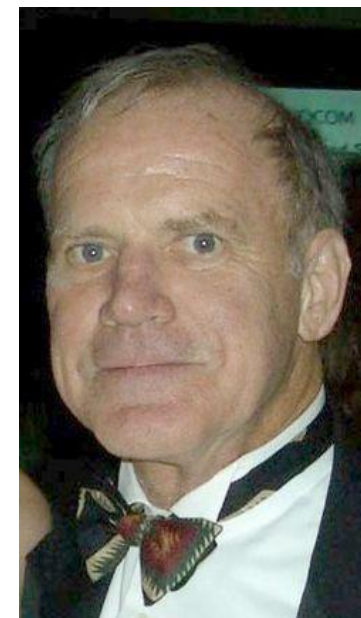
- Polimeráz láncreakció (PCR)
- PCR Restriktációs fragment hossz polimorfizmus -Restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)
- Random amplifikált polimorf DNS-
Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)
- Szekvenálás -
Forensically Informative nucleotide sequencing (FINS)
- Kvantitatív / real time PCR (q PCR, q RT PCR)



Mi a PCR?

A DNS bizonyos szakaszának mesterséges sokszorosítása

1983 -Dr. Kary Mullis fedezte fel
1993 -kémiai Nobel díjat kapott érte



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME



Mi szükséges hozzá?

- *DNS-templát*
- *Két primer* - melyek bezárják az amplifikálandó szakasz elejét és végét
- *DNS-polimeráz enzim*
- *nukleotidok* - amelyekből a DNS-polimeráz felépíti az új DNS-t
- *Puffer* - a DNS-polimeráz számára megfelelő kémiai környezetet biztosít



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Lépései

1.) Denaturálás

92-96 °C → a H-hidak megszakadnak, a két szál szétválik

2.) Primerek feltapadása

50-65 °C

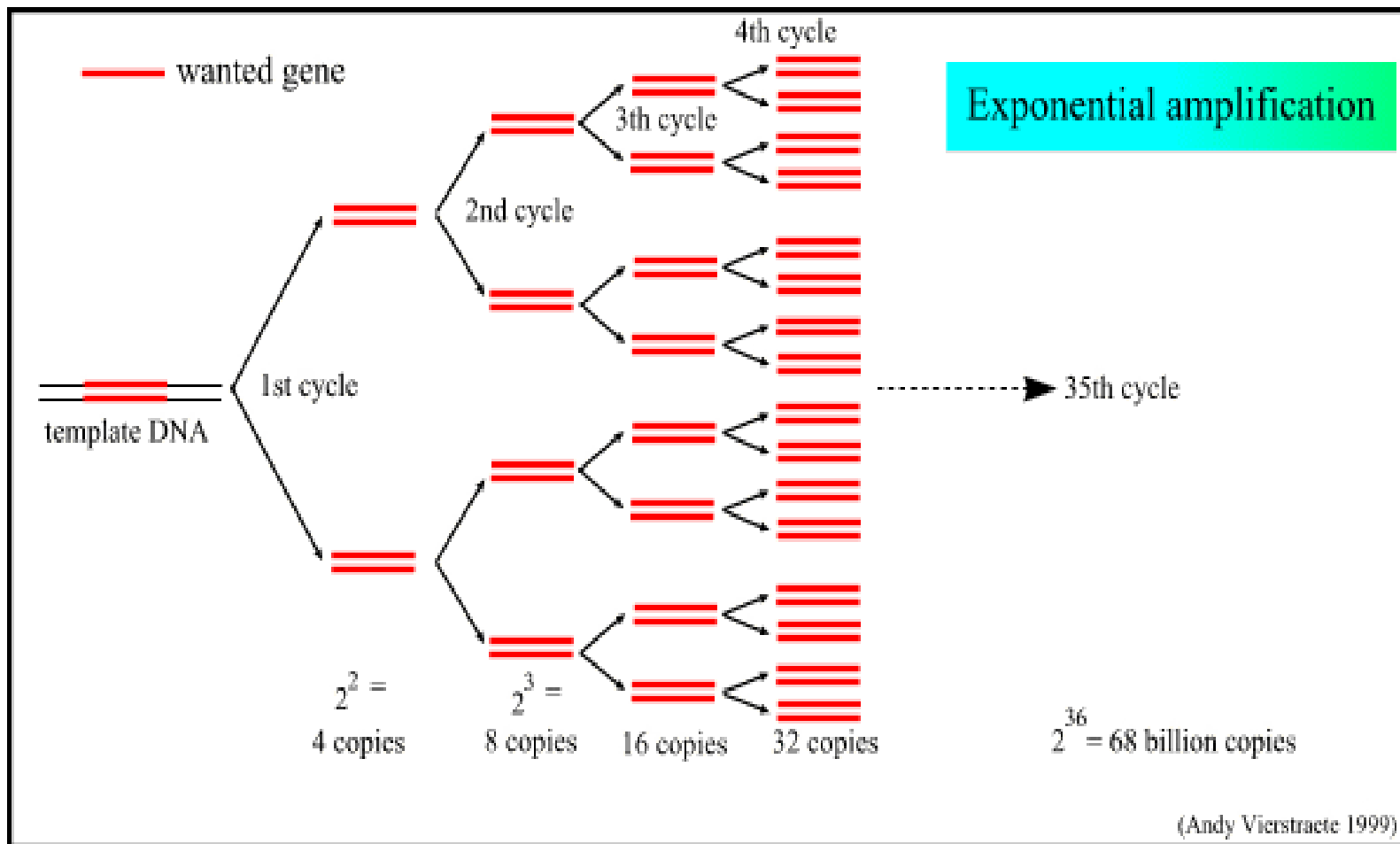
3.) Elongáció (primer növesztés)

72 °C ; pl. *Thermus aquaticus* (Taq) (0,5-2 perc)
- az új szál a primer 3'-as végétől növekszik

30-35x



Exponenciális amplifikáció



<http://users.ugent.be/~avierstr/principles/pcr.html>

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

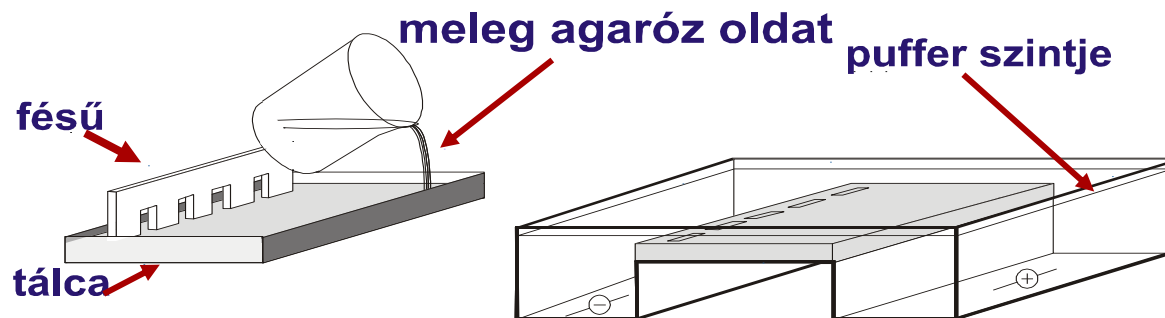
Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



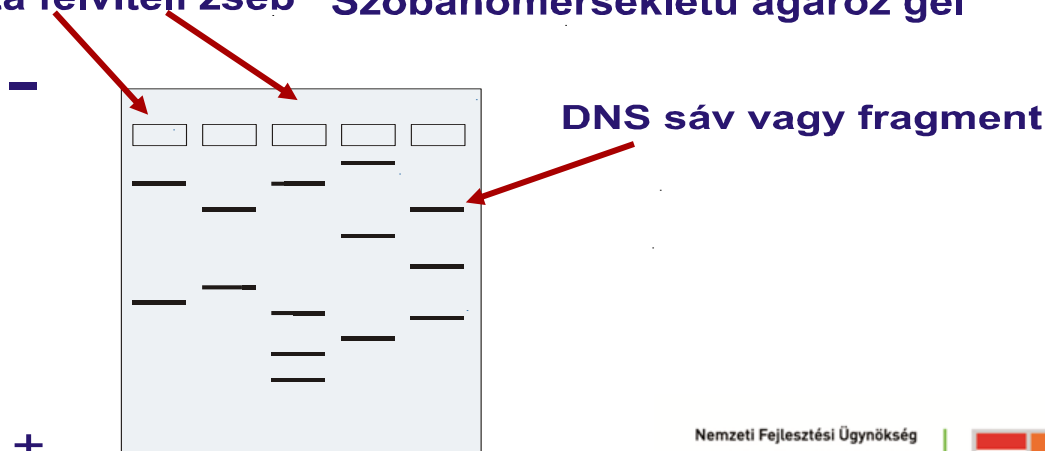
A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

Amplifikált termék vizualizálása

Gélöntés és elektroforézis



minta felviteli zseb Szobahőmérsékletű agaróz gél



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014 +

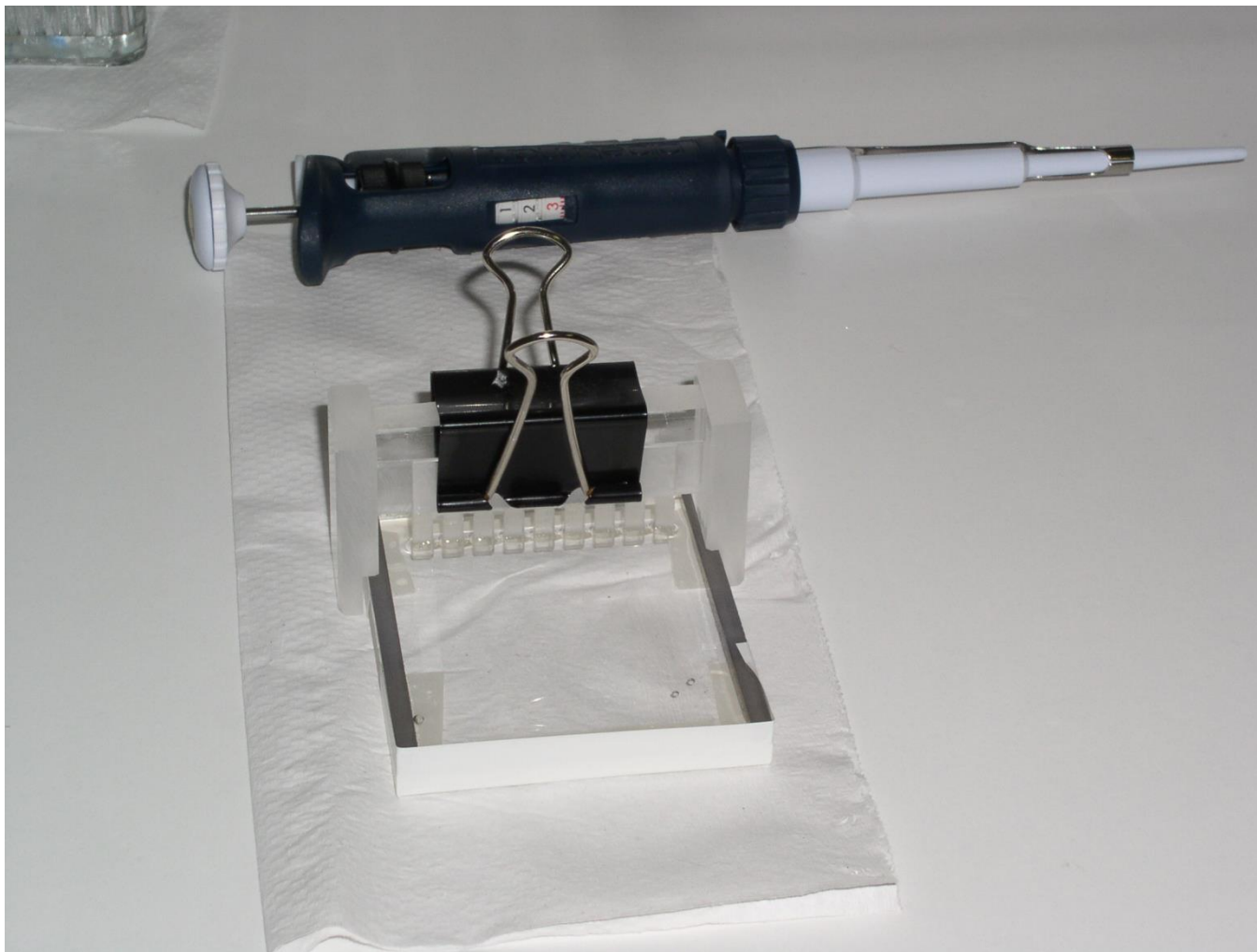
Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Fésüs et al

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



A PCR felhasználási területei

Szinte minden genetikai vizsgálat alapja

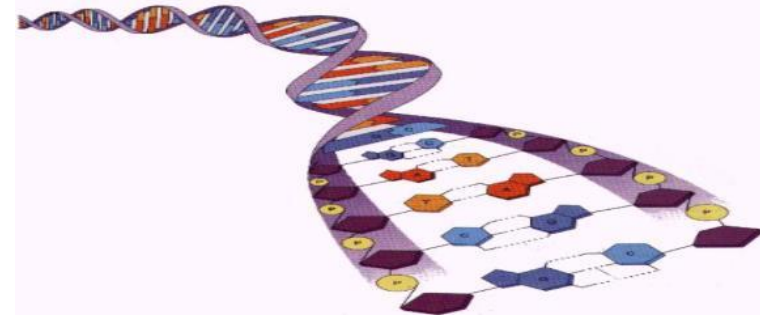
- ◆ klónozás, megfelelő DNS szakaszok kinyerése,
- ◆ DNS szekvenálás
- ◆ mutáció detektálás
- ◆ diagnosztikai eljárások
 - ♣ fertőzések
 - ♣ mutáns allélek kimutása

PCR faj/fajtaazonosításért

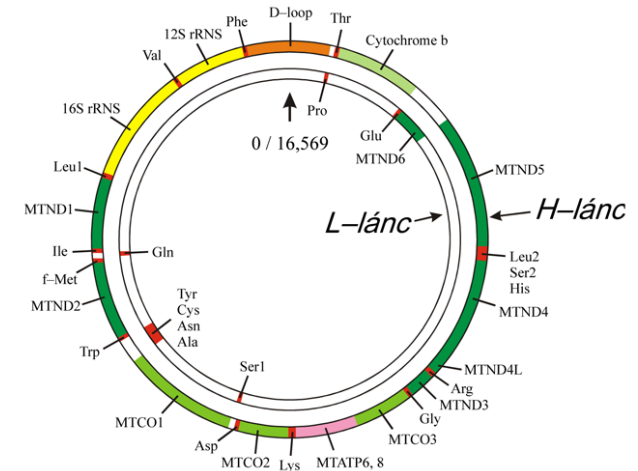
2 lehetőség:

PCR a genomiális DNS-t célozva

PCR a mitokondriális DNS-t célozva



<http://semmelweis-egyetem.hu/igazsagugy/files/2012/06/dnsszerk.jpg>



http://www.mvsz.hu/m7vk/pop_16.html

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

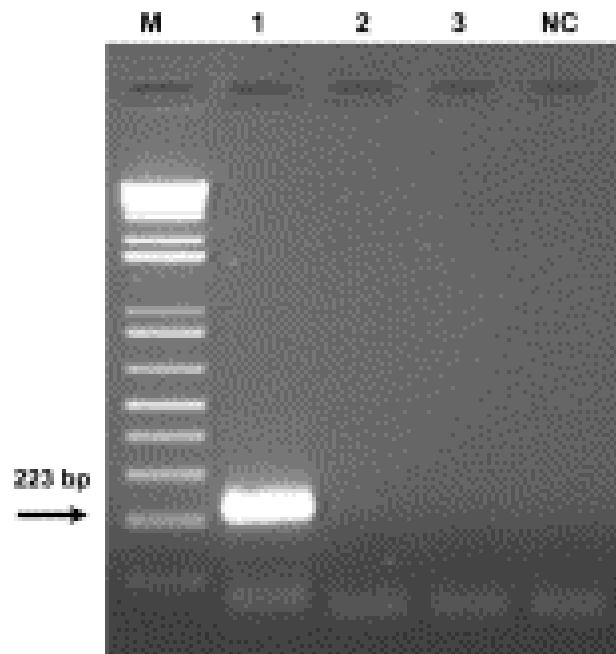
Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

PCR faj/fajtaazonosításért

- Juh és kecsketej hamisítás tehéntejjel (Lopez Calleja et al, 2004)
- Amplifikálták a 12s rRNS génszakaszt



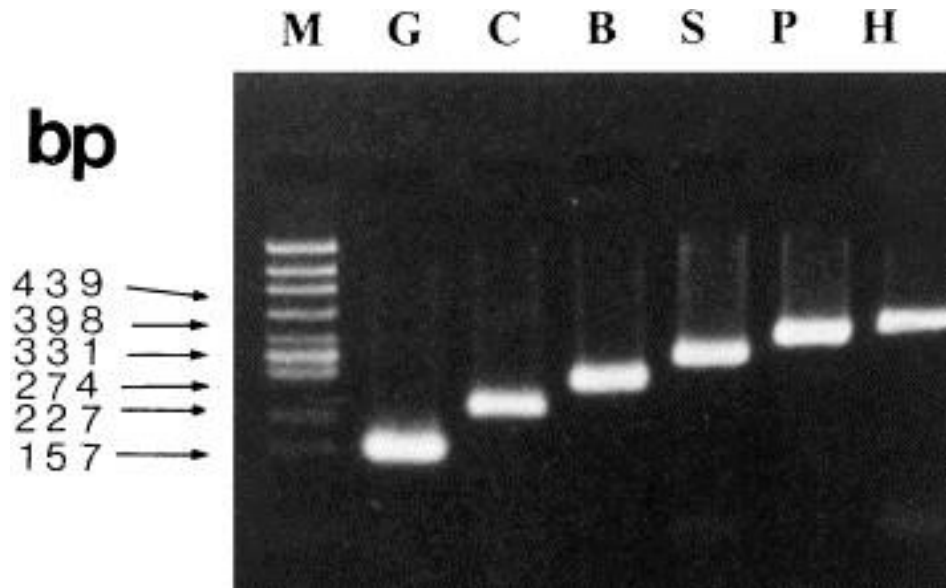
1: tehéntej

2: juhtej

3: kecsketej

PCR faj/fajtaazonosításért

- Kecske, csirke, szarvasmarha, juh, disznó, ló húsokat különböztettek meg (Matsunaga et al, 1999)
- Amplifikálták a *cytb* génszakaszt



G: kecske

C: csirke

B: szarvasmarha

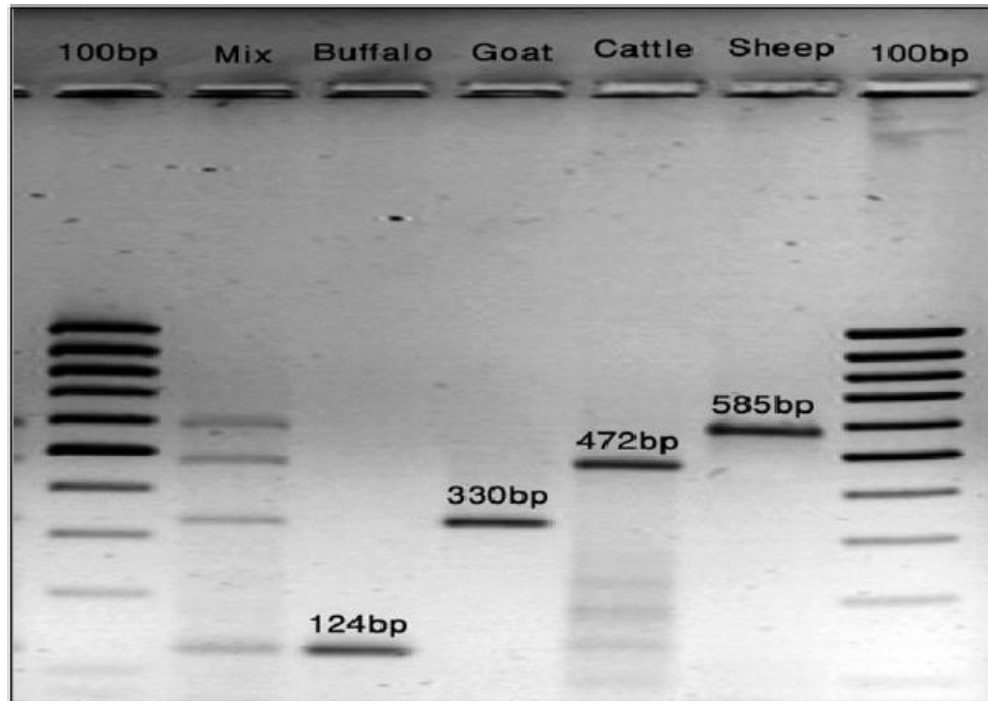
S: juh

P: disznó

H: ló

PCR faj/fajtaazonosításért

- Bivaly, kecske, szarvasmarha, juh húsmintákat vizsgáltak (Zarringhabaie et al, 2011)
- Amplifikálták a *cytb* génszakaszt



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

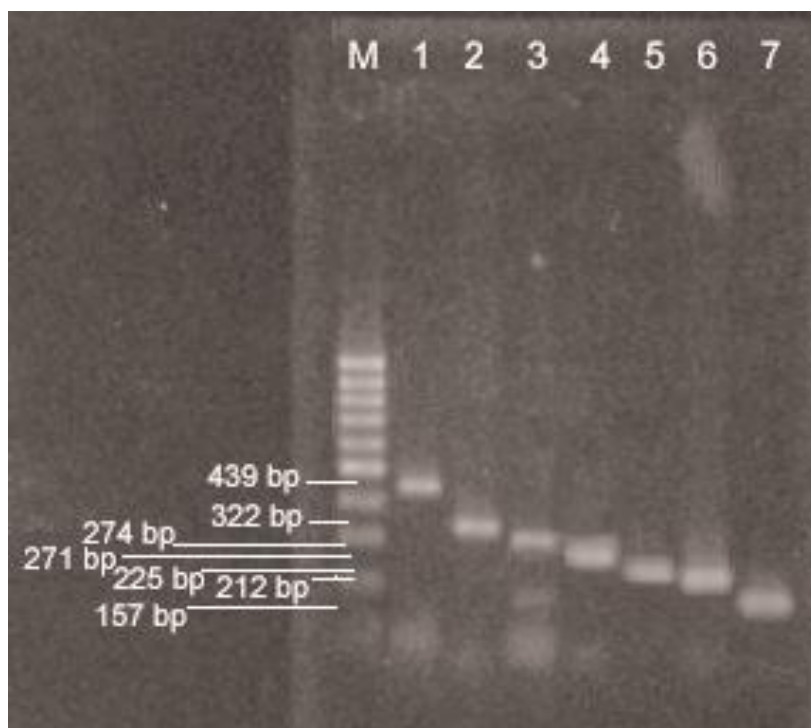
Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

PCR faj/fajtaazonosításért

- szarvasmarha, kecske, juh, disznó, ló, kutya, macska húsokat különböztettek meg (Ilhak és Arslan, 2007)



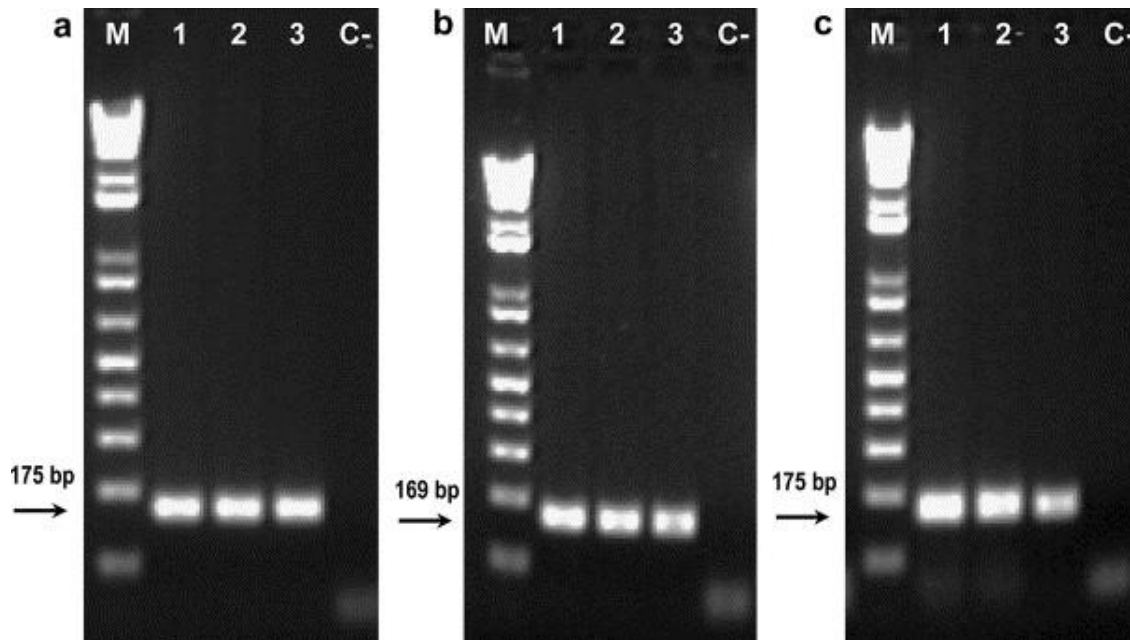
- 1: ló;
- 2: kutya;
- 3: macska;
- 4: szarvasmarha;
- 5: juh;
- 6: disznó;
- 7: kecske

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

PCR faj/fajtaazonosításért

- gím-, dámszarvas és őz húsokat különböztettek meg (Fajardo et al, 2007)
- Amplifikálták a 12S rRNS génszakaszt



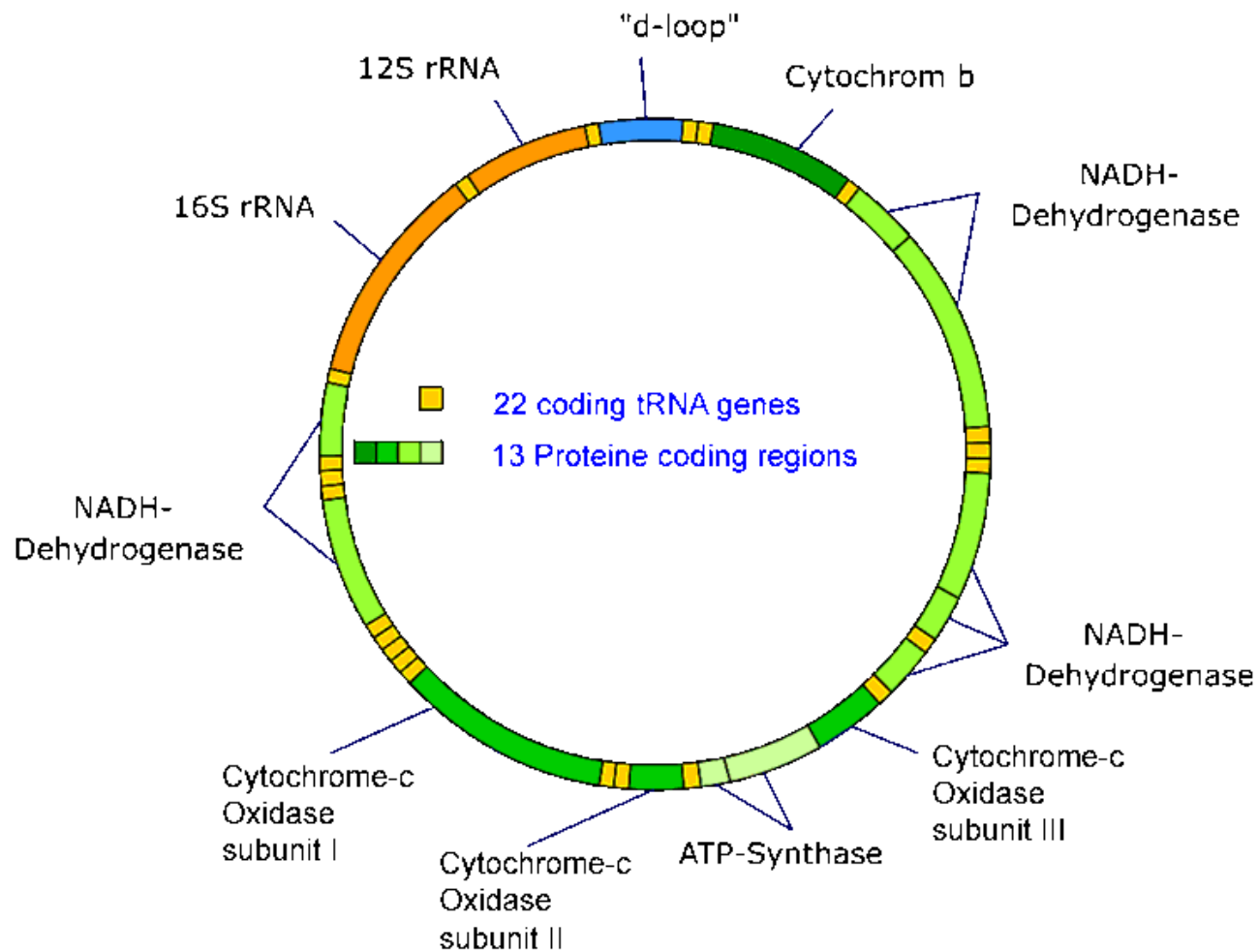
TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME



mtDNS használatának előnyei

- Könnyebb izolálása
- Sejtenként 100-10000 darabszám (kivéve ivarsejtek)
- Archeológiai minták esetén is könnyen, megbízhatóan használható
- Stabilabb mint a nukleáris DNS
- Degradációtól védett, szélsőséges időjárási körülmények között sem degradálódik



<http://slab.lscore.ucla.edu/Mitochondria/mtDNAMap.htm>

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Témakörhöz kapcsolódó kérdések

Milyen termékeredetvizsgálati módszereket ismer?

Felhasznált és ajánlott irodalom

Fésüs L. - Komlósi I. - Varga L. - Zsolnai A.: Molekuláris genetikai módszerek alkalmazása az állattenyésztésben. Agroinform Kiadó. Budapest. 2000.

Lenstra JA, Buntjer JB, Janssen FW. 2001. On the origin of meat - DNA techniques for species identification in meat products. *Veterinary Sciences Tomorrow - Issue 2*

Lopez-Calleia I., Gonzalez I., Fajardo V., Rodriguez MA., Hernandez PE., Garcia T., Martin R. 2004. Rapid Detection of Cows' Milk in Sheeps' and Goats' Milk by a Species-Specific Polymerase Chain Reaction Technique. *J Dairy Sci.* 87(9): 2839-2845.

Ilhak OI., Arslan A. 2007. Identification of meat species by polymerase chain reaction (PCR) technique. *Turkish J Vet Anim Sci.* 31 (3) 159-163.

Fajardo V., Gonzalez I., Lopez-Calleia I., Martin I., Rojas M., Hernandez PE., Garcia T., Martin R., 2007. Identification of meats from red deer (*Cervus elaphus*), fallow deer (*Dama dama*), and roe deer (*Capreolus capreolus*) using polymerase chain reaction targeting specific sequences from the mitochondrial 12S rRNA gene. *Meat Sci.* 76 (2):234-240

Zarringhabaie GE, Pirany N., Javanmard A. 2011. Molecular traceability of the species origin of meats using multiplex PCR. *African Journal of Biotechnology* 10(73):15461-16465.

Matsunaga T., Chikuni K., Tanabeb R., Muroyab S., Shibata K., Yamadaa J., Shinmuraa Y. 1999. A quick and simple method for the identification of meat species and meat products by PCR assay. *Meat Sci.* 51:143-148.

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME





Állati eredetű termékek nyomkövetése genetikai módszerekkel (faj-, fajtaazonosítás)

Eredetvizsgálat célja, jelentősége

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Az előadás vázlatja

PCR alapú genetikai vizsgálati módszerek alkalmazása
élelmiszerek faj/fajtaeredetének ellenőrzésére

PCR-RFLP

RAPD



PCR alapú genetikai módszerek

- ~~Polimeráz láncreakció (PCR)~~
- PCR Restriktációs fragment hossz polimorfizmus -Restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)
- Random amplifikált polimorf DNS-
Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)
- Szekvenálás -
Forensically Informative nucleotide sequencing (FINS)
- Kvantitatív / real time PCR (q PCR, q RT PCR)



DEBRECENI EGYETEM

PCR-RFLP



Restrikciós fragment hossz polimorfizmus

PCR-RFLP módszer egy PCR reakcióból és a termék restrikciós enzimekkel való emésztést jelenti.

Egyszerű, gyors, általában nem drága módszer

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



PCR-RFLP

Restriktációs enzimek

A restriktációs enzimek baktériumok által termelt enzimek, melyek a DNS szálát speciális enzimfelismerő helyen emésztik

Mindegyik enzim csak meghatározott hőmérsékleten működik hatékonyan!!

Az enzim aktivitásának egysége: 1 U (unit) = az az enzim mennyiség, amely 1 mg tiszta DNS-t 60 perc alatt teljes mértékben megemészt optimális körülmények között.

Név	Baktérium	Hasító hely
<i>A</i> lul	<i>Arthrobacter luteus</i>	AG↓CT TCTGA
<i>B</i> amHI	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> H	G↓GATC C C CTAG↑G
<i>E</i> coRI	<i>Escherichia coli</i> R factor	G↓AATT C C TTAA↑G
<i>H</i> aellI	<i>Hemophilus aegyptus</i>	GG↓CC CCTGG
<i>H</i> indIII	<i>Hemophilus influenzae</i> Rd	A↓AGCT T T TCGA↑A
<i>N</i> ofI	<i>Norcadia otitidis-caviarum</i>	GC↓GGCC GC CG CCGG↑CG
<i>P</i> stI	<i>Providencia stuartii</i>	C TGCA↓G G↑ACGT C
<i>T</i> aqI	<i>Thermus aquaticus</i>	T↓CG A A GC↑T

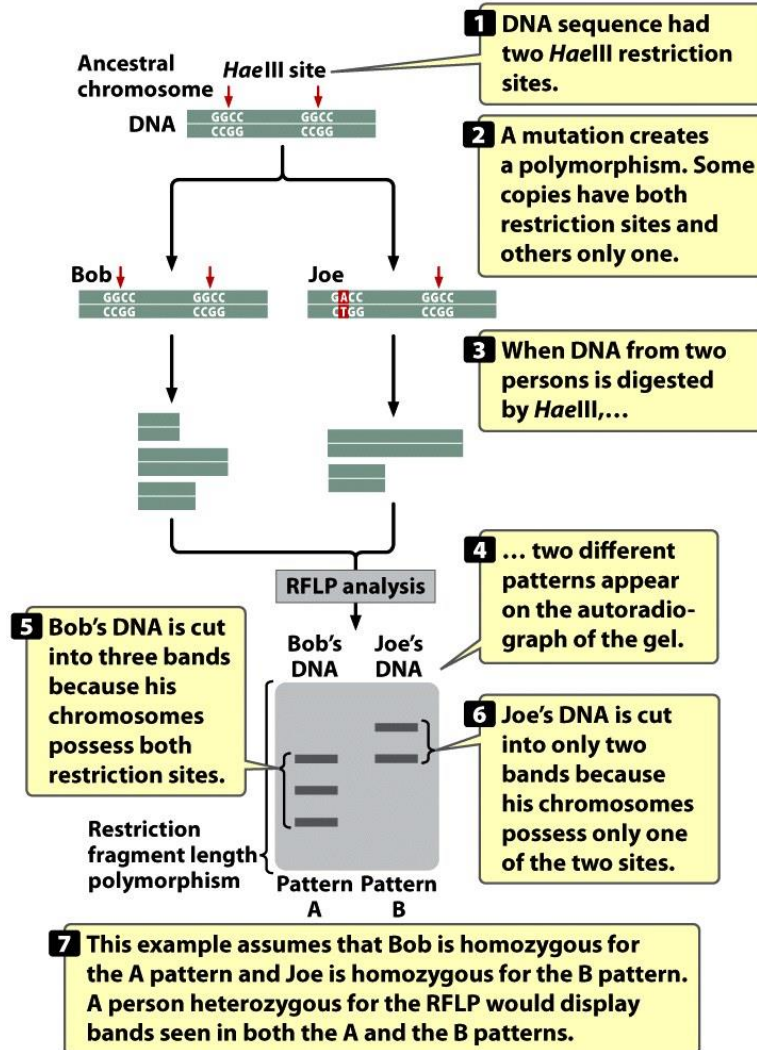


Figure 19-23
Genetics: A Conceptual Approach, Third Edition
 © 2009 W.H. Freeman and Company



Az RFLP alkalmazási területei

- Mezőgazdaság
- Élelmiszeripar
- Származásellenőrzés
- Géntérképezés
- Mutáció detektálás

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

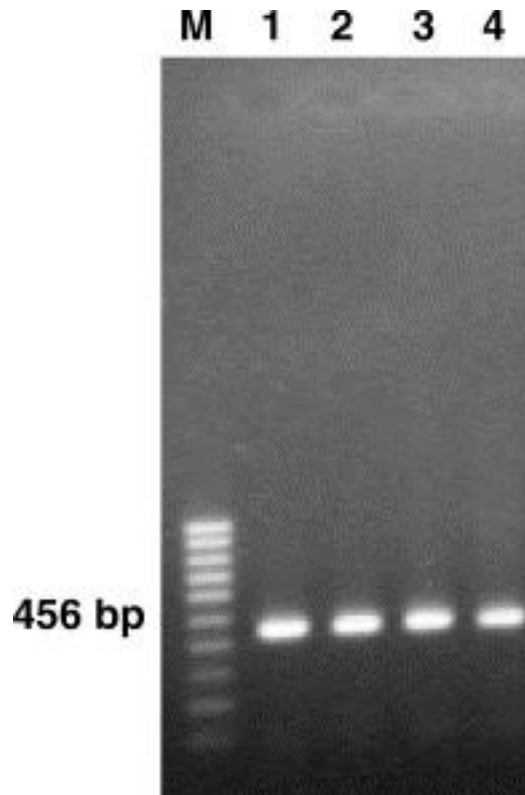




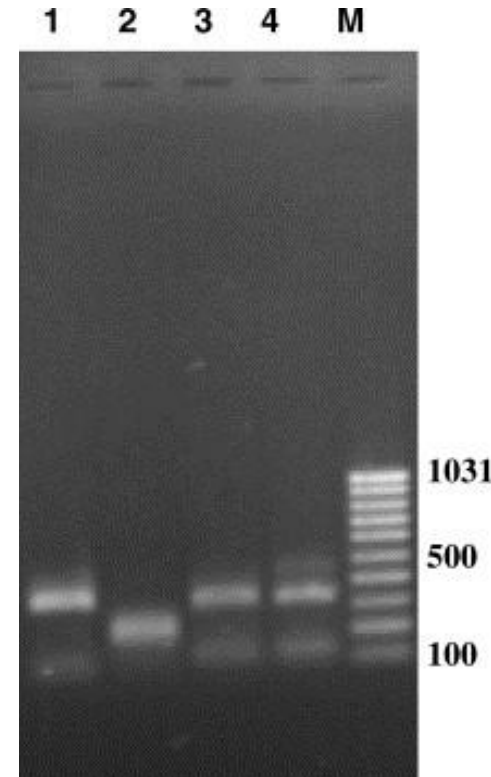
PCR-RFLP alkalmazása a faj/fajtaazonosításban

- szarvasmarha, bivaly, juh és kecske húsokat különböztettek meg (Girish et al, 2005)
- Amplifikálták a 12S rRNS génszakaszt

PCR-RFLP alkalmazása a faj/fajtaazonosításban



emésztetlen



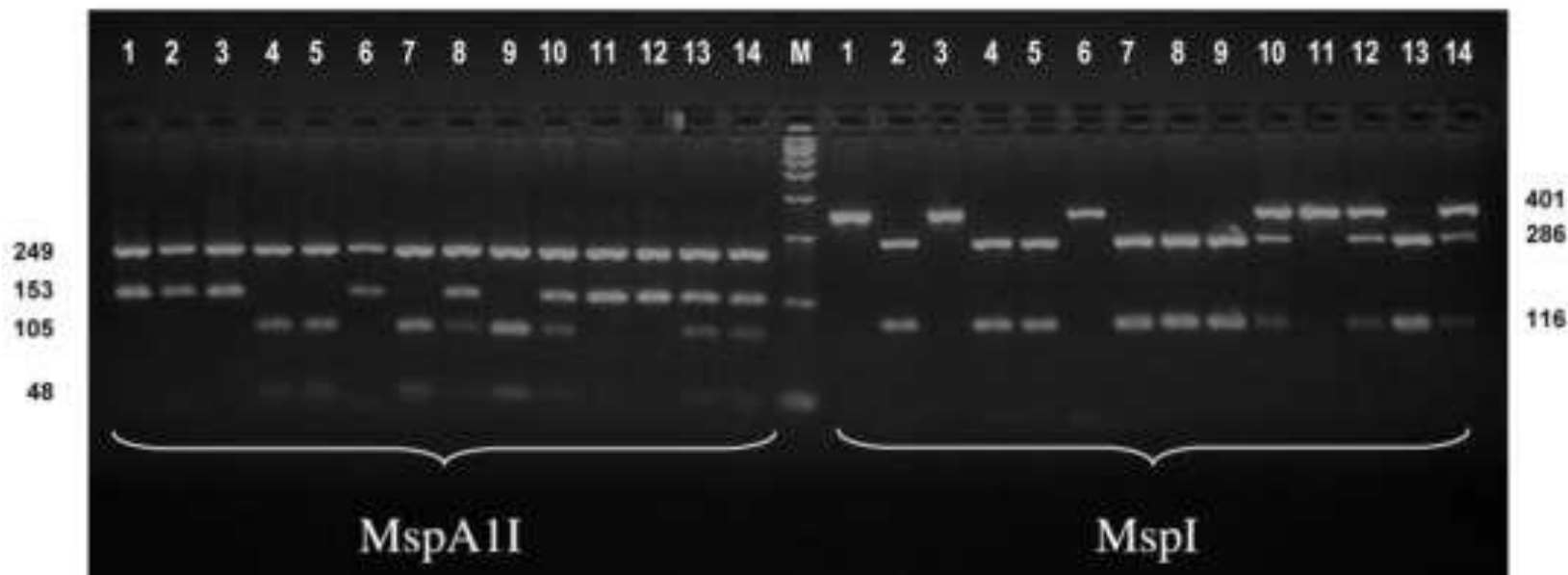
Emésztés után AluI, HhaI, ApoI, BspTI

- 1: marha
(359+97)
- 2: bivaly
(246+210)
- 3: juh
(329+127)
- 4: kecske
(323+133)

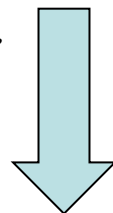


PCR-RFLP alkalmazása a faj/fajtaazonosításban

- Piemontese, Blonde d'Aquitaine, Italian Friesian, Aosta Red Pied különböztettek meg (Rolando és Di Stasio, 2006)
- Amplifikálták a melacortin 1 receptor gén (MC1R) szakaszát



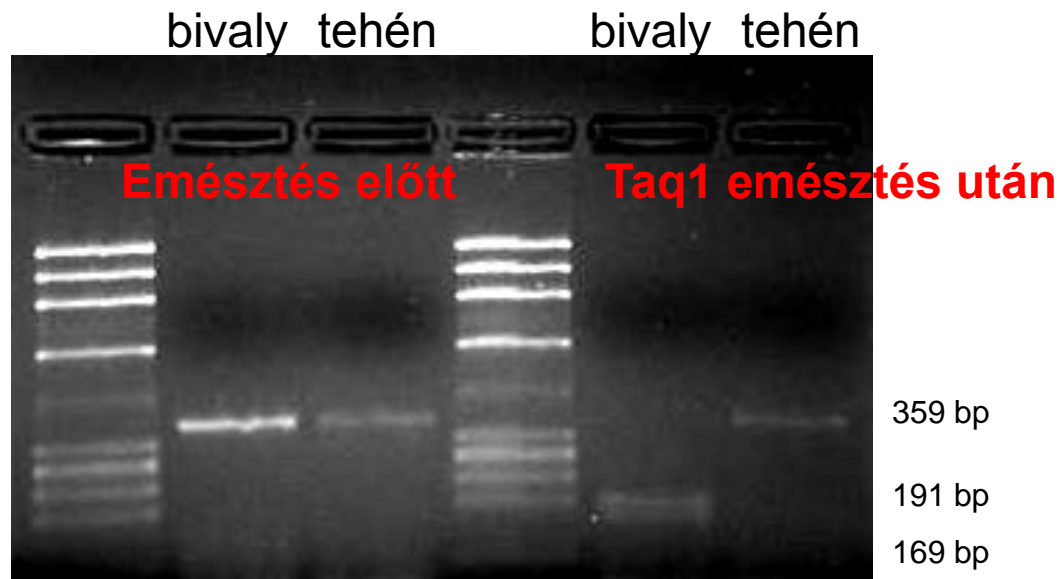
1) ee, 2) E+E+, 3) ee, 4) EdEd, 5) EdEd, 6) ee, 7) EdEd, 8) EdE+, 9) EdEd, 10) Ede, 11) ee, 12) E+e, 13) EdE+, 14) Ede



Ha a genotípus nem ismert a fajta nem különíthető el

PCR-RFLP alkalmazása a faj/fajtaazonosításban

- Bivaly és tehén tejeket különböztettek meg (Abdel-Rahman és Ahmed)
- Amplifikálták a mitokondriális DNS cytb szakaszát



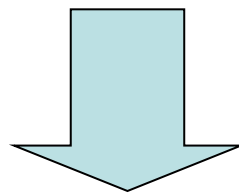


PCR-RFLP alkalmazása a faj/fajtaazonosításban

- Egy nemzettségbe tartozó fajokat vizsgáltak: szavasmarha (*Bos taurus*), zebu (*Bos indicus*), banteng (*Bos javanicus*), gaur, gayal (*Bos gaurus*), jak (*Bos grunniens*), amerikai bölény (*Bison bison*), európai bölény (*Bison bonasus*), házi bivaly (*Bubalus bubalis*), kaffer bivaly (*Syncerus caffer*) (Verkaar et al, 2002)
- Amplifikálták a cytb szakaszt és mikroszatellit vizsgálat
- Enzim: *Ava*III, *Bam*HI, *Eco*RI, *Hind*III, *Hin*FI, *Stu*I, *Taq*I, *Xba*I, *Ban*II, *Tru*9, *Mse*I



	<i>AluI</i>	<i>XbaI</i>	<i>StuI</i>	<i>BamHI</i>	<i>HinfI</i>	<i>TaqI</i>	<i>EcoRI</i>
Szarvasmarha	131, 140	198,73	271	271	101, 170	271	244, 407
Zebu	131, 140	198, 73	271	271	101, 170	271	244, 407
Banteng	131, 140	271	171, 100	271	271	108, 163	651
Gaur, gayal	131, 140	271	171, 100	271	271	271	651
Jak	131, 140	271	271	271	271	271	244, 407
Amerikai bölény	131, 140	271	171, 100	271	101, 170	271	244, 407
Európai bölény	131, 140	198, 73	171, 100	271	271	271	651
Házi bivaly	131, 140	198, 73	271	271	271	108, 163	244, 407
Kaffer bivaly	131, 140	271	171, 100	184, 87	271	108, 163	244, 407



Egyértelműen nem különíthetők el a fajok

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Felhasznált irodalom

- Girisha PS, Anianevulug ASR, Shivakumarc BM, Anandd M, Patele M, Sharmad B. 2005. Meat species identification by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) of mitochondrial 12S rRNA gene. *Meat Sci.* 70 (1): 107-112.
- Rolando A, Di Stasio L. 2006. MC1R gene analysis applied to breed traceability of beef. *ITAL.J.ANIM.SCI.* 5: 87-91.
- Abdel-Rahman SM, Ahmed MMM. Meat species identification by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) of mitochondrial 12S rRNA gene
- Verkaar ELC, Nijman IJ, Boutaga K, Lenstra JA. 2002. Differentiation of cattle species in beef by PCR-RFLP of mitochondrial and satellite DNA. *Meat Sci.* 60 (4): 365-369



PCR alapú genetikai módszerek

- ~~Polimeráz láncreakció (PCR)~~
- ~~PCR Restriktációs fragment hossz polimorfizmus Restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)~~
- Random amplifikált polimorf DNS-
Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)
- Szekvenálás -
Forensically Informative nucleotide sequencing (FINS)
- Kvantitatív / real time PCR (q PCR, q RT PCR)



RAPD alkalmazása a faj/fajtaazonosításban

A RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA=random amplifikált polimorf DNS) technikát Williams et al.(1990), valamint Welsh et al.(1990) olyan eljárásként írják le, amellyel az RFLP -n élt használt klónozott DNS-próbák nélkül lehet polimorfizmust találni.

A RAPD módszerrel a genom ismeretlen DNS szekvenciát lehet felszaporítani 1 vagy 2 tetszős szerint választott primerrel. A primerek a genomon véletlenszerűen hibridizálnak a komplementer szekvenciákkal.



RAPD alkalmazása a faj/fajtaazonosításban

Előnyei (Sutka, 2004):

Nem igényel előzetes szekvencia ismeretet

Egyszerű műszerezettség

Kevés templát igényű

Olcsó

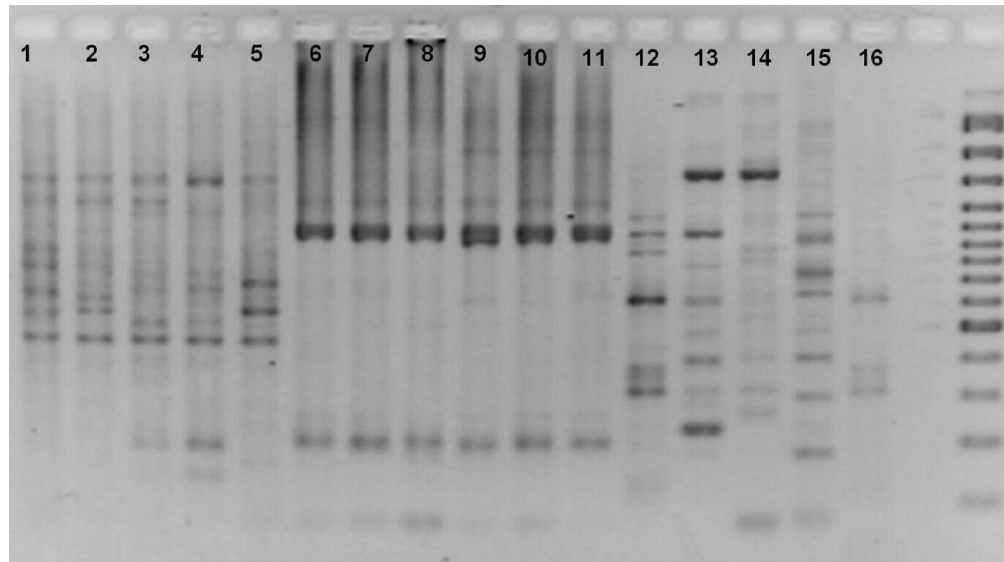
Hátrány:

Érzékeny a templát mennyiségre

Érzékeny a PCR körülményekre

RAPD alkalmazási területei

- genetikai diverztiás megállapítása
- DNS-ujjlenyomat készítése,
- beltenyésztett vonalak, fajták homogenitás vizsgálata,



Különböző *Solanum* fajok RAPD mintázata.(Poczai et al, 2005)

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



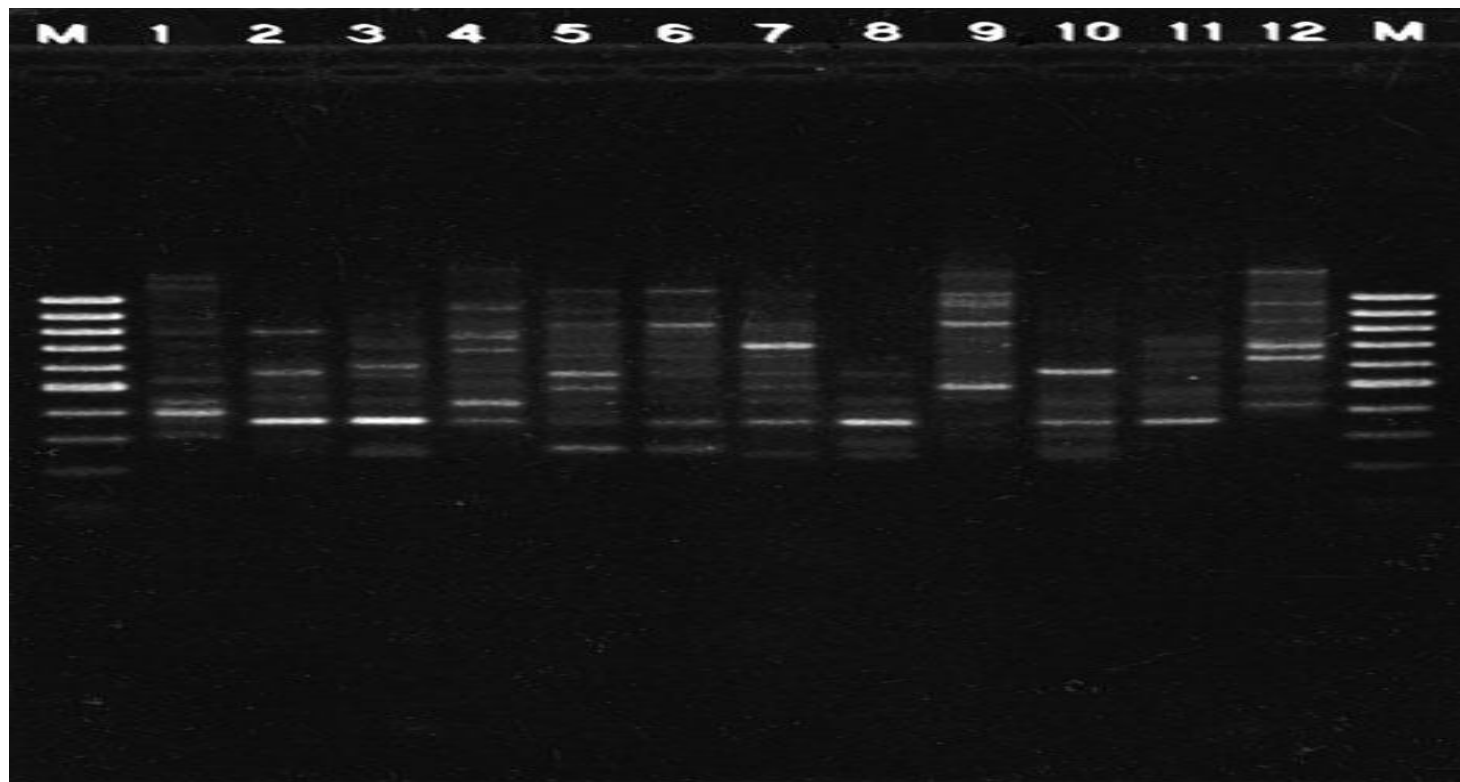
A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



RAPD alkalmazása a faj/fajtaazonosításban

- szarvasmarha, kecske, juh, teve, disznó, vaddisznó, ló, szamár, kutya, macska, nyúl, medve húsmintákat különböztettek meg (Arslan et al, 2005)

10-bázispár hosszú random primert használtak:
ACGACCCACG



1: medve, 2: nyúl, 3: kutya, 4: macska, 5: szamár, 6: ló, 7: vaddisznó, 8: házi disznó,
9: teve, 10: juh, 11: kecske, 12: szarvasmarha

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



- 1: juh
- 2: vaddisznó
- 3: 1 : 1 juh és vaddisznó
- 4: szarvasmarha
- 5: ló
- 6: 1 : 1 szarvasmarha és ló
- 7, 1 : 1 szarvasmarha és juh

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME



RAPD alkalmazása a faj/fajtaazonosításban

- Vöröshusokat vizsgált Koh et al, 1998.

Vaddisznó, házi disznó, ló, bivaly, szarvasmarha, kutya, macska, szarvas, nyúl, kenguru

10 primert használt és sikeresen elkülönítette a fajokat



Témakörhöz kapcsolódó kérdések

Mi a PCR-RFLP módszer?

Mi a RAPD módszer?

Hogyan használják ezeket élelmiszerek faj/fajtaazonosítására?

Felhasznált irodalom

Sutka J. (2003): Növényi citogenetika, Mezőgazda Kiadó

Welsh, J.- McClelland, M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acid Res* 18, 7213-7218

Willams, K. at al. 1990. DNA polymorfism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res* 18, 6531-6535

Poczai P., Taller J., Szabó I. 2005: Különböző *Solanum* vonalak molekuláris genetikai vizsgálata, XI. Ifjúsági Tudományos Fórum

Arslan A, Ilhak I, Calicioglu M, Karahan M. 2005. Identification of meats using random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique. *Journal of Muscle Foods*. 16: 37-45.

Koh MC, Lim CH, Chua SB, Chew ST, Phang STW. 1998. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Fingerprints for Identification of Red Meat Animal Species. *Meat Sci*. 48 (3-4):275-285.

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME





Állati eredetű termékek nyomkövetése genetikai módszerekkel (faj-, fajtaazonosítás)

Eredetvizsgálat célja, jelentősége

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



DEBRECENI EGYETEM



Az előadás vázlata

PCR alapú genetikai vizsgálati módszerek alkalmazása
élelmiszerek faj/fajtaeredetének ellenőrzésére

Szekvenálási technikák

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



PCR alapú genetikai módszerek

- ~~Polimeráz láncreakció (PCR)~~
- ~~PCR Restriktációs fragment hossz polimorfizmus Restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)~~
- ~~Random amplifikált polimorf DNS~~
~~Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)~~
- Szekvenálás -
Forensically Informative nucleotide sequencing (FINS)
- Kvantitatív / real time PCR (q PCR, q RT PCR)



Szekvenálás

A DNS láncban a nukleotidok sorrendjét határozzuk meg.

Több módszer van, a leggyakrabban használtak:

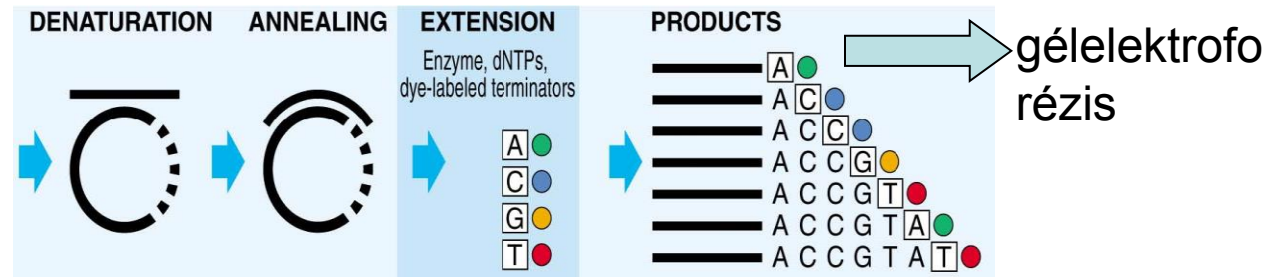
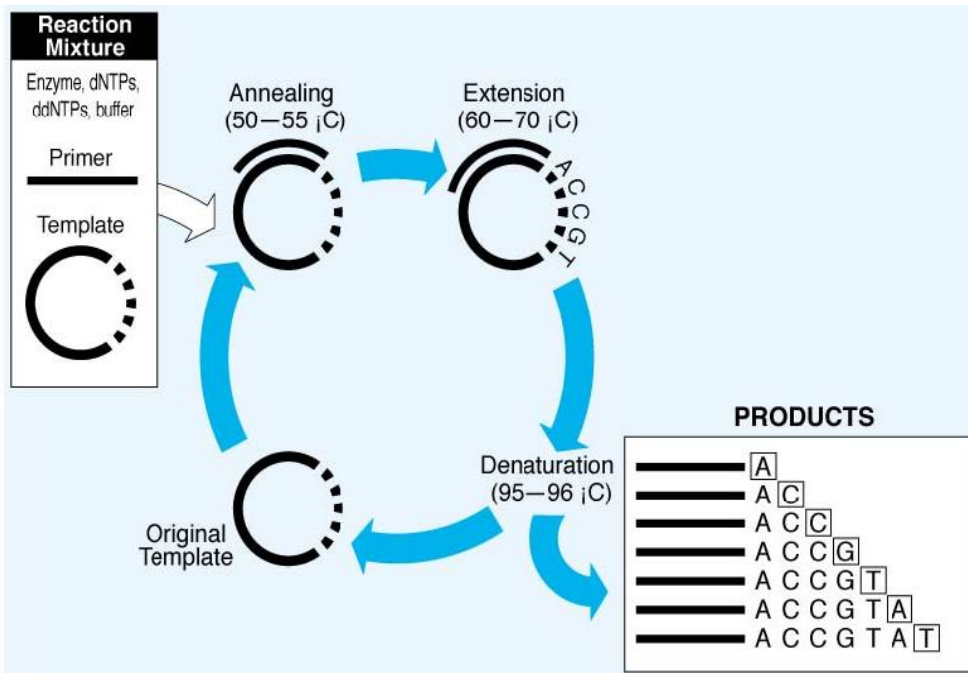
- Sanger szekvenálás
- Shotgun szekvenálás
- Piroszekvenálás
- Új generációs szekvenálás
- FINS



Sanger-szekvenálás

DNS-ben található normál nukleotidok (NTP) mellett dideoxinukleotidok (ddNTP) használatán alapul. A dideoxinukleotidok esetén a 3' szénatomhoz hidroxil-csoport helyett hidrogén kapcsolódik. Amikor ezek a dideoxinukleotidok bekapcsolódnak egy DNS láncba, megakadályozzák más nukleotidok további bekapcsolódását.

Sanger-szekvenálás



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
 vonatkozású egyetemi együttműködés,
 DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
 www.ujsechenyiterv.gov.hu
 06 40 638 638

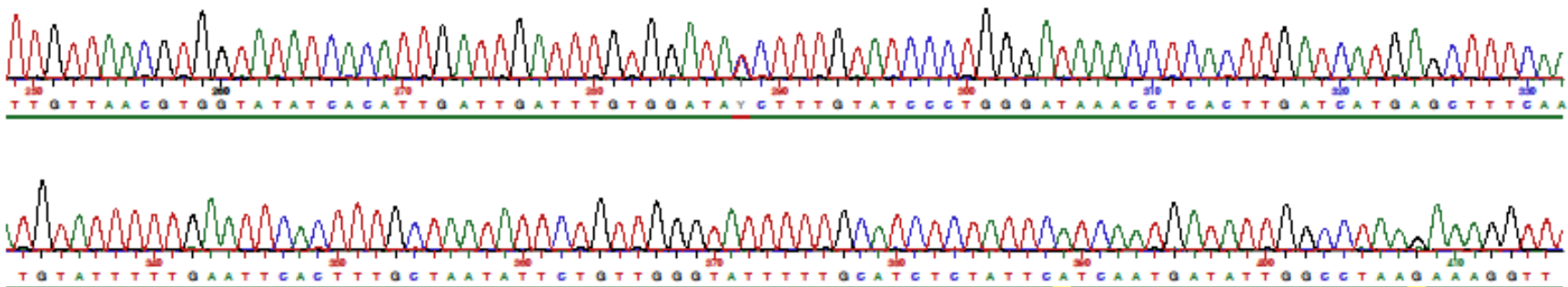


A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Sanger-szekvenálás

Leghatékonyabb 500-800 bp hosszú szakaszok esetén



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

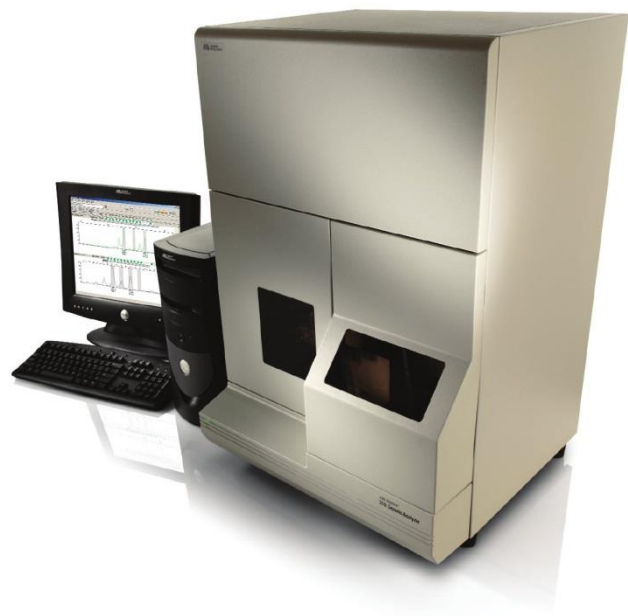
Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



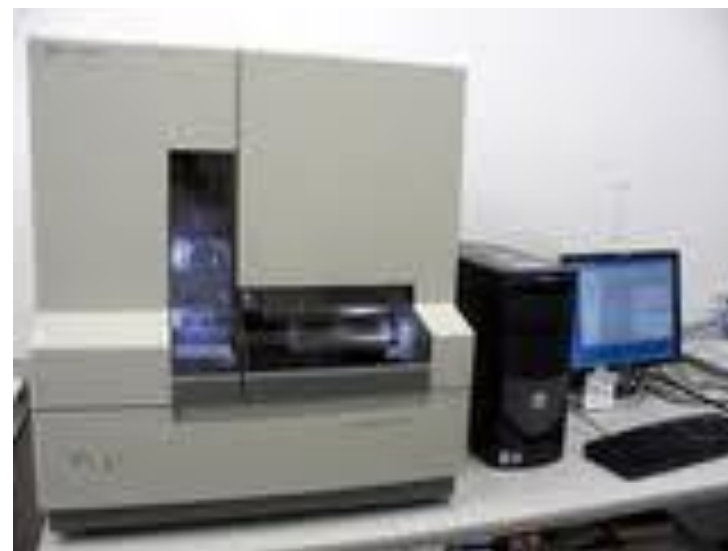
A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

ABI Prism 310 Genetic Analyzer



<http://ietltd.com/BIOTECHNOLOGY/ABI-310/>

ABI Prism 3100 Genetic Analyzer



<http://www.ecogene.co.nz/about.asp>

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

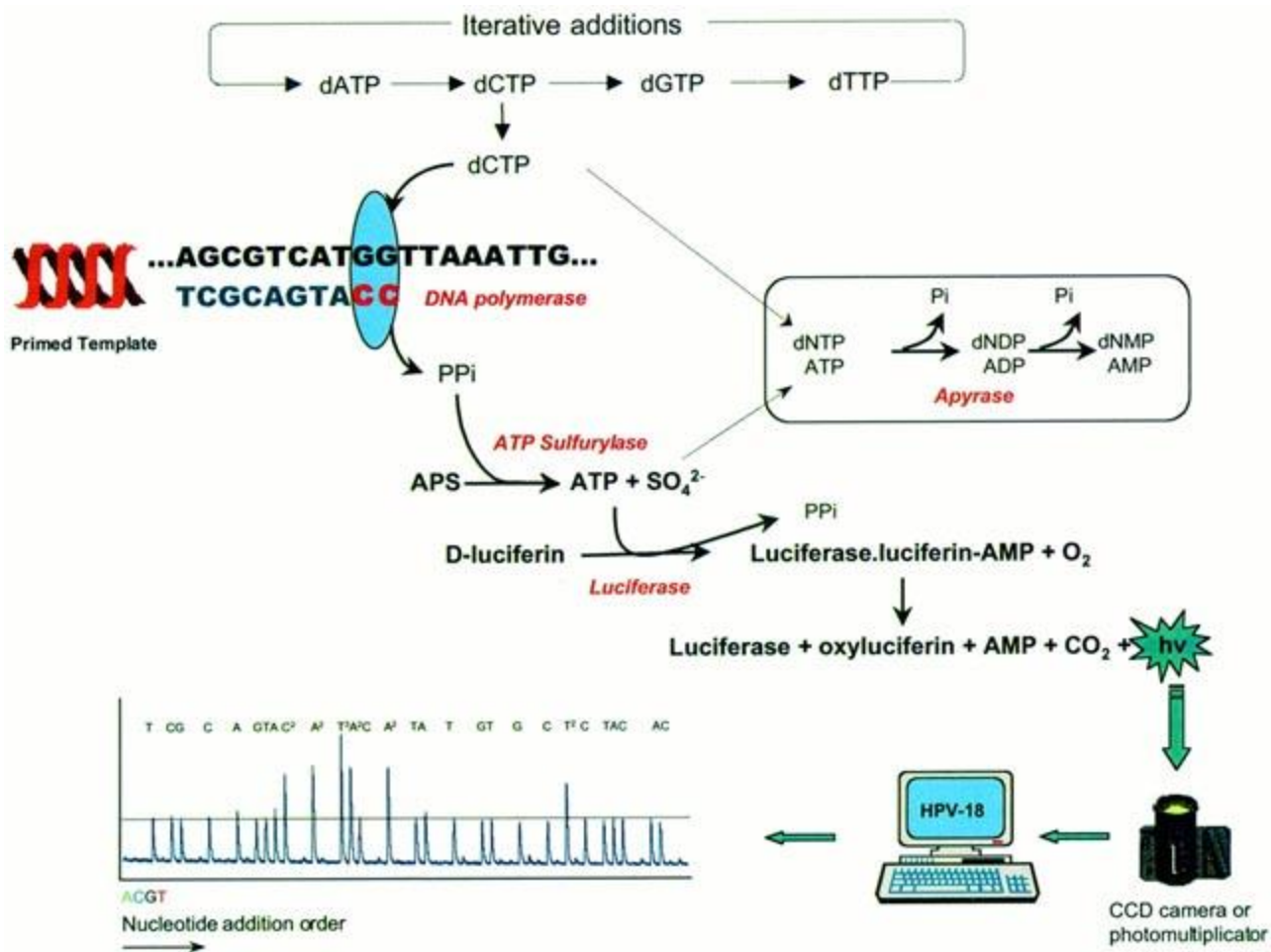
Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME



Piroszekvenálás

- DNS másolásakor a beépülő nukleotidról leszakad egy pirofoszfát, melyet a luciferáz enzim felvillanása jelez
 - $1\text{pmol DNS} = 6 \cdot 10^{11}$ $\text{ATP} = 6 \cdot 10^9$ foton 560nm -en
- Előny:
 - pontos
 - Könnyen automatizálható
 - Nincs szükség jelölt primerre, nukleotidra
 - Nincs gélelektroforézis
- Hátrány:
 - Rövidebb szekvenciák

Piroszekvenálás



http://www.nature.com/labinvest/journal/v81/n5/fig_tab/3780276f1.html

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638

MAGYARORSZÁG MEGÚJUL



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



DEBRECENI EGYETEM



Piroszekvenálás

Elsősorban hús- és tejtermékek fertőzés kimutatására használják (baktérium, vírus)

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Új generációs szekvenálás

Műszaki, technikai megvalósításban, a szekvenálás kémiájában különböznek egymástól

Párhuzamosan történik több milliló DNS szekvenálása
1 futás alatt több száz Mb - néhány Gb szekvencia információ

Ez ma még drága módszer

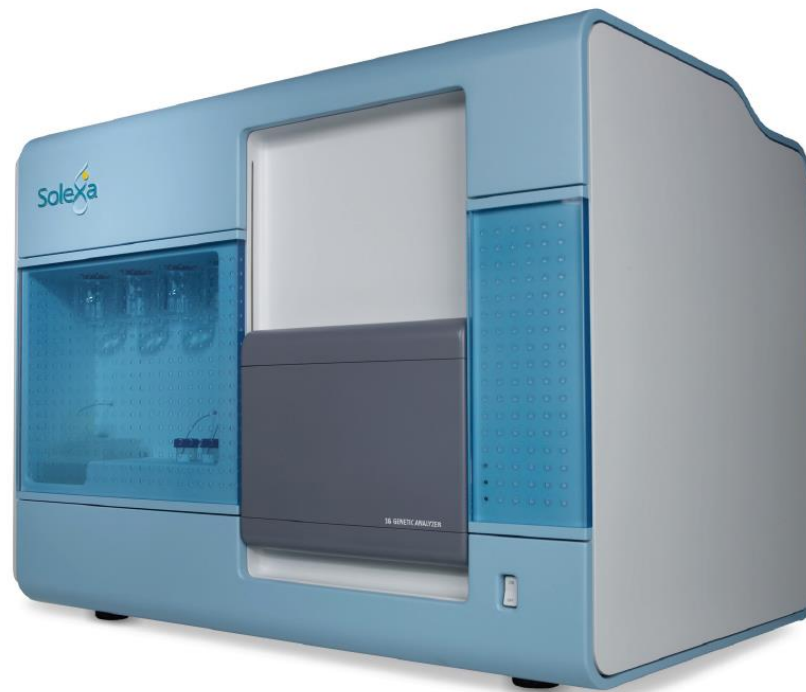


DEBRECENI EGYETEM

Roche/454



Illumina/Solexa



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

**Table 1. Comparison of NGS platforms.**

	Roche 454 GS FLX	Illumina Genome Analyzer	Applied Biosystems SOLiD	Sanger
Sequencing method	Pyrosequencing	Reversible dye terminators	Sequencing by ligation	Dye terminators
Read lengths	400 bases	36 bases	35 bases	800 bp
Sequencing run time	10 h	2.5 days	6 days	3 h
Total bases per run	500 Mb	1.5 Gb	4 Gb	800 bp

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
 vonatkozású egyetemi együttműködés,
 DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
 06 40 638 638



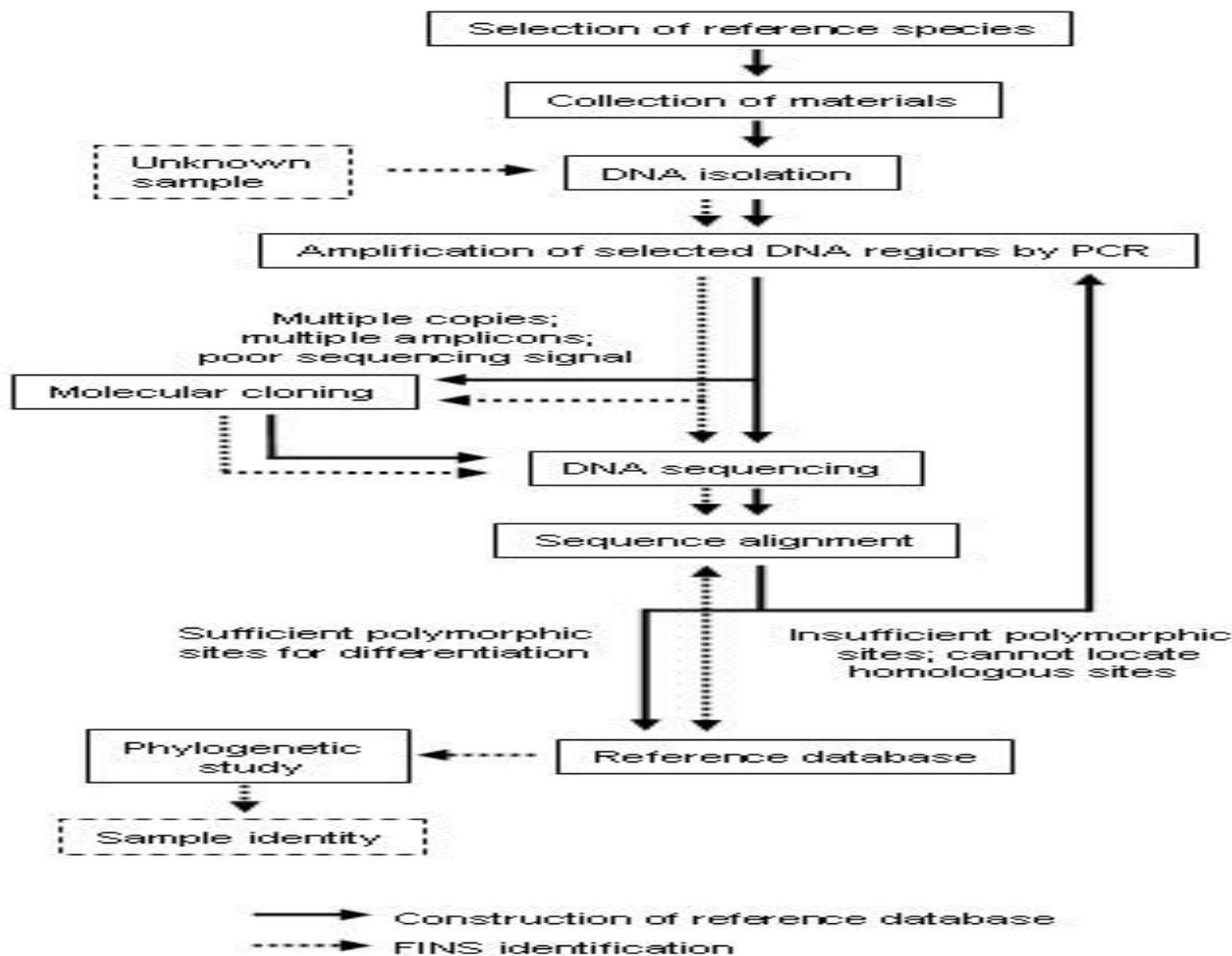
Voelkerding (2009) Clin Chem

A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



FINS alkalmazása a faj/fajtaazonosításban

- Forensically informative nucleotide sequencing (FINS), a DNS szekvenálás és a filogenetikai vizsgálatokat ötvözi
- PCR amplifikáció és a konzervatív gének szekvenálása az egyik legrégebben alkalmazott módszer a különböző eredetű húsok azonosítására
- Mitokondriális DNS cytochróm-b és 12S-r RNS használt leggyakrabban
- Gyors, megbízható, ismételhető, pontos módszer



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638

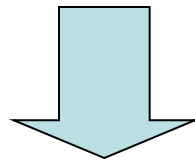


A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



FINS alkalmazása a faj/fajtaazonosításban

- Bartlett és Davidson 1992. FINS (forensically informative nucleotide sequencing): a procedure for identifying the animal origin of biological specimens. *Biotechniques*. 12(3):408-11.
- Blanco M., Perez-Martin RI, Sotelo CG. 2008. Identification of Shark Species in Seafood Products by Forensically Informative Nucleotide Sequencing (FINS). *J. Agric. Food Chem.*, 56 (21), pp 9868-9874
- Lago FC, Herrero B, Vieites JM, Espineira M. 2011. Genetic identification of horse mackerel and related species in seafood products by means of forensically informative nucleotide sequencing methodology. *J Agric. Food Chem.*, 23;59(6):2223-8.



Leginkább halaknál használt módszer



Témakörhöz kapcsolódó kérdések

Mi a szekvenálás?

Milyen szekvenálási módszereket ismer?

Felhasznált irodalom

- Bartlett és Davidson 1992. FINS (forensically informative nucleotide sequencing): a procedure for identifying the animal origin of biological specimens. *Biotechniques*, 12(3):408-11.
- Blanco M., Perez-Martin RI, Sotelo CG. 2008. Identification of Shark Species in Seafood Products by Forensically Informative Nucleotide Sequencing (FINS). *J. Agric. Food Chem.*, 56 (21), pp 9868-9874
- Lago FC, Herrero B, Vieites JM, Espineira M. 2011. Genetic identification of horse mackerel and related species in seafood products by means of forensically informative nucleotide sequencing methodology. *J Agric. Food Chem.*, 23;59(6):2223-8.



Állati eredetű termékek nyomkövetése kvantitatív genetikai módszerekkel (faj-, fajtaazonosítás)

Eredetvizsgálat célja, jelentősége

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Az előadás vázlatja

PCR alapú genetikai vizsgálati módszerek alkalmazása
élelmiszerek faj/fajtaeredetének ellenőrzésére

Kvantitatív /real-time PCR



PCR alapú genetikai módszerek

- ~~Polimeráz láncreakció (PCR)~~
- ~~PCR Restriktációs fragment hossz polimorfizmus Restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)~~
- ~~Random amplifikált polimorf DNS~~
~~Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)~~
- ~~Szekvenálás -~~
~~Forensically Informative nucleotide sequencing (FINS)~~
- Kvantitatív / real time PCR (q PCR, q RT PCR)



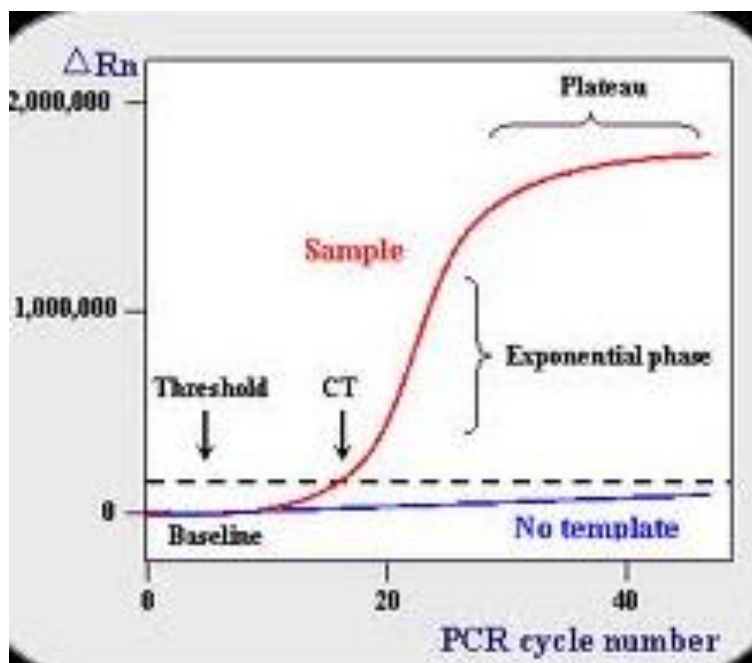
Hagyományos PCR-rel igen nehéz a keletkező termék mennyiségének a meghatározása, a ciklusról ciklusra keletkező mennyiségé pedig lehetetlen

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

q real time PCR

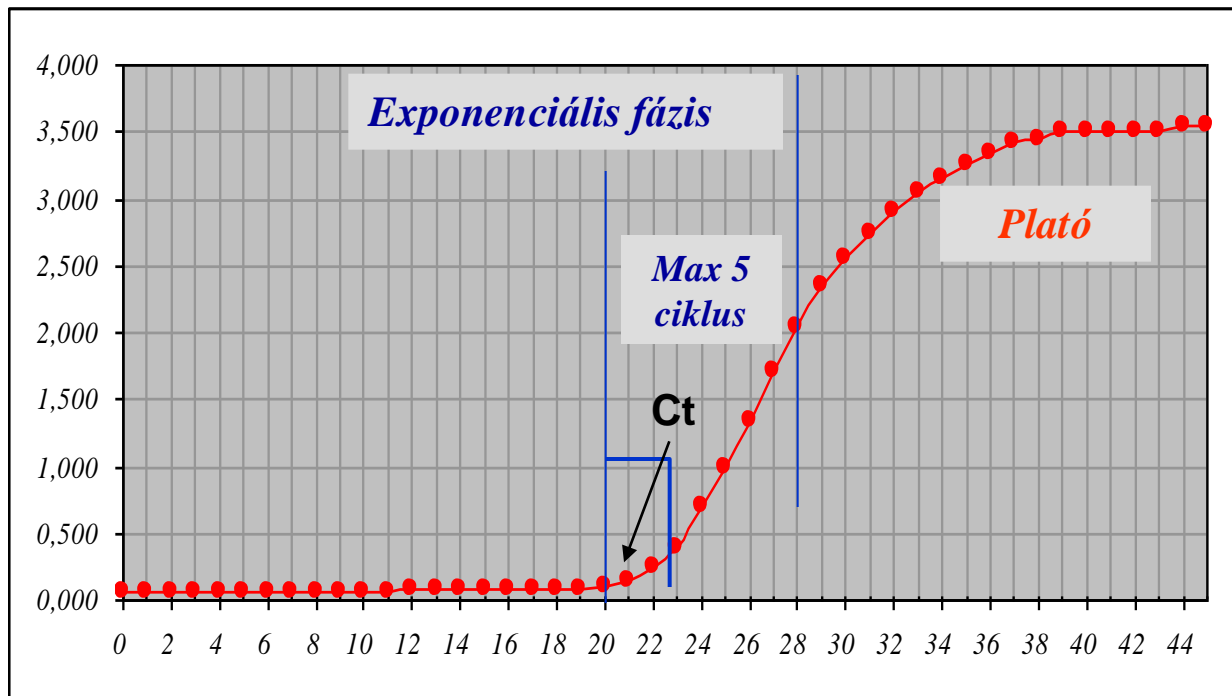
A PCR reakció során ciklusról ciklusra nyomon követhetjük a végtermék felsokszorozódását. A detektálás fluorimetriás úton történik. Ehhez fluoreszcenciás jelzés kell.



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

A PCR reakció kinetikája



Plató hatás:

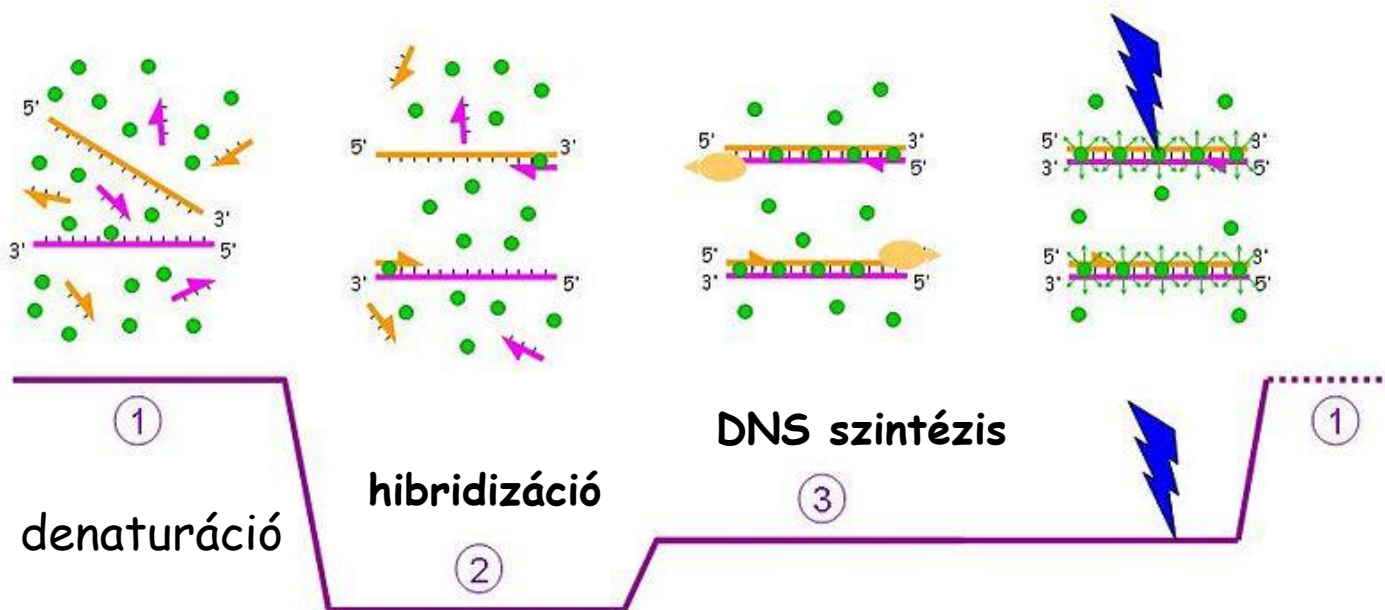
- * *enzim aktivitás elvész*
- * *degradálódik a dNTP*

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

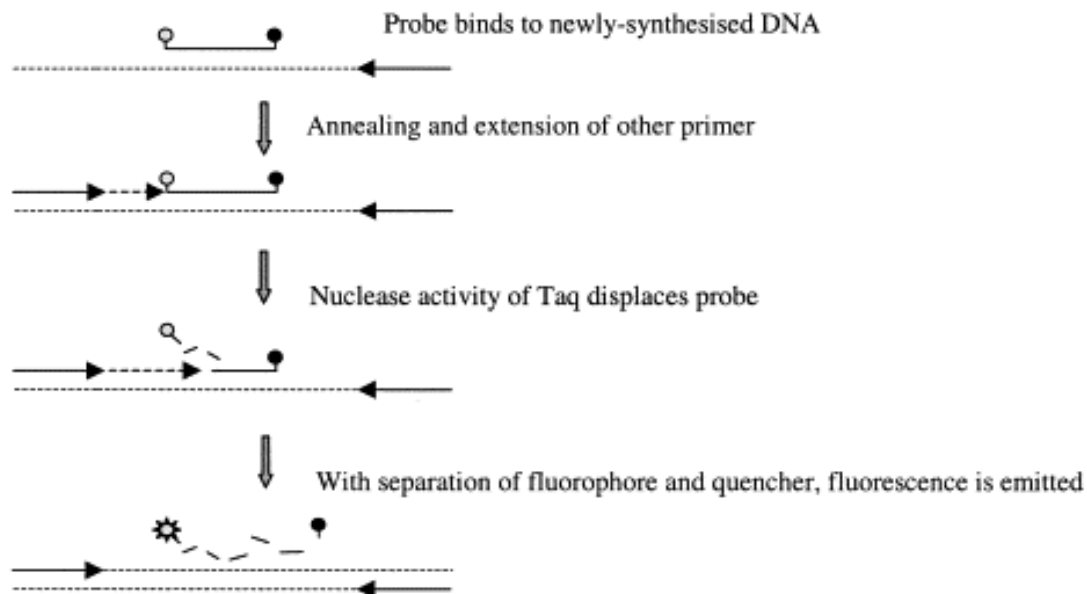
q real time PCR

1. A SYBR Green I fluoreszcens DNS-festék -kettősszalú DNS-molekulákba épül be, lehetővé téve ezzel annak fluorimetriás detektálását



q real time PCR

2. Speciális fluoreszcens próbákkal - például hibridizációs próbákkal vagy úgynevezett fluorogén 5' nukleáz (TaqMan próba) - a PCR-termék szekvenciaspecifikus kimutatása is megvalósítható.



Lockley és Bardsley, 2000

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

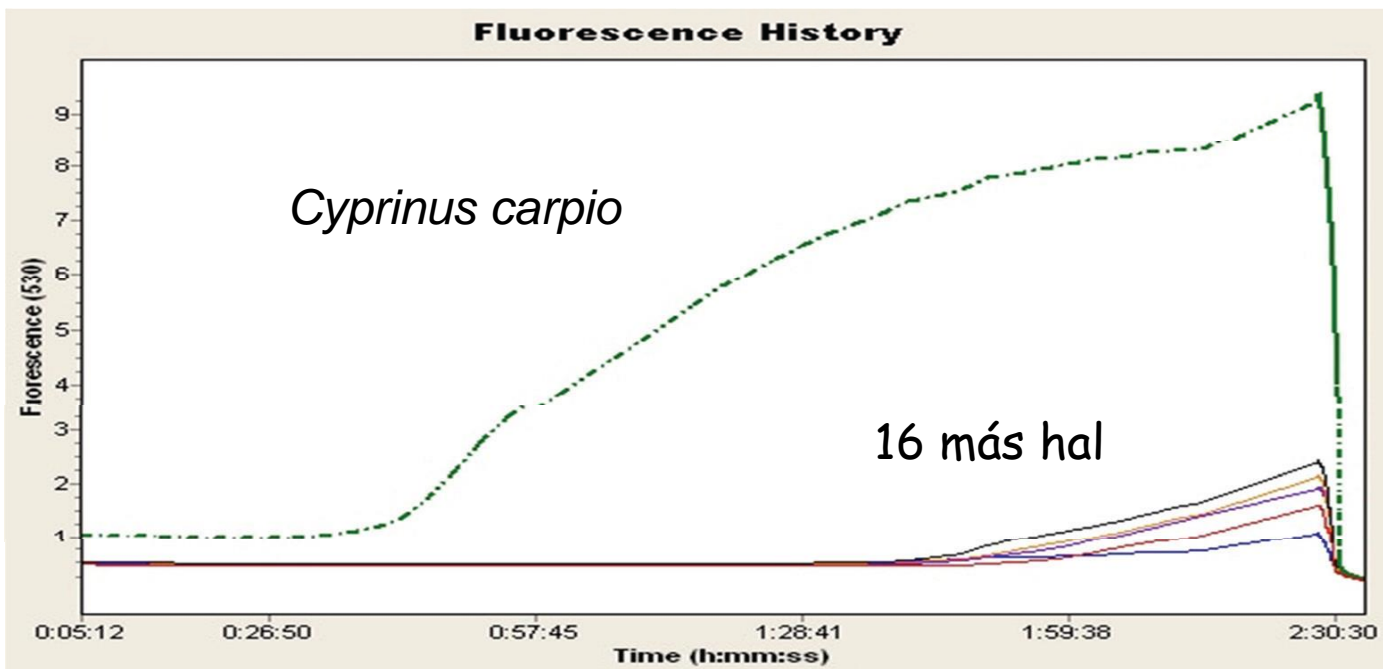
Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Faj/fajtaazonosítása különböző halaknak Sybr greent használva



Bajzik et al, 2012

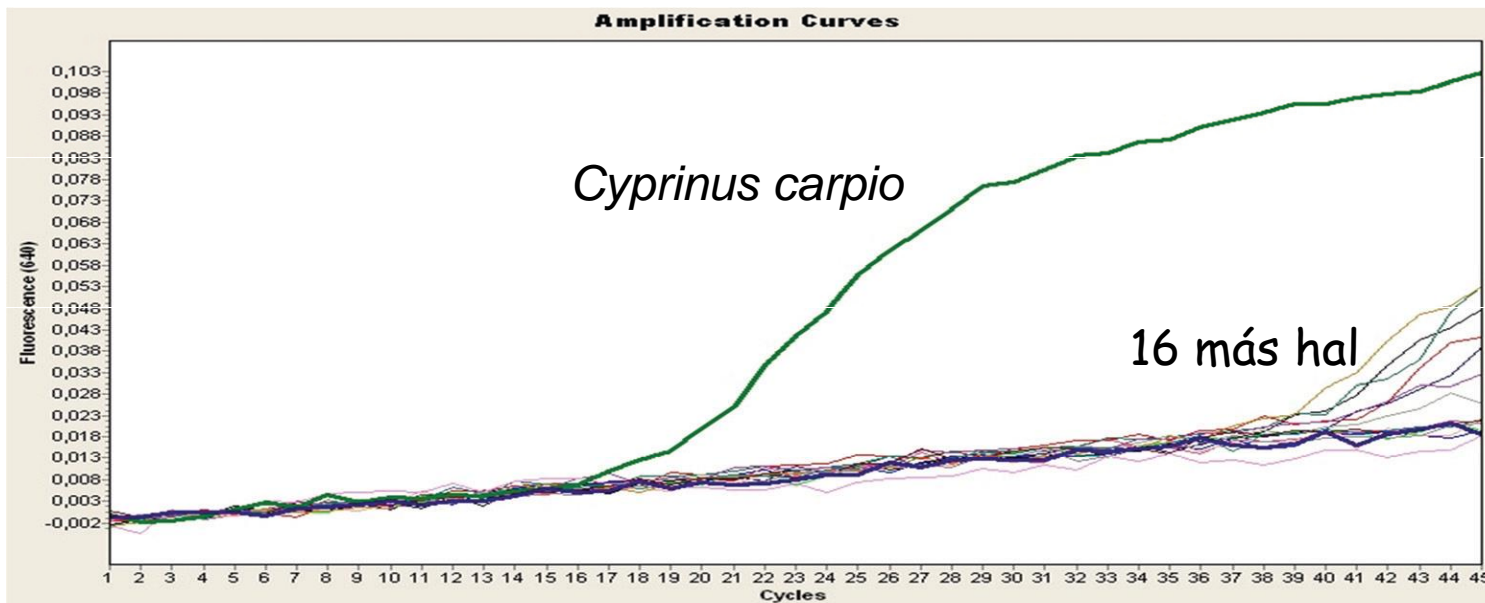
TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME



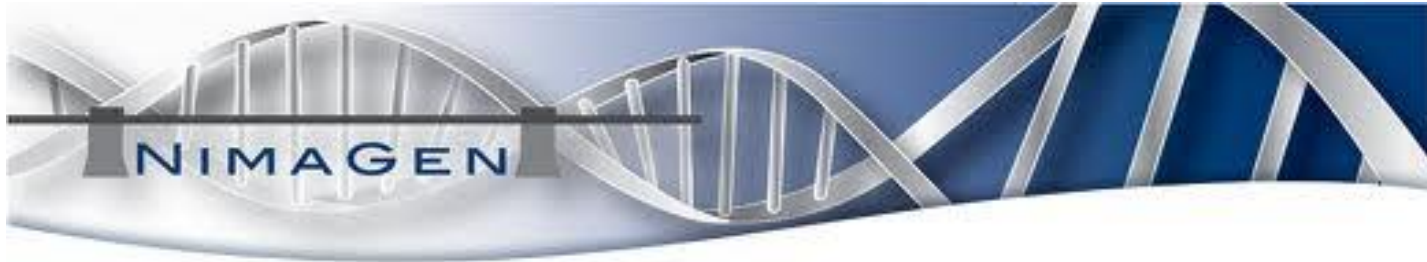


Faj/fajtaazonosítása különböző halaknak Taqman próbát használva



Bajzik et al, 2012





Horse Contamination qPCR Detection Kit - Equus Caballus

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



SSCP - Single strand conformation polymorphisms- Egyszálú konformáció polimorfizmus

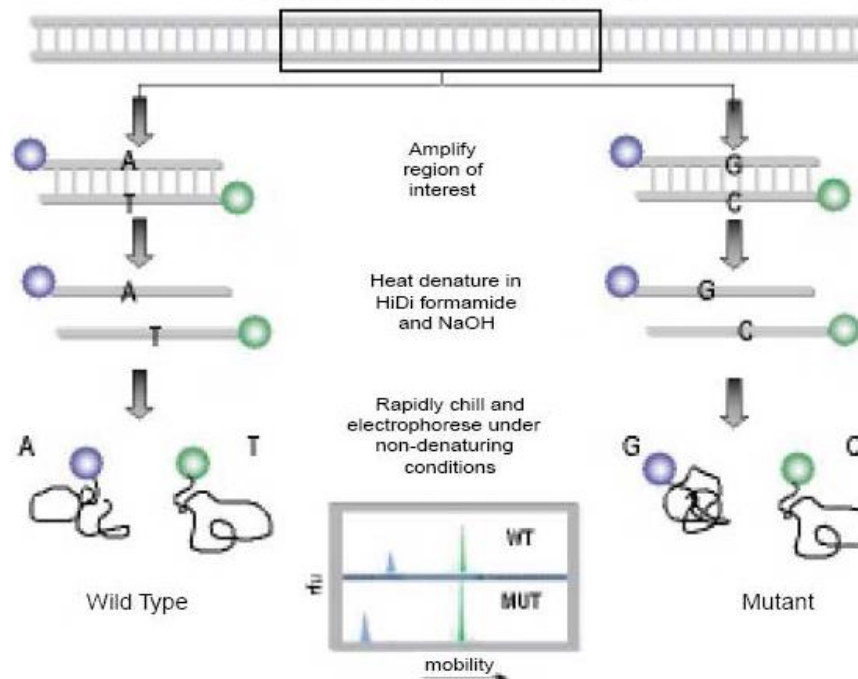
AFLP- Amplified fragment length polymorphisms- amplifikált fragement hossz polimorfizmus

RAMPO- Random amplified microsatellite polymorphisms- véletlen amplifikált mikroszatellit polimorfizmus

AMP-PCR- Anchored microsatellite-primed PCR = végálló mikroszatellit primerekkel végzett PCR

mikroszatellit primerekkel végzett PCR

SSCP - Single strand conformation polymorphisms- Egyszálú konformáció polimorfizmus



<http://faculty.ksu.edu.sa/5083/Pictures%20Library/Forms/DispForm.aspx?ID=17>

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638

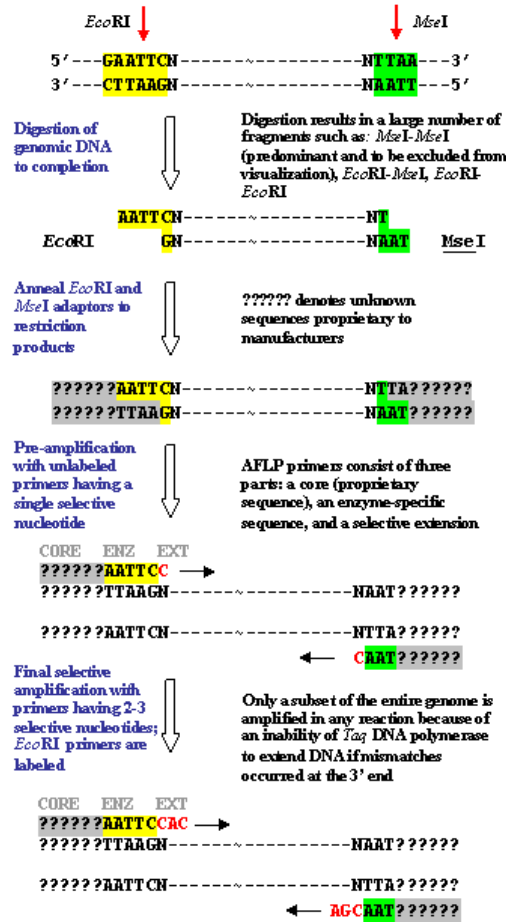


A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



AFLP- Amplified fragment length polymorphisms- amplifikált fragement hossz polimorfizmus

AFLP procedure



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genome/probe/doc/TechAFLP.shtml>

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszchenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



RAMPO- Random amplified microsatellite polymorphisms-
véletlen amplifikált mikroszatellit polimorfizmus

AMP-PCR- Anchored microsatellite-primed PCR = végálló
mikroszatellit primerekkel végzett PCR

mikroszatellit primerekkel végzett PCR



DEBRECENI EGYETEM



Akkreditált laborok végeznek élelmiszervizsgálatokat hazánkban és külföldön is

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Összefoglalás

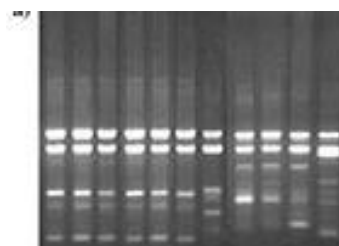
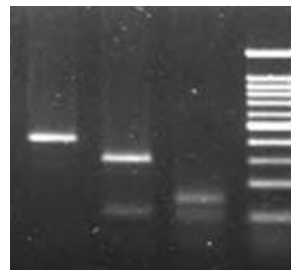
mintavétel



DNS kivonás



vizsgálat

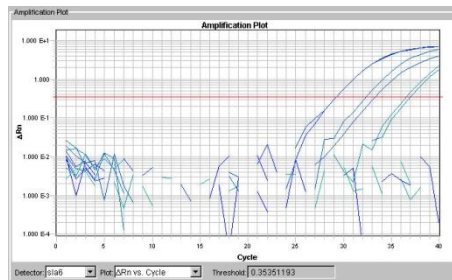


eredmény értékelés

Hamisított???

Nem???

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014
Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME





DEBRECENI EGYETEM



Jövőbeli célok

Kisebb költség

Rövidebb idő

Egyszerűbb mintaelőkészítés, élő munkaerő igény

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



PCR alapú technikák

- Mindenféle termék vizsgálható
- Friss és feldolgozott termék is vizsgálható
- Megbízható
- Kis mennyiségű termék is használható (<1%)

Nem PCR alapú technikák

- Fajok azonosítása hibridizációval



Témakörhöz kapcsolódó kérdések

Mi a fő különbség a hagyományos PCR és a qPCR , qRT-PCR között?

Hogyan alkalmazzák őket élelmiszerek eredet meghatározására?

Felhasznált és ajánlott irodalom

Fésüs L. - Komlósi I. - Varga L. - Zsolnai A.: Molekuláris genetikai módszerek alkalmazása az állattenyésztésben. Agroinform Kiadó. Budapest. 2000.

Bajzik P., Golian J, Zidek R., Krall M., Walczykca M., Tkaczewska J. 2012. □

Identification of the Common carp (*Cyprinus Carpio*) species using real-time PCR methods. *Zywnosc. Nauka. Technologia. Jakość*, 5 (84), 166 - 176

Lockley AK, Bardsley RG 2000. DNA-based methods for food authentication. *Trends in Food Sci Techn.* 11 (2): 67-77.



DEBRECENI EGYETEM



DNS konformáción és olvadásponton alapuló eredetvizsgálati technikák

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Az előadás vázlatja

- PCR SSCP
- PCR HDA
- PCR DGGE
- PCR TGGE
- Technikai problémák



Egyszálú DNS konformáció polimorfizmus (SSCP)

A PCR SSCP előnye a mai napig ('90-es évektől):

*egyszerű, költség- és munkaidőtakarékos
mutációdetektálási eljárás*

eltérés a szekvenciában – eltérés a konformációban – eltérés a mobilitásban

Egyszálú DNS konformáció polimorfizmus (SSCP)

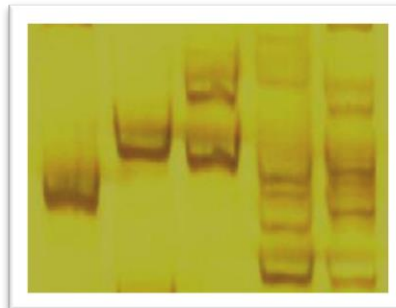
Az egyszálú DNS bázissorrendje meghatározza a másodlagos szerkezetet (háromdimenziós alakzatot)



Nem denaturáló közegben, az elektroforézis során a fragment mobilitását alapvetően annak alakja határozza meg



Akár egy bázis eltérés (szubsztitúció, insert, deléció) is eltérő futtatási képet eredményez!





Egyszálú DNS konformáció polimorfizmus (SSCP)

Lépései:

1. Mintatisztítás, DNS kivonás
2. PCR – célszekvencia felszaporítása
3. Denaturálás – hővel, formamid jelenlétében
4. Elektroforézis – nem denaturáló poliakrilamid gél
5. Fragmens detektálás – egyszálú DNS-t jelölő festékek

DNS festési lehetőségek: **ezüst festés**, izotópos jelölés, etídium bromid, flouescens festés



Heteroduplex Analízis (HDA)

Heteroduplex: kétszálú hibrid DNS molekula, a két szál szekvenciája nagyrészt egyezik, azonban egy vagy több bázisban eltér („mismatch”).

Kimutatás elve: a heteroduplex DNS az elektroforézis során lassabban vándorol, mint a homoduplex DNS.

Független mutáció-kimutatási módszer.

Jellemzően nem önállóan alkalmazzák, hanem együtt végzik az SSCP-vel.





Heteroduplex Analízis

1 sáv = homoduplex, több sáv = heteroduplex

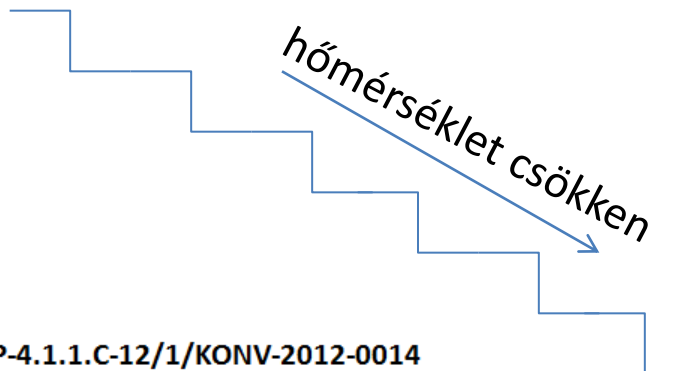
A vad típus és a mutációt hordozó (másik egyed/minta) kerül vizsgálatra

Lépései:

1. Mintatisztítás, DNS kivonás
2. PCR – célszekvencia felszaporítása
3. Denaturálás – egyszálúsítás (hővel)
4. Reannealing – ismét kétszálú DNS, komplementer szálakkal
5. Elektroforézis – nem denaturáló poliakrilamid gél
6. Fragmens detektálás – egyszálú DNS-t jelölő festékek

Heteroduplex analízis (HDA) gyakorlati lehetőségei

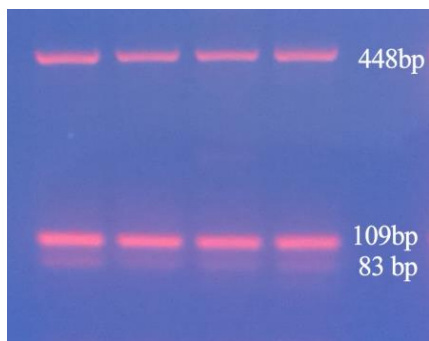
- a) Általában kontrollal használják és attól eltérő mutációt keresnek.
- b) Ritkább felhasználás a kontroll nélküli detektálás
Oka: egymástól eltérő (SNP) homozigótákat nem különíti el,
csak a homozigótát a heterozigótától.



Sok lépéses lassú T csökkenés biztosítja a duplex DNS szálak kialakulását.

Ugyanazon mutáció detektálása két költségtakarékos módszerrel

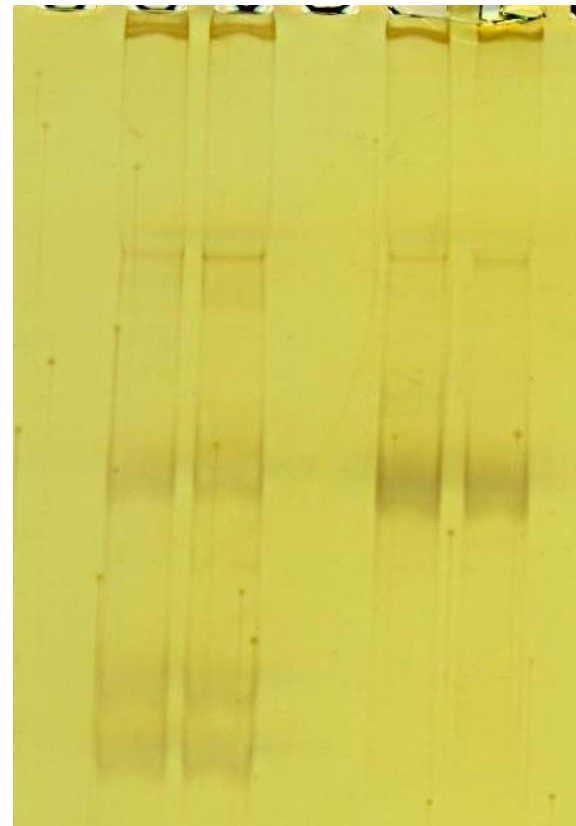
PCR termék agaróz gélelektroforézise



MC1R gén két külső és két belső reverz primer használatával



PCR termékek egyszálúsítás után



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

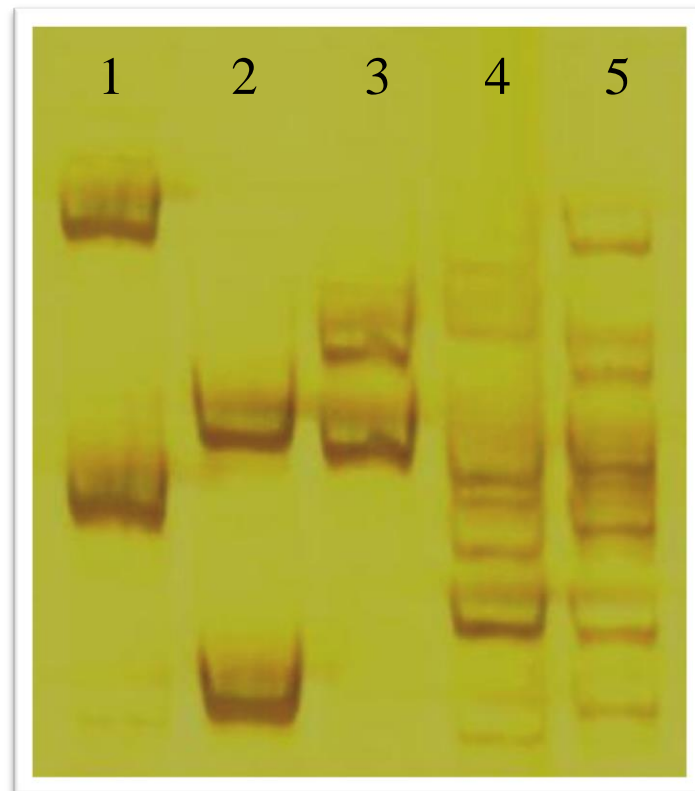
DNS szekvencia BLAST az SNP megkereséséhez és a primerek tervezéséhez/illesztéséhez

SZARVASMARHA	--ACAGCTTAA AAACTC AAAGGACTTGGCGGTGCTTTATAT CCCTTCTAGAG	134
KECSKE	--ACAGCCCG AAACTC AAAGGACTTGGCGGTGCTTTATAT CCCTTCTAGAG	134
JUH	--ACAGCCCG AAACTC AAAGGACTTGGCGGTGCTTTATAT CCCTTCTAGAG	417
BIVALY	--ATAGCCTAA AAACTC AAAGGACTTGGCGGTGCTTTATAT CCCTTCTAGAG	134
SZARVASMARHA	GAGCCTGTTCTATAATCGATAAACCCCGATA AAACCTCACCAAT TCTTGCT	184
KECSKE	GAGCCTGTTCTATAATCGATAAACCCCGATA AAACCTCACCAAT TCTTGCT	184
JUH	GAGCCTGTTCTATAATCGATAAACCCCGATA AAACCTCACCAAT TCTTGCT	467
BIVALY	GAGCCTGTTCTATAATCGATAAACCCCGATA AAACCTCACCAAT TCTTGCT	184
SZARVASMARHA	AA- TACAGT CTATATACCGCCATCTTCAGCAAACCCTAAA-AA- GGAAA	231
KECSKE	AA- TACAGT CTATATACCGCCATCTTCAGCAAACCCTAAA-AA- GGAAA	231
JUH	AA- TACAGT CTATATACCGCCATCTTCAGCAAACCCTAAA-AA- GGAAA	515
BIVALY	AA- TACAGT CTATATACCGCCATCTTCAGCAAACCCTAAA-AA- GGAAA	231
SZARVASMARHA	AAAGTAAGCGT CAAT TATGATACATA AAAC CGTTAGGTCAAGGTGTAACCT	281
KECSKE	AAAGTAAGCGT CAAT TATGATACATA AAAC CGTTAGGTCAAGGTGTAACCT	281
JUH	AAAGTAAGCGT CAAT TATGATACATA AAAC CGTTAGGTCAAGGTGTAACCT	565
BIVALY	AAAGTAAGCGT CAAT TATGATACATA AAAC CGTTAGGTCAAGGTGTAACCT	281
SZARVASMARHA	ATGAAATGGGAAGAAATGGGCTACATTTCTAC ACCAAGAG-AATCAA-G	329
KECSKE	ATGAAATGGGAAGAAATGGGCTACATTTCTAC ACCAAGAG-AATCAA--	328
JUH	ATGGAGTGGGAAGAAATGGGCTACATTTCTAC ACCAAGAAA-ATTTAA--	612
BIVALY	ATGAAATGGGAAGAAATGGGCTACATTTCTAC ACCAAGAATACCCAA--	329
SZARVASMARHA	CACGAAAGTTATTTATGAAA-CCAATA CCAAAGGAGGATTTAGCAGTAAA	378
KECSKE	TACGAAAGCCATTATGAAA-TTAATG ACCAAGGAGGATTTAGCAGTAAA	377
JUH	TACGAAAGCCATTATGAAA-TTAATG ACCAAGGAGGATTTAGCAGTAAA	661
BIVALY	CACGAAAGTTATTTATGAAA TTAATA CCAAAGGAGGATTTAGCAGTAAA	379

Eredetvizsgálat tejből

12S rRNS PCR SSCP akrilamid gélen

- Tejhasznosítású fajok
- 12S rRNS
- Szarvasmarha, juh, bivaly: 2 fragmens
- Kecske: 8 fragmens



1. Szarvasmarha, 2. Bivaly, 3. Juh, 4. Kecske, 5. DNS mix

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

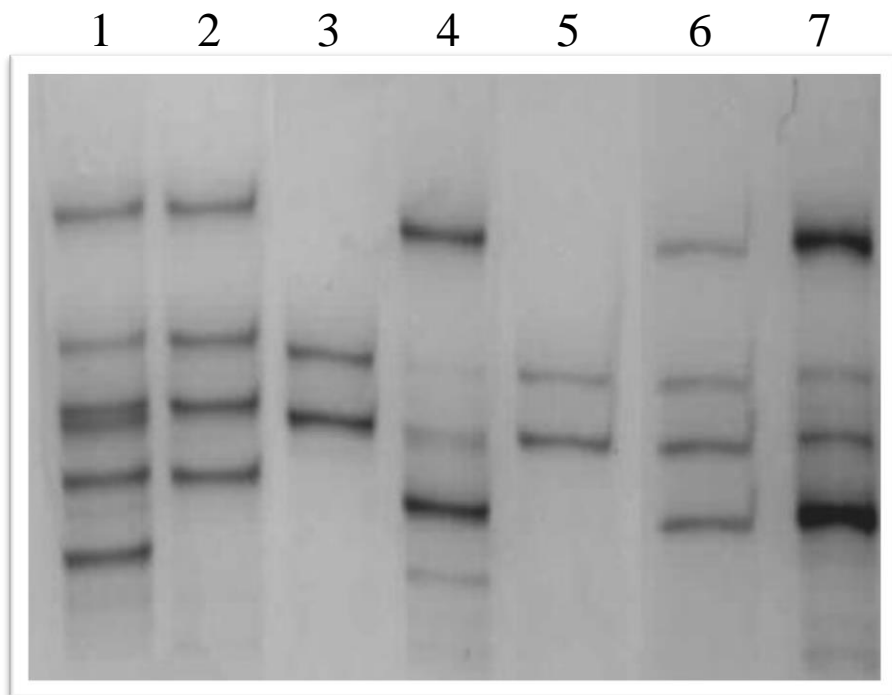
Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

Kereskedelmi forgalomba hozott tejtermékekből fajazonosítás PCR SSCP-vel



↑ ↑ ↑ ↑
Szarvasmarha DNS nem várt jelenléte

<i>Minta</i>	<i>Termékcímkén megjelenített faj</i>	<i>Vizsgálat eredménye</i>
1.	kecske	kecske, szarvasmarha
2.	juh	juh, szarvasmarha
3.	juh	juh
4.	kecske	kecske, szarvasmarha
5.	juh	juh
6.	juh, szarvasmarha	juh, szarvasmarha
7.	juh	juh, szarvasmarha

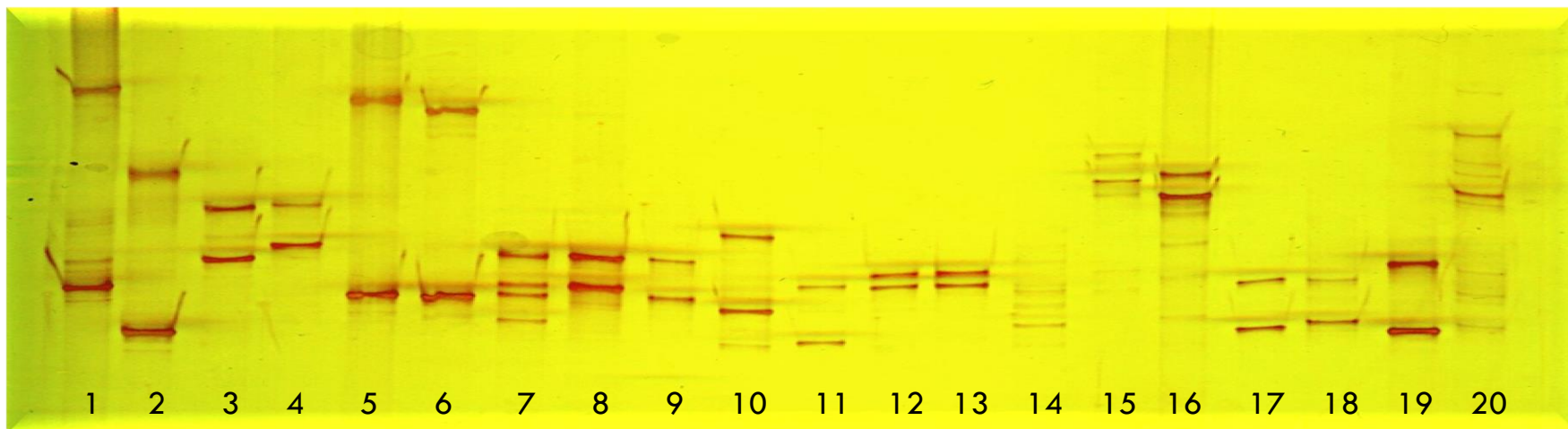
vizsgált génszakasz: 12S rRNS



18 faj azonosítása PCR SSCP alkalmazásával

- 17 állatfaj + ember elkülönítése a DNS szekvencia különbségekre alapozott konformáció-változással
- Házi sertés – vaddisznó; házi juh – muflon
- Mitokondriális DNS: 12S rRNS génje
- PCR egyszálú DNS konformáció polimorfizmus
- Felvett mintázat fajspecifikus
- DNS sávok száma elvileg különböző allélok * 2, DE ez inkább a minimumot jelenti

18 faj azonosítása PCR SSCP alkalmazásával



<i>Sorszám</i>	<i>Magyar név</i>	<i>Latin név</i>	<i>Sorszám</i>	<i>Magyar név</i>	<i>Latin név</i>
1.	Galamb	<i>Columba livia domestica</i>	11.	Bivaly	<i>Bubalis bubalis</i>
2.	Tyúk	<i>Gallus gallus</i>	12.	Juh	<i>Ovis aries aries</i>
3.	Gyöngytyúk	<i>Numida meleagris</i>	13.	Muflon	<i>Ovis aries orientalis</i>
4.	Pulyka	<i>Meleagris gallopavo</i>	14.	Kecske	<i>Capra hircus</i>
5.	Kacsa	<i>Anas platyrhynchos domestica</i>	15.	Ló	<i>Equus caballus</i>
6.	Némakacsa (pézsmaréce)	<i>Cairina moschata</i>	16.	Nyúl	<i>Oryctolagus cuniculus</i>
7.	Liba	<i>Anser anser</i>	17.	Gímszarvas	<i>Cervus elaphus</i>
8.	Sertés	<i>Sus scrofa domestica</i>	18.	Dámszarvas	<i>Dama dama</i>
9.	Vaddisznó	<i>Sus scrofa</i>	19.	Őz	<i>Capreolus capreolus</i>
10.	Szarvasmarha	<i>Bos taurus</i>	20.	Ember	<i>Homo sapiens</i>

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

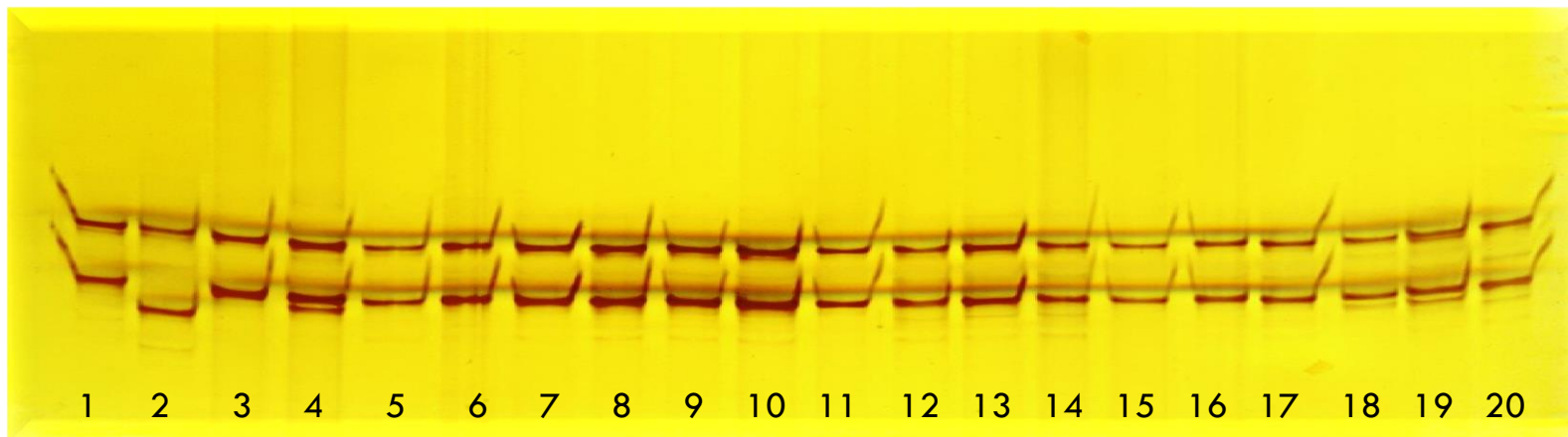


18 faj azonosítása PCR SSCP alkalmazásával

A módszer felhasználása kereskedelmi forgalomban lévő termékeknél

- 37 hústermék
- Többségük több faj termékének felhasználásával készült
- Különböző módon és mértékben hőkezelték
- Fűszerek, adalékanyagok, só felhasználásával
- Nyerstermék feldolgozása óta eltelt idő eltért

18 faj azonosítása PCR SSCP alkalmazásával



Sorszám	Minta neve	A címkére írt faj	Gélen kimutatott faj	Sorszám	Minta neve	A címkére írt faj	Gélen kimutatott faj
1.	Sertés		kontroll	11.	Sonka B	sertés	sertés
2.	Csirke		kontroll	12.	Sonka C	sertés	sertés
3.	Olasz felvágott	sertés	sertés	13.	Házi kolbász	sertés	sertés
4.	Szalámi A	sertés	sertés	14.	Debreceni	sertés	sertés
5.	Sonka A	sertés	sertés	15.	Csemege vastagkolbász	sertés	sertés
6.	Szalámi B	sertés	sertés	16.	Löncshús	sertés	sertés
7.	Sertésvirslisli	sertés	sertés	17.	Zala felvágott	sertés	sertés
8.	Sertéspárizsi	sertés	sertés	18.	Szárazkolbász	sertés	sertés
9.	Disznósajt	sertés	sertés	19.	Snack kolbász	sertés	sertés
10.	Bakonyi májas	sertés	sertés	20.	Sonka D	sertés	sertés

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

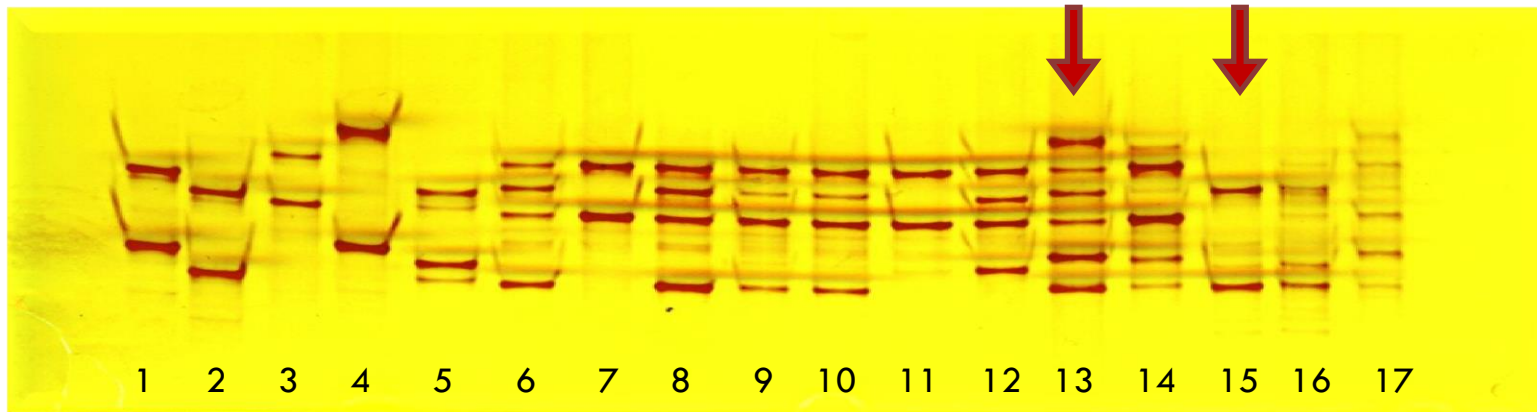
Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

18 faj azonosítása PCR SSCP alkalmazásával

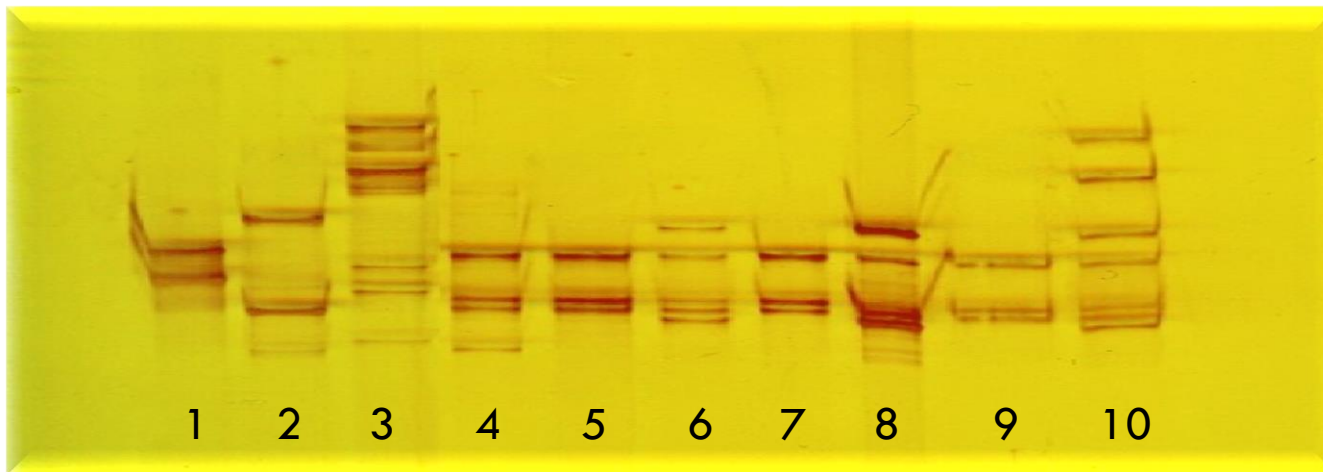


Sorszám	Minta neve	A címkére írt faj	Gélen kimutatott faj	Sorszám	Minta neve	A címkére írt faj	Gélen kimutatott faj
1.	Sertés		kontroll	10.	Pulykapárizsi B	pulyka	csirke, pulyka
2.	Csirke		kontroll	11.	Pulykapárizsi C	pulyka	pulyka
3.	Pulyka		kontroll	12.	Virslis B	pulyka, gyártási szalonna	pulyka, sertés
4.	Kacsa		kontroll	13.	Libamájás	liba, csirke, baromfi	csirke, pulyka, kacsa
5.	Liba		kontroll	14.	Baromfipárizsi	baromfi	csirke, pulyka, kacsa
6.	Csirkemell sonka	csirke	csirke, pulyka	15.	Baromfivirslis A	baromfi	csirke
7.	Pulykapárizsi A	pulyka	pulyka	16.	Baromfivirslis B	baromfi, sertésbőrkepép	csirke, pulyka, sertés
8.	Pulykamell sonka	pulyka	csirke, pulyka	17.	kacsamájás	baromfi, kacsamáj	kacsa, pulyka, csirke
9.	Virslis A	pulyka	csirke, pulyka				

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

18 faj azonosítása PCR SSCP alkalmazásával



Sorszám	Minta neve	A címkére írt faj	Gélen kimutatott faj	Sorszám	Minta neve	A címkére írt faj	Gélen kimutatott faj
1.	Sertés		kontroll	6.	szárazkolbász B	marha, sertés	marha, sertés
2.	Szarvasmarha		kontroll	7.	szalámi A	marha, sertés	sertés
3.	Ló		kontroll	8.	marhapárizsi	marha, sertés	marha, sertés
4.	sertés májkrém	sertés	sertés	9.	szalámi B	marha, sertés	sertés
5.	szárazkolbász A	sertés	sertés	10.	lókobász	ló, sertés	ló, sertés



DNS mutáción alapuló elválasztási grádiens technika alkalmazásával

1. Denaturáló Grádiens Gél Elektroforézis (DGGE)

2. Hőmérséklet Grádiens Gél Elektroforézis (TGGE)



Denaturáló Grádiens Gél Elektroforézis (DGGE)

A mutáció kimutatásának elve az összetételében grádiens denaturáló poliakrilamid gél

Jellemzői:

- kétszálú DNS
- gél tartalmaz denaturáló ágenst: ureát, formamidot
- lineárisan változik a dent. ágens koncentrációja
- a DNS tartalmaz olvadási (melting) doménokat
- állandó magas hőmérsékleten történik a futtatás



Denaturáló Grádiens Gél Elektroforézis (DGGE)

A mutáns és a vad típus elválasztása:

1. Mindkét PCR termék azonos sebességgel vándorol kezdetben (molekulatömeg szerint)
2. Meghatározott denaturáló ágens konc. és T (60 °C) megbontja a két DNS szálát
3. A kétszálú DNS **részlegesen egyszálúvá** válik
4. Ez a változás lelassítja a fragmens futási sebességét

*A PCR termék olvadási hőmérsékletét a bázissorrendje határozza meg.
Már egy SNP eltérés is hatással van az olvadási pont elérésére.*



Denaturáló Grádiens Gél Elektroforézis (DGGE)

A módszer pontossága és érzékenysége speciális szakasz csatolásával javítható!

„GC clamp”

‘5 GCGCGGCGGCCCGGCGCGGGCGCCGGCCGGCATGCTGATTACCTAGTAT ‘3



normál oligo

Jellemzője:

- magas T_m
- 35-50 bázis
- stabil
- bevitele: speciális oligoval a PCR során

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME





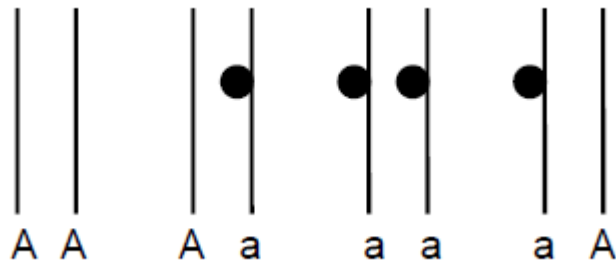
Hőmérséklet Grádiens Gél Elektroforézis (TGGE)

A mutáció kimutatásának elve a hőmérséklet grádiens denaturáló poliakrilamid gél

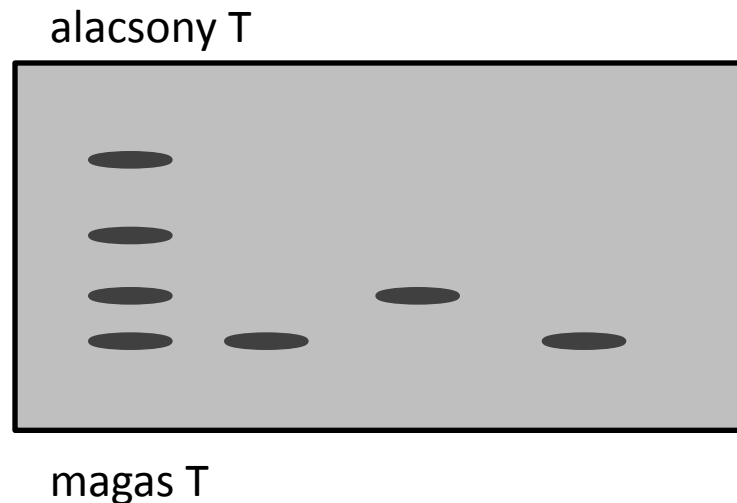
- A PCR termék által felvett alak szekvenciafüggő
- másodlagos, harmadlagos szerkezetet befolyásolja:
sókoncentráció, pH, hőmérséklet, egyéb külső tényezők
- a konformáció a hidrogénhidak meglétének/felbomlásának a függvénye
- alkalmazhatósága, érzékenysége megfelel a DGGE, SSCP módszereknek

Hőmérséklet Grádiens Gél Elektroforézis (TGGE)

Az „A” és az „a” allél szekvenciában különbözik egymástól



Heteroduplex Aa
Heteroduplex aA
Homoduplex aa
Homoduplex AA



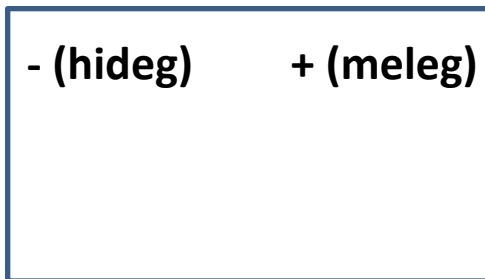
Hőmérséklet Grádiens Gél Elektroforézis (TGGE)

Függőleges TGGE

- a hőmérséklet grádiens merőleges az elektroforézis irányára
- több minta futtatása
- mutációk keresése
- szűk hőmérséklet tartomány

párhuzamos TGGE

- optimalizálás
- olvadási pont keresése
- jellemzően egy mintával történik
- széles hőmérséklet tartomány



-
elektroforézis
+



Hasonló DNS technikák SNP detektáláshoz

- **Kétdimenziós gén scannelés**

TDGS: two dimensional gene scanning

első dimenzió: DNS fragmentek méret szerinti szeparálása gélen

második dimenzió: DGGE

- **Kettős grádiens denaturáló grádiens gél elektroforézis**

DG-DGGE: double gradient, denat. gradient gel electroph.

első grádiens faktor: formamid, urea

második grádiens faktor: poliakrilamid gél koncentrációja

- **Mikrohőmérséklet grádiens gél elektroforézis**

μ TGGE: micro temperature gradient gel electrophor.

kis méretű gél, rövid futtatási idő, kis DNS mennyiség – ha bármelyik limitált!



Hasonló DNS technikák SNP detektáláshoz

- **Időben változó hőmérséklet grádiens gél elektroforézis**
TTGE: temporal temperature gradient gel electrophoresis
denaturáló ágens koncentrációja állandó
elektroforézis alatt a hőmérséklet foly. Növekszik
- **Konstans denaturáló grádiens gél elektroforézis**
cDGGE: constant denat. gradient gel electroph.
olyan mint a DGGE, azonban a denaturáló ágens koncentrációja állandó
jobb felbontást tesz lehetővé (bizonyos körülm. között)
- **Multiplex grádiens gél elektroforézis**
multiplex DGGE
számos DNS szakaszt vizsgál egyetlen poliakrilamid gélen DGGE módszerrel



Tőkehalajok elkülönítése

SSCP és DGGE alkalmazhatóságának tesztelése

Kísérlet, kondíciók

8 tőkehal faj

Mitokondriális citokróm b gén

Ugyanazon primerpár – DGGE-nél megnyújtva GC clamp-el

Ugyanazon PCR termék

Poliakrilamid gél

Eredmény

SSCP: 4 faj azonos mintázatot adott

DGGE: minden faj különböző mintázatot adott



Importált hal földrajzi eredetének meghatározása PCR DGGE metodikával

Kísérleti körülmények

Halfaj: Pangasius

Mintavétel helye: Vietnam

Vizsgált gén: 16S rDNS (baktérium)

Genom: a halban élő baktérium fajok

Módszer: PCR DGGE

Elkülönítés:

-Földrajzi eredet (farm, régió)

-Száras és esős évszak



Importált hal földrajzi eredetének meghatározása PCR DGGE metodikával

Eredmények

1. Mintánként 8-12 DNS sáv (baktérium kolónia)
2. Több sáv azonos minden régió halmintájában
3. Ugyanazon tóból, ua. évszakban vett minták mindegyike azonos mintázatot adott
4. Azonos körzetben lévő tavakból származó minták mintázata nagy mértékben hasonlított (clustereket lehetett képezni)
5. Az évszak befolyásolta a DGGE mintázatot (de a domináns mintázatok, sávok, megmaradtak)
6. Az évszak hatása kisebb volt, mint a földrajzi régió hatása



Két halfaj termékének azonosítása SNP detektálással DGGE poliakrilamid gélen

Fajok: lazac, szivárványos pisztráng

Hamisítás oka: a drágább lazachúst olcsóbb pisztránggal hamisítják

DNS vizsgálat szükségessége: a lazachús sötétebb, azonban a pisztráng takarmányába astaxanthint adnak, ami a húst és a halbőrt is sötétebbre színezi

Gén: mitokondriális citokróm b gén

Eredmény: egy határozott és egy gyenge DNS fragment mindkét fajnál mindkettő eltérő futási képpel

Érzékenység: 20%-os pisztráng DNS jelenléte 100%-os biztonsággal kimutatható

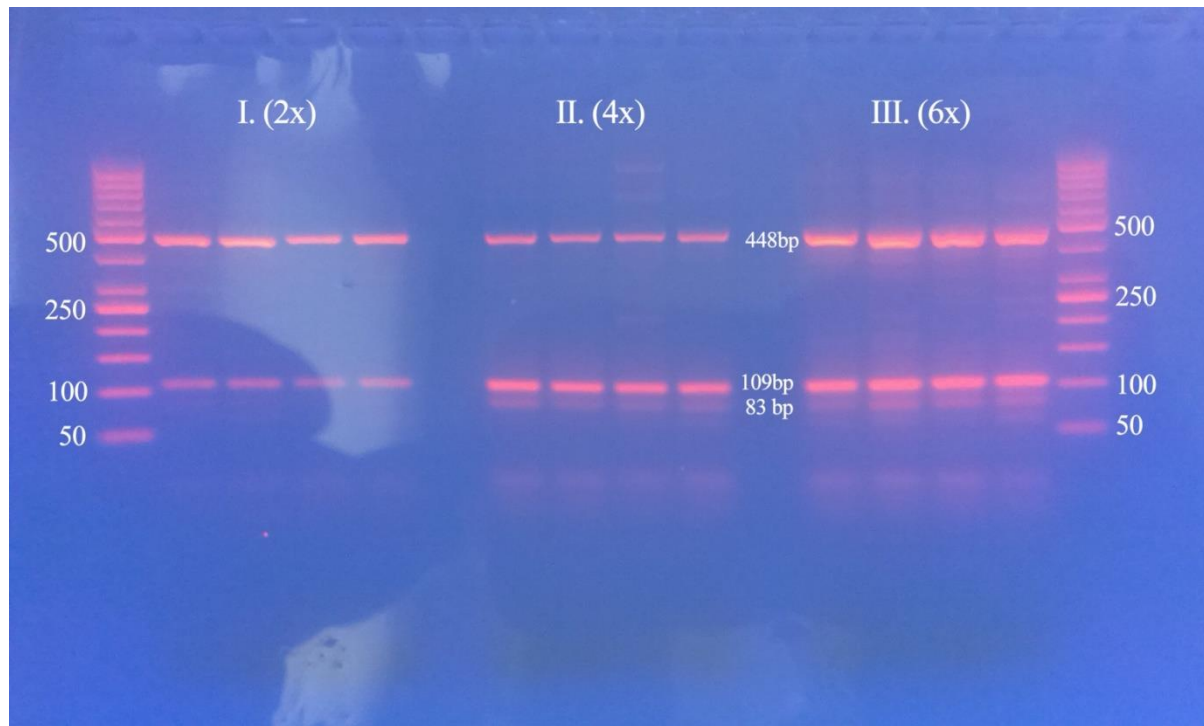


Technikai megvalósítás nehézségei – troubleshooting

- problémák
- megoldási lehetőségek
- összefüggések felismerése

A PCR reakció összeállítása és a különböző DNS fragmentek megjelenése

MC1R e
deléció
detektálása
heterozigóta
egyedekben

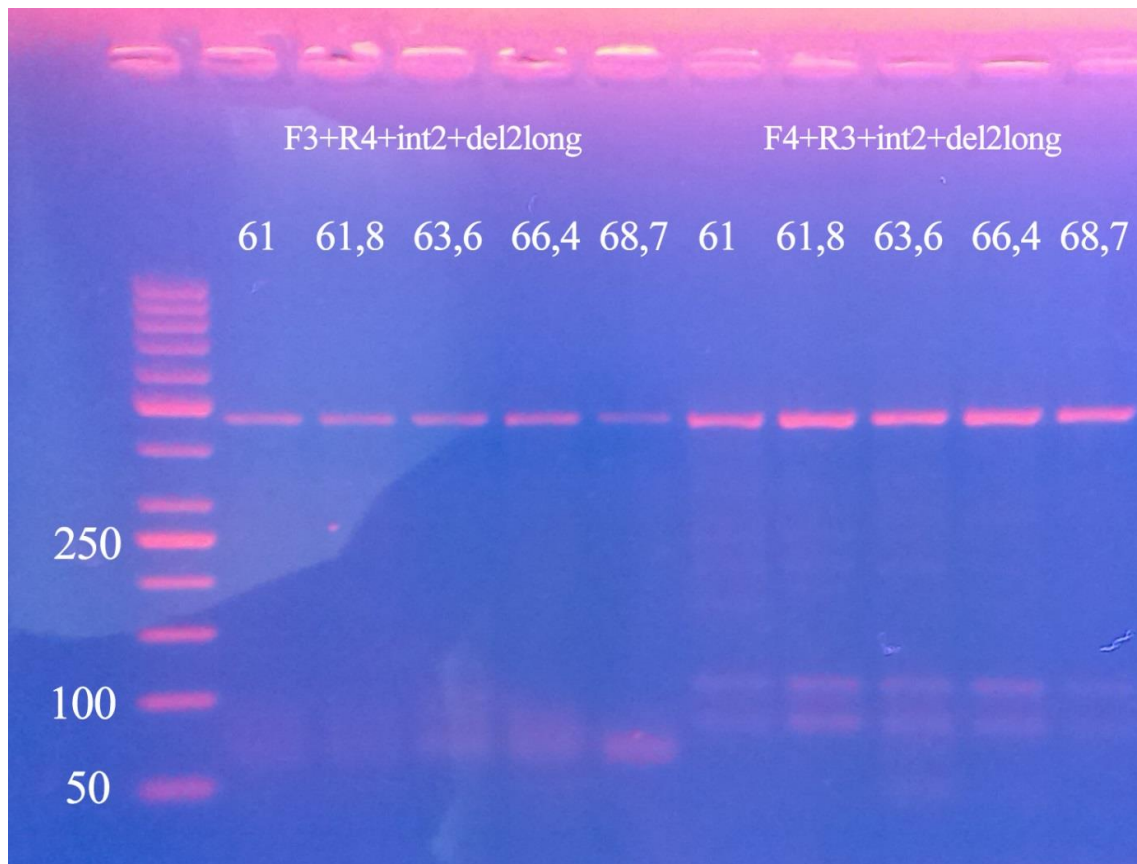


	I.(2x)	II.(4x)	III.(6x)
F4	0,15 pmol/μl	0,3 pmol/μl	0,45 pmol/μl
R3	0,075 pmol/μl	0,075 pmol/μl	0,075 pmol/μl
int2	0,15 pmol/μl	0,3 pmol/μl	0,45 pmol/μl
del2long	0,15 pmol/μl	0,3 pmol/μl	0,45 pmol/μl



Feltapadási hőmérséklet hatása a reakció hatásfokára és az SNP detektálásra

MC1R e
deléció
detektálása
heterozigóta
egyedekben



Az ideális T_m megtalálása kritikus pont



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

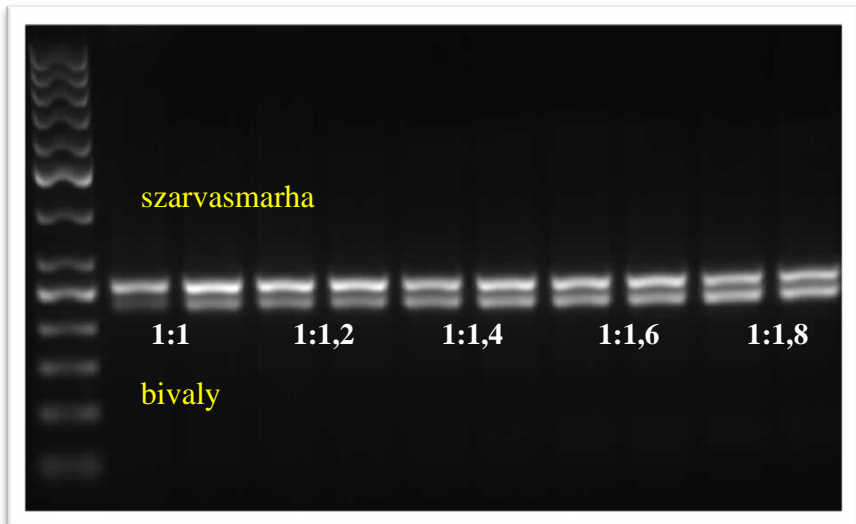
Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638

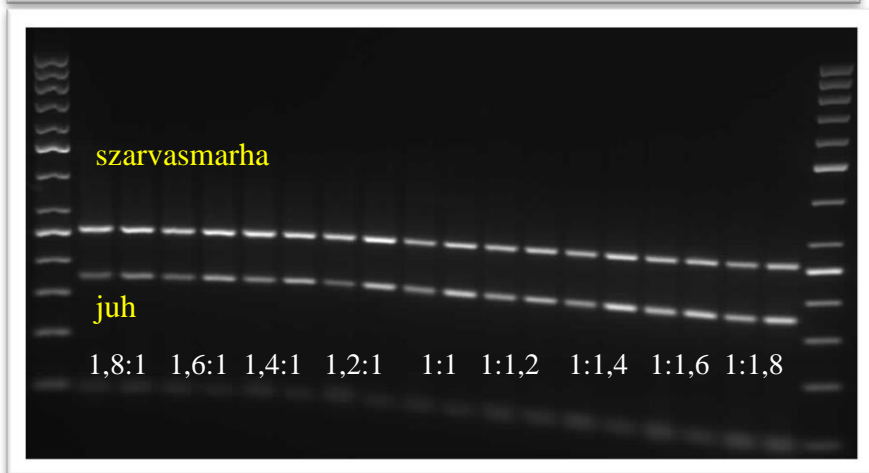


A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

Oligo arányok optimalizálása azonos termékintenzitáshoz



- AS PCR reakció
- szarvasmarha:bivaly primerarányok
- templát: szarvasmarha és bivaly mitokondriális DNS azonos anyagmennyiségben



- AS PCR reakció
- szarvasmarha:juh primerarányok
- templát: szarvasmarha és juh mitokondriális DNS azonos anyagmennyiségben

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

DNS módszerek és kimutatási érzékenység

módszer	kimutatási határ	szerző
Multiplex PCR, fajspecifikus oligokkal	0.5% v/v tej 0.125ng DNS	Bottero et al., 2003
TaqMan PCR	2% v/v tej norm. szomatikus sejtszámra	Dalmasso et al., 2011
PCR fajspecifikus oligokkal	tej és sajt v/v 0.1%	Lopez et al., 2005
TaqMan PCR	0.5% szarvasmarha DNS	Lopez et al., 2007a
Fajspecifikus oligo (PCR)	1% v/v tej	Lopez et al., 2007b



DNS módszerek és kimutatási érzékenység

módszer	kimutatási határ	szerző
PCR fajspecifikus oligo	0.25ng DNS	Matsunaga et al., 1999
PCR RFLP	0.5% v/v	Plath et al., 1997
simplex, duplex PCR	0.1% v/v 0.1 ng DNS	Sachinandan et al., 2011
TaqMan probe	0.035 pg DNS	Zhang et al., 2007

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME



Témakörhöz kapcsolódó kérdések

- Mi a jellemző az SSCP metodikára?
- Mikor válasszuk a PCR heteroduplex analízis kimutatást?

Felhasznált és ajánlott irodalom

Hayashi K (1991): PCR-SSCP: a simple and sensitive method for detection of mutations in the genomic DNA. *Genome Res.* 1. 34-38.

Wallace A. J. (2002): PCR Mutation Detection Protocols, *Methods in Molecular Biology*. Volume 187, 2002, 151-163

Green S. J. (2005): A Guide to DGGE. Version 2. web published. 1-32.

Nguyen et al. (2008): Determination of fish origin by using 16S rDNA fingerprinting of bacterial communities by PCR-DGGE: An application on Pangasius fish from Viet Nam. *Food Control* 19. 454–460.

Comi et al. (2005): Molecular methods for the differentiation of species used in production of cod-fish can detect commercial frauds. *Food Control* 16. 37–42.

Zhang et al. (2007): The application of DGGE and AFLP-derived SCAR for discrimination between Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Food Control* 18 . 672–676.

Patrinos G. P., Ansorge J. W. (2010): *Molecular diagnostics*. Second Edition. 75-86.

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



DEBRECENI EGYETEM



Gyakorlati megoldások DNS alapú élelmiszer-vizsgálatokkal

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

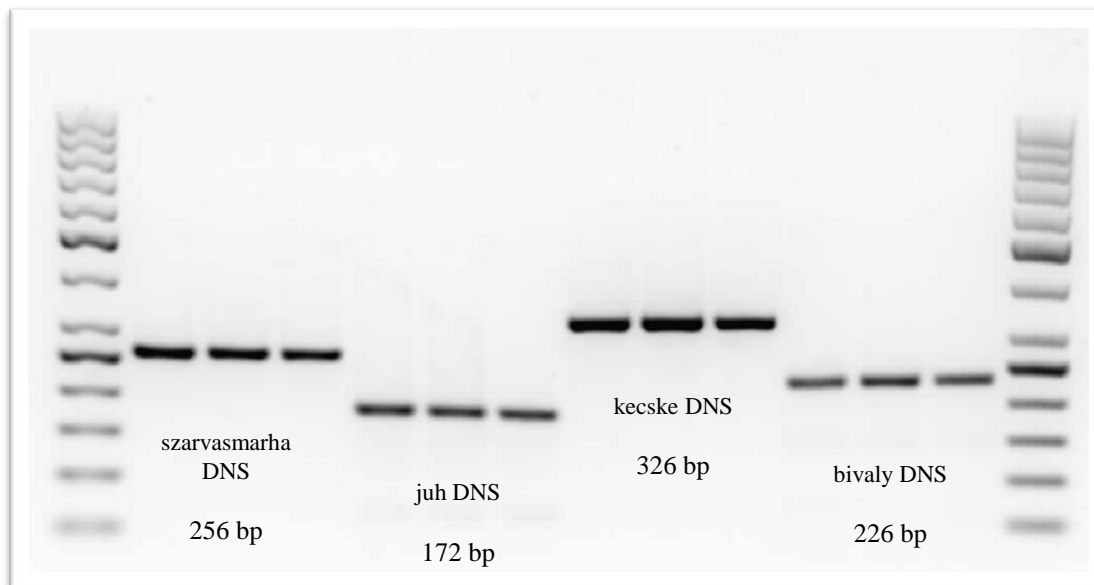


Az előadás vázlatja

- Konkrét DNS kimutatási vizsgálati módszerek elemzése, értékelés, megvitatása

- Metodikák: PCR RFLP, PCR SSCP, multiplex PCR, AS PCR

Allélspecifikus primerekkel végzett PCR reakció (simplex PCR)

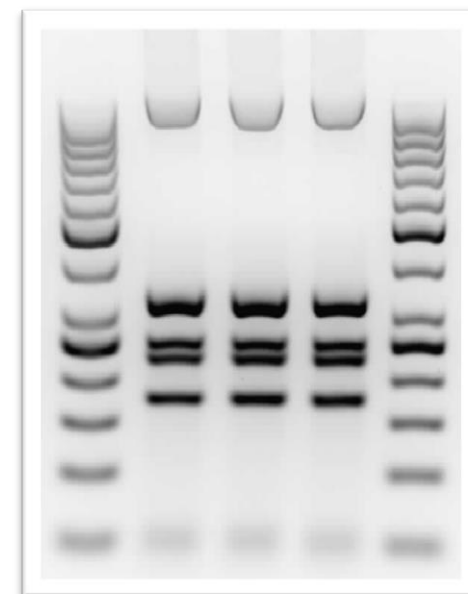


Szekvenciák:

- 12S rRNS
- 16S rRNS
- D-loop

4 faj, 4 primerpár, egy PCR:

Multiplex PCR

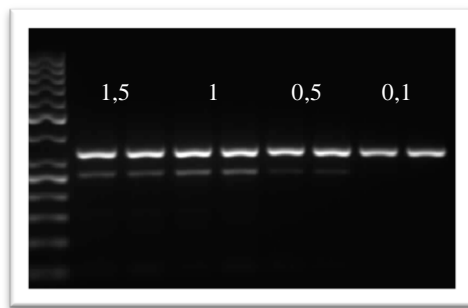
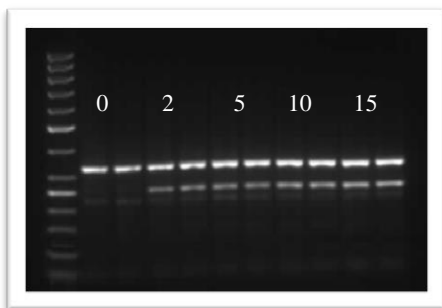


TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Duplex AS PCR kimutatási határa

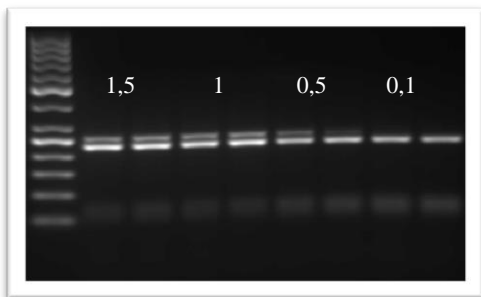
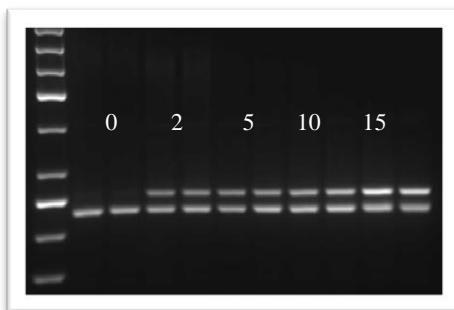
kecske/szarvasmarha tejkeverék (v/v%)



A reakció:

- azonos tejmennyiség
- optimalizált primerarány
- eltérő SSC !!

bivaly/szarvasmarha tejkeverék (v/v%)

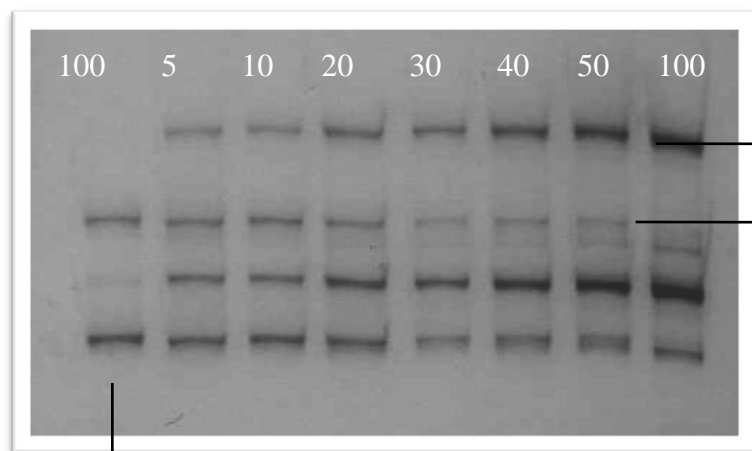


**A tej arányának növekedése
lineáris a gélképen?**

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Kvantifikálási lehetőségek (SSCP, 12S rRNS) tej szomatikus sejtekből izolált DNS-el

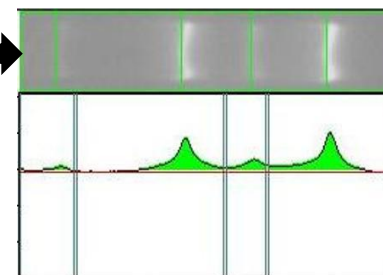
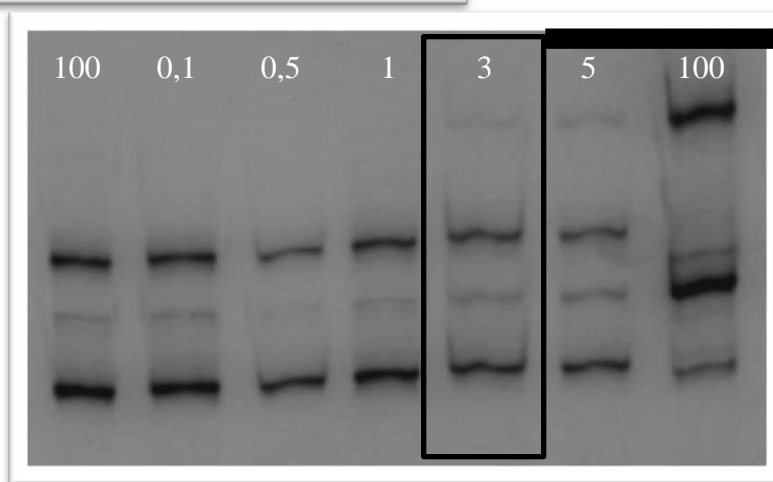


Szarvasmarha

Bivaly

bivaly

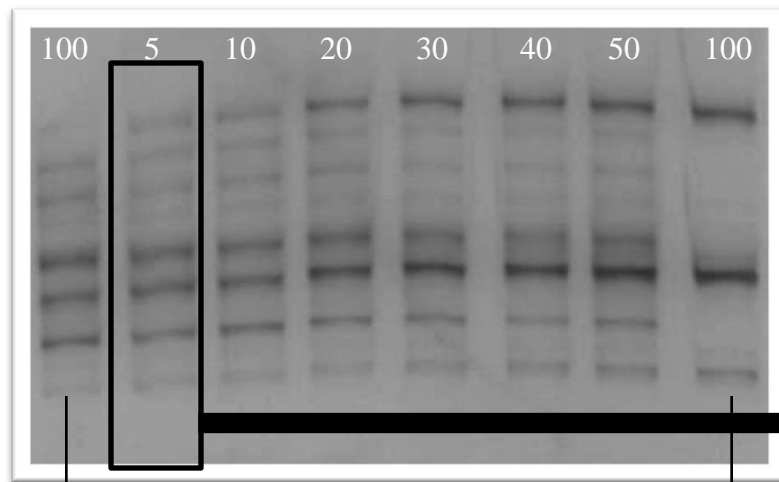
**Kvantifikálás?
vagy
Kimutatási határ?**



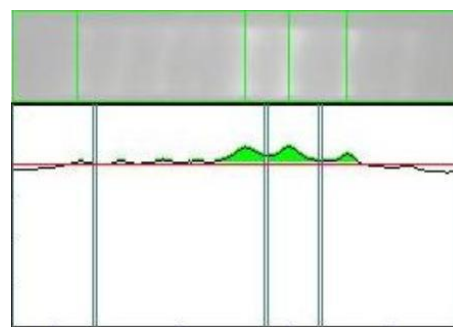
TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Kvantifikálási lehetőségek (SSCP, 12S rRNS) tej szomatikus sejtekből izolált DNS-el

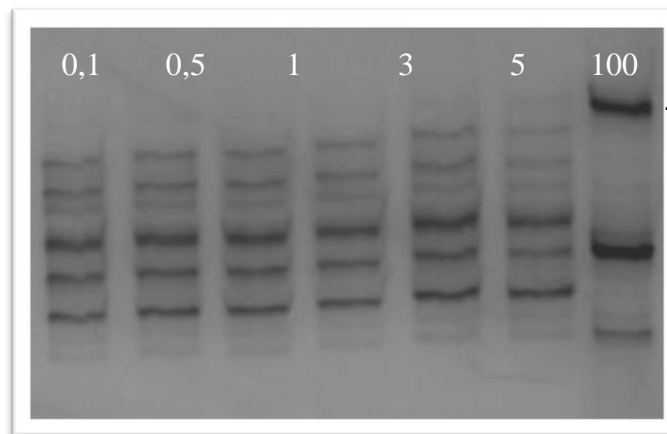


Sávintenzitás: 3,6%



kecske

szarvasmarha



szarvasmarha

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

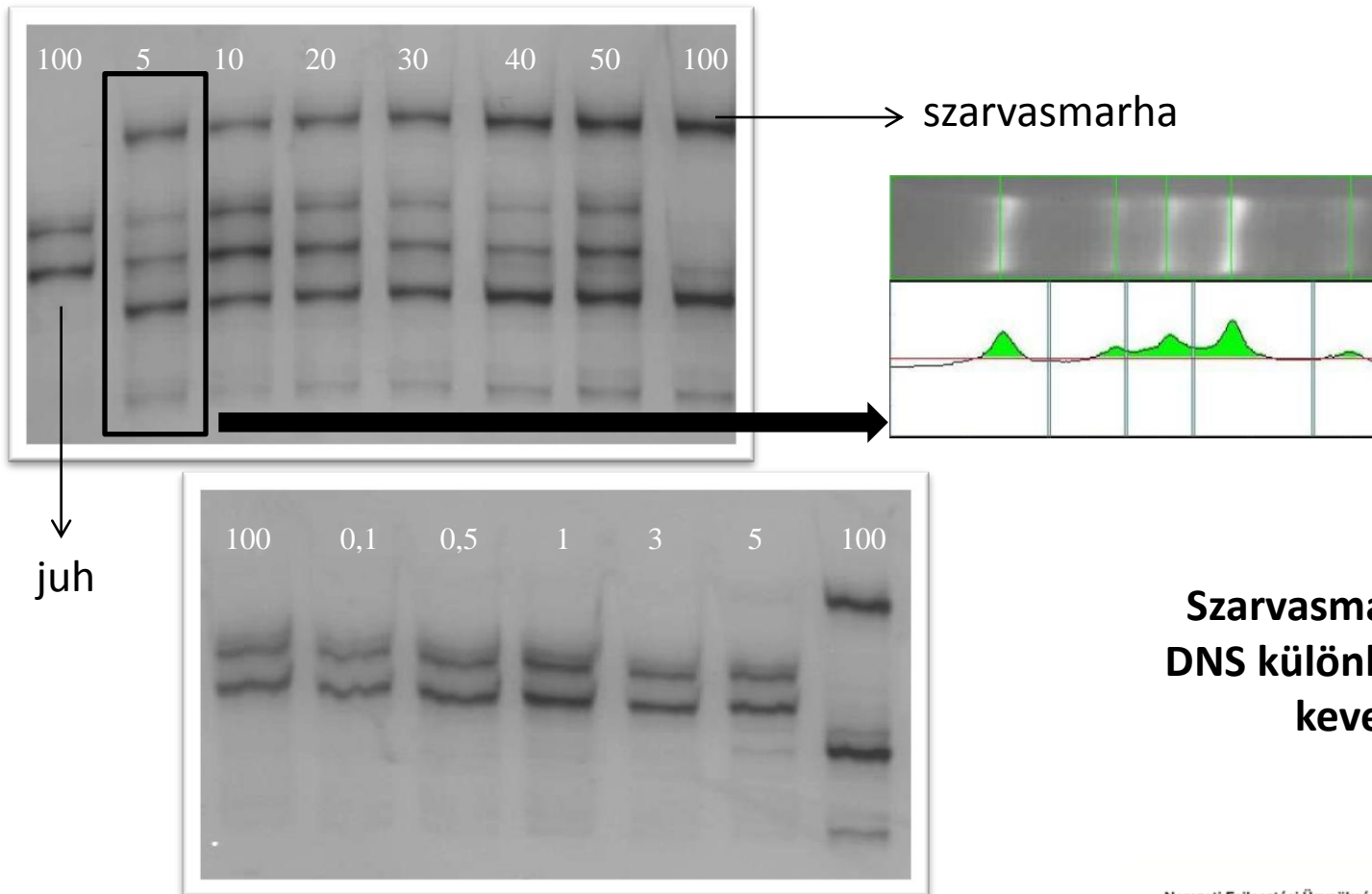
Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszecenytterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

Kvantifikálási lehetőségek (SSCP, 12S rRNS) tej szomatikus sejtekből izolált DNS-el



**Szarvasmarha és juh
DNS különböző arányú
keveréke**

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszecenytterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



A módszer elve, alkalmazása

Metodika: PCR-RFLP

Vizsgált régió: mitokondriális citokróm b gén

Vizsgált fajok: alaszakai sárga tőkehal, csendes-óceáni tőkehal, atlanti tőkehal

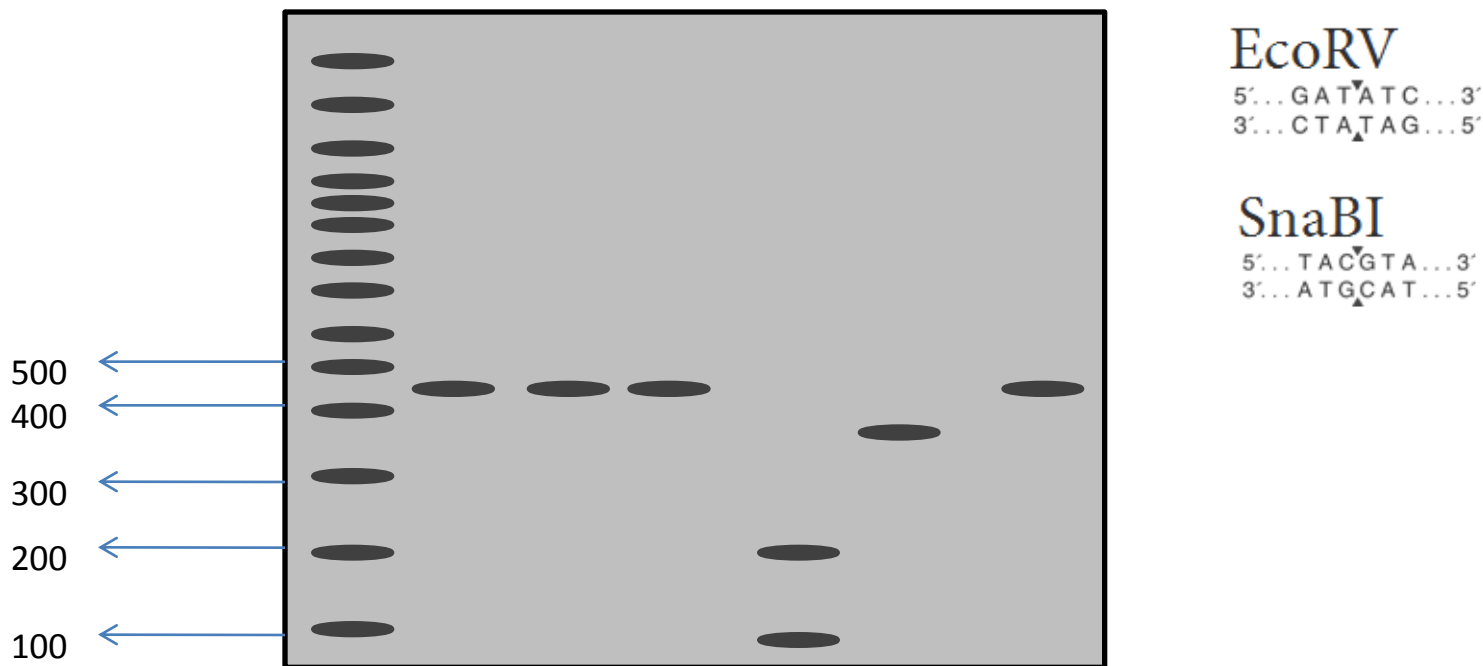
Felhasznált restrikciós endonukleázok:

Eco32I (EcoRV), Eco105I (SnaBI)

Eredmények:

3 fragment az alaszakai sárga tőkehalnál,
2 fragment a csendes-óceáni tőkehalnál,
nincs fragment az atlanti tőkehalnál

Tőkehalra tervezett univerzális primerekkel végzett PCR reakció kettős restriktációs endonukléázzal (*Eco32I*, *Eco105I*) történt emésztés után



Aranishi et al; 2005

M.: 100 bp létra

1.: alaskai tőkehal

2.: csendes-óceáni tőkehal

3.: atlanti tőkehal

4.: alaskai tőkehal

5.: csendes-óceáni tőkehal

6.: atlanti tőkehal

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

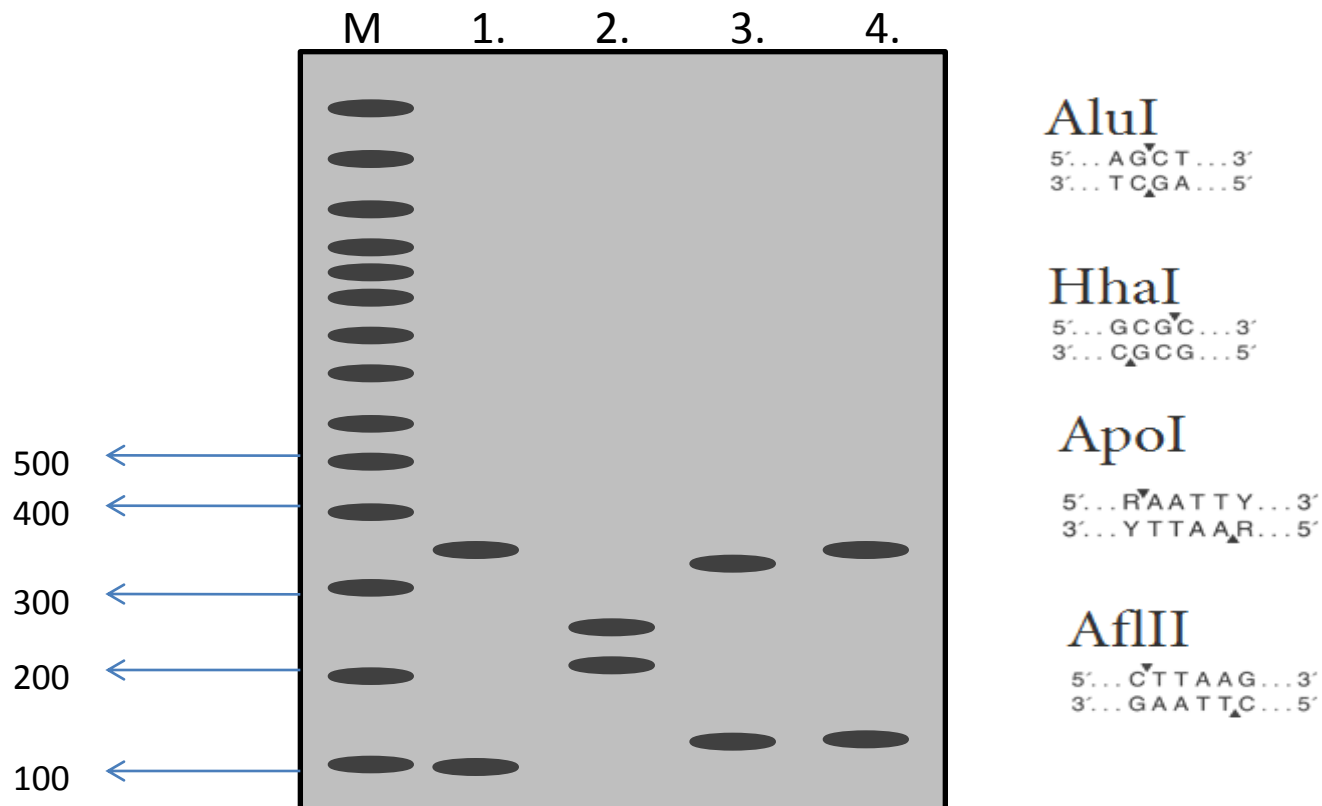
Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME



A módszer elve, alkalmazása

Metodika:	PCR-RFLP
Vizsgált génszakasz:	mitokondriális 12S rRNS gén
Vizsgált fajok:	szarvasmarha, bivaly, juh, kecske.
Felhasznált restrikciós endonukleázok:	Alul, HhaI, AhoI, BspTI
Eredmény:	fajonként különböző méretű restrikciós fragmentek jöttek létre

Négy kérődző faj restriktions gélképe. PCR univerzális primerekkel



M: 100 bp létra

1.: Szarvasmarha

2.: Bivaly

3.: Juh

4.: Kecske

Girish et al.; 2005

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME



A módszer elve, alkalmazása

Metodika: négy faj elkülönítése multiplex-PCR reakcióval
(fajspecifikus primer)

Előnye: egy lépéses, költség- és időtakarékos.

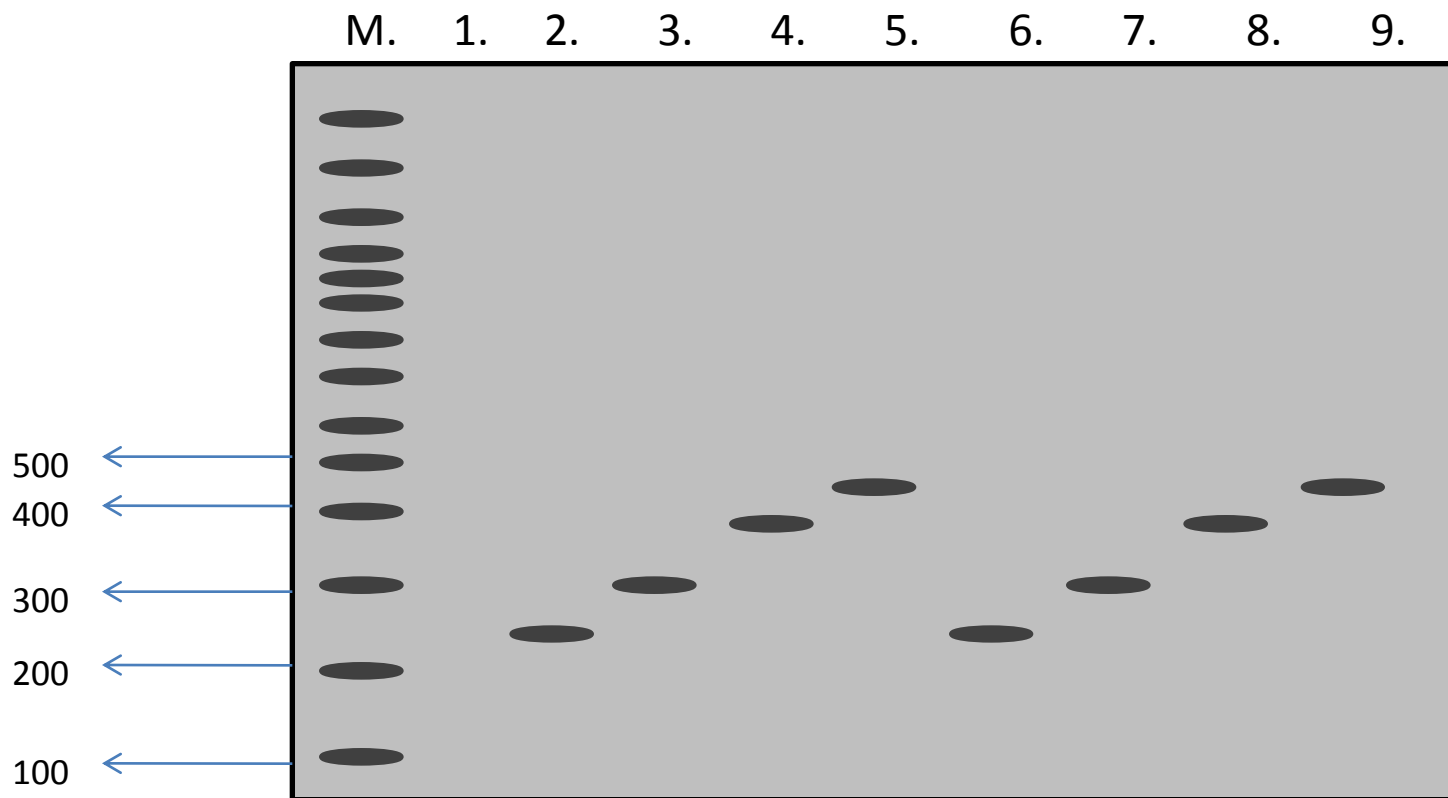
Vizsgált szakasz: mitokondriális citokróm b gén

Vizsgált fajok: házi tyúk, szarvasmarha, sertés, ló

Eredmény: különböző hosszúságú DNS fragmentek



Fajspecifikus primerekkel végzett PCR reakció agaróz gélelektroforetikus gélképe



M.: 100 bp létra

1.: Negatív kontroll

2-5.: CF és fajspecifikus primerek

6-9.: CF, CP és fajspecifikus primerek

2, 6.: csirke 4, 8.: sertés

3, 7.: szarvasmarha 5, 9.: ló

Bai et al.; 2009

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



A módszer elve, alkalmazása

Metodika: 3 állatfaj elkülönítése multiplex-PCR reakció során

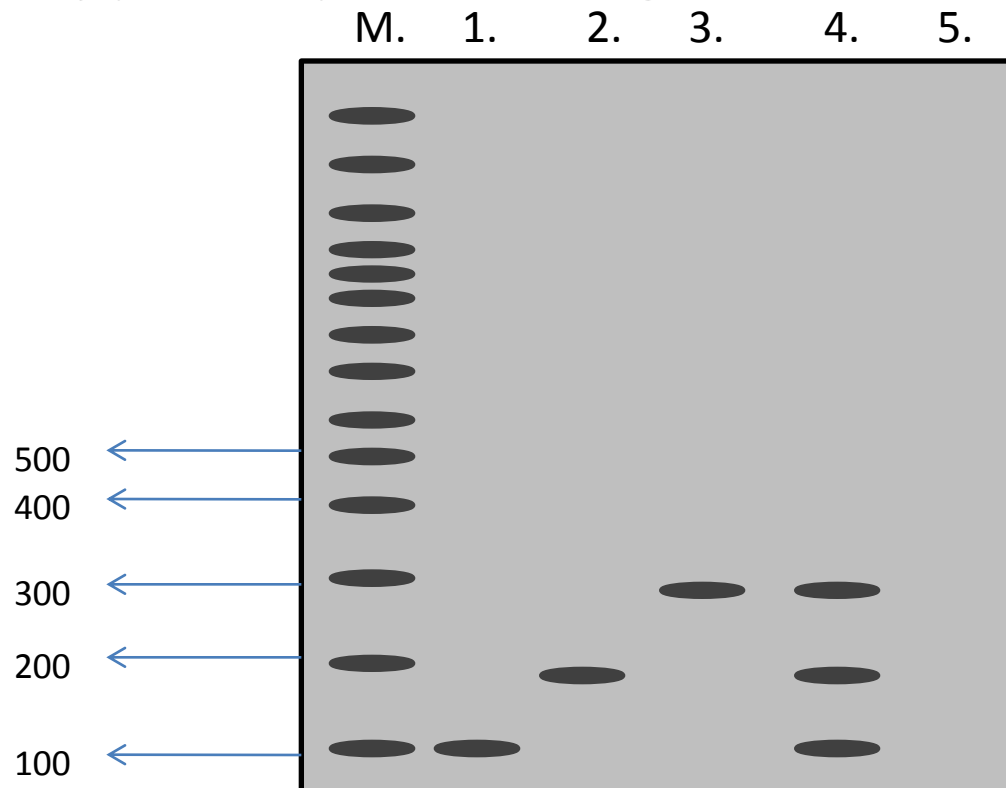
Vizsgált szakasz: mitokondriális 12S rRNS, 16S rRNS és tRNS-Val gének

Vizsgált fajok: szarvasmarha, házi tyúk, sertés

Eredmény: különböző méretű fajspecifikus fragmentek



Nyers húsok agaróz gélelektroforetikus képe Fajspecifikus primerekkel végzett PCR reakció



Ghovvati et al.; 2009

M.: 100 bp létra

3.: sertés

1.: szarvasmarha

4.: 3 faj DNS-e együtt

2.: csirke

5.: negatív kontroll

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME





A módszer elve, alkalmazása

Metodika: AS PCR - fajspecifikus primerekkel végzett PCR reakcióval

Vizsgált szakasz: mitokondriális D-loop és citokróm b gén

Vizsgált fajok: házi tyúk, kacska, galamb és sertés

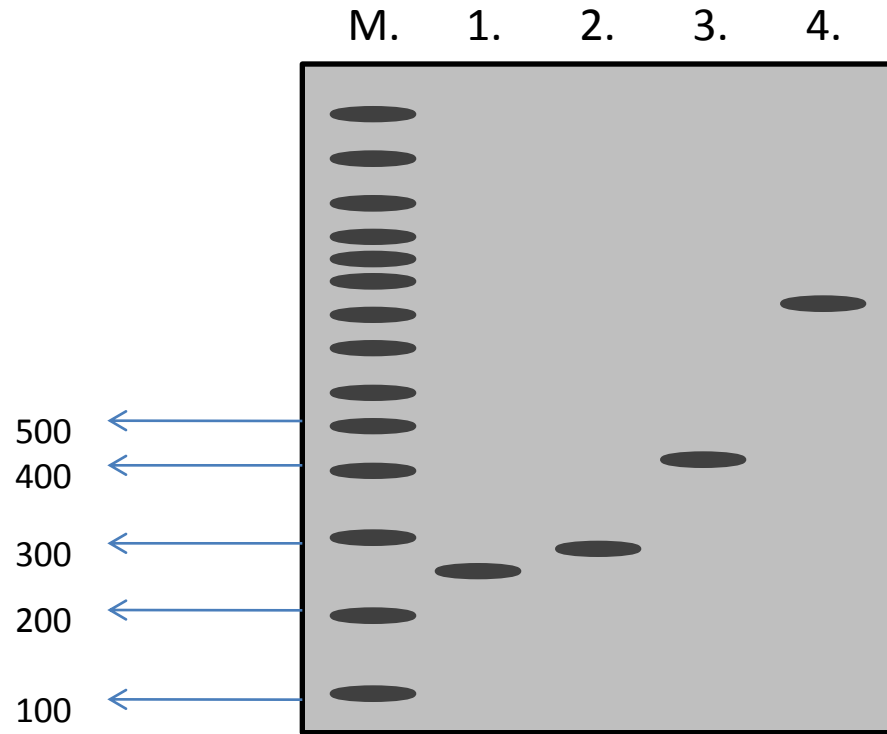
Eredmény: méret szerinti differenciálás



Mitokondriális gének PCR amplifikációja

Házi tyúk, házi kacsa, galamb - cytochrome b

Sertés - D-loop régió



Haunshi et al.; 2009

M.: 100 bp létra

2.: kacsa

4.: sertés

1.: csirke

3.: galamb

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

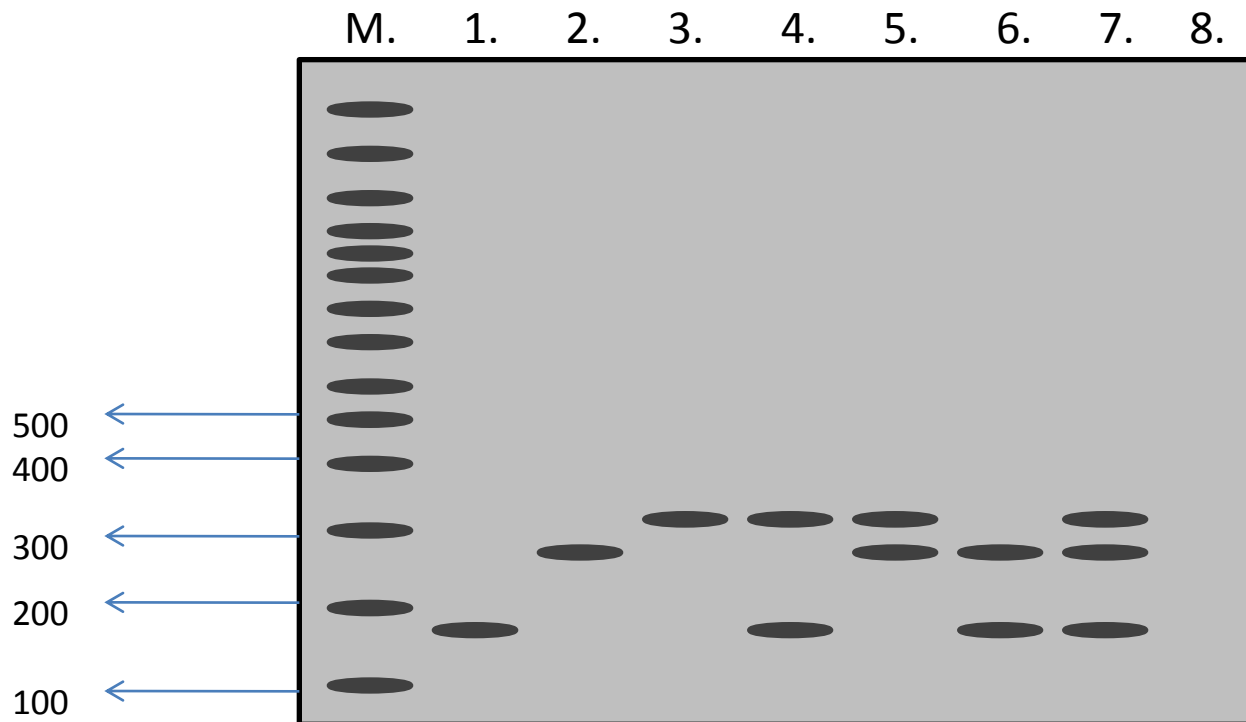




A módszer elve, alkalmazása

- Methodika: Multiplex-PCR reakcióban tehén, kecske és juhtejek és tejtermékek azonosítása
- Vizsgált szakasz: 12S rRNS és 16S rRNS mitokondriális gének
- Vizsgált minták: 8 tehén, 31 kecske és 24 juh vérminta kontrollként; tehén, juh és kecske sajtok
- Eredmény: a három faj sikeresen elkülönült multiplex-PCR reakcióban

Multiplex PCR 12S és 16S gének amplifikálásával



Bottero et al.; 2003

M.: 100 bp létra

1.: juh tej

2.: tehéntej

3.: kecske tej

4.: juh és kecske tej (1:1 arányban)

5.: tehén és kecske tej (1:1)

6.: juh és tehéntej (1:1)

7.: juh, kecske és tehéntej (1:1:1)

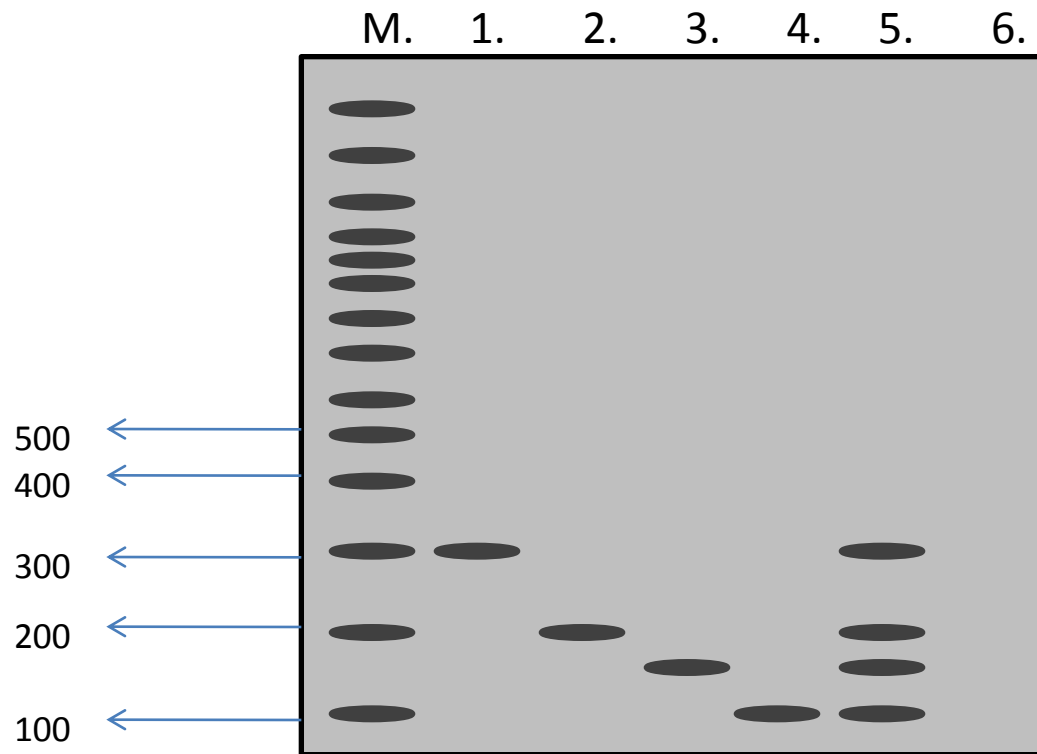
TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME



A módszer elve, alkalmazása

- Metodika: Multiplex-PCR reakcióban négy faj elkülönítése fajspecifikus primerekkel
- Vizsgált szakasz: mitokondriális tRNS-Val és 16S rRNS gének
- Vizsgált fajok: szarvasmarha, juh, sertés és baromfi
- Eredmény: a négy faj sikeresen elkülöníthető volt egymástól egy reakcióban

Fajspecifikus PCR termékek agaróz gélelektroforetikus képe



Zha et al.; 2010

6.: negatív kontroll

3.: csirke

4.: szarvasmarha

5.: 4 faj DNS-e együtt

1.: sertés

2.: juh

M.: 100 bp létra

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME



A módszer elve, alkalmazása

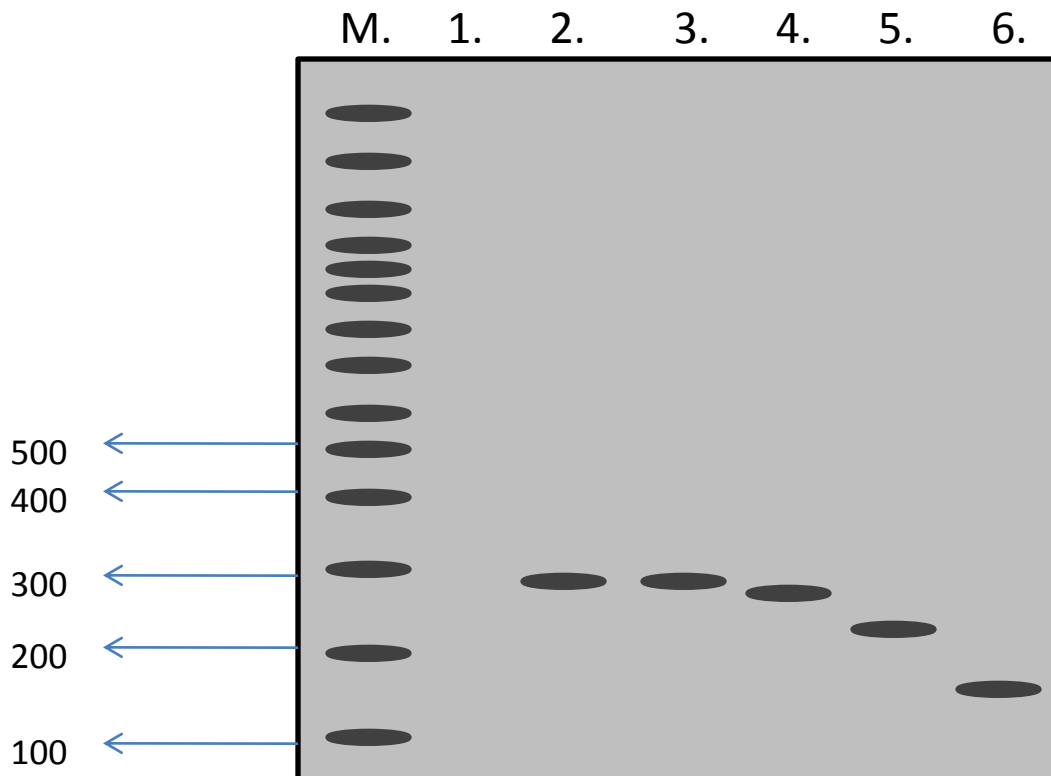
Metodika: PCR-RFLP módszerrel kereskedelmi forgalomból származó hústermékekből hat faj kimutatása

Vizsgált szakasz: mitokondriális citokróm b gén

Vizsgált fajok, termékek: szarvasmarha, juh, sertés, csirke, szamár, ló;
224 hústermék (kolbász, virsli, hamburger, sonka, felvágott)

Eredmények: a fajok az alkalmazott módszerrel elkülöníthetőek, a termékek 7,58%-a tartalmazott nem megfelelő eredetű húst

Fajspecifikus primerekkel végzett PCR reakció



Doosti et al.; 2011

M.: 100 bp létra

3.: szarvasmarha

6.: sertés

1.: negatív kontroll

4.: csirke

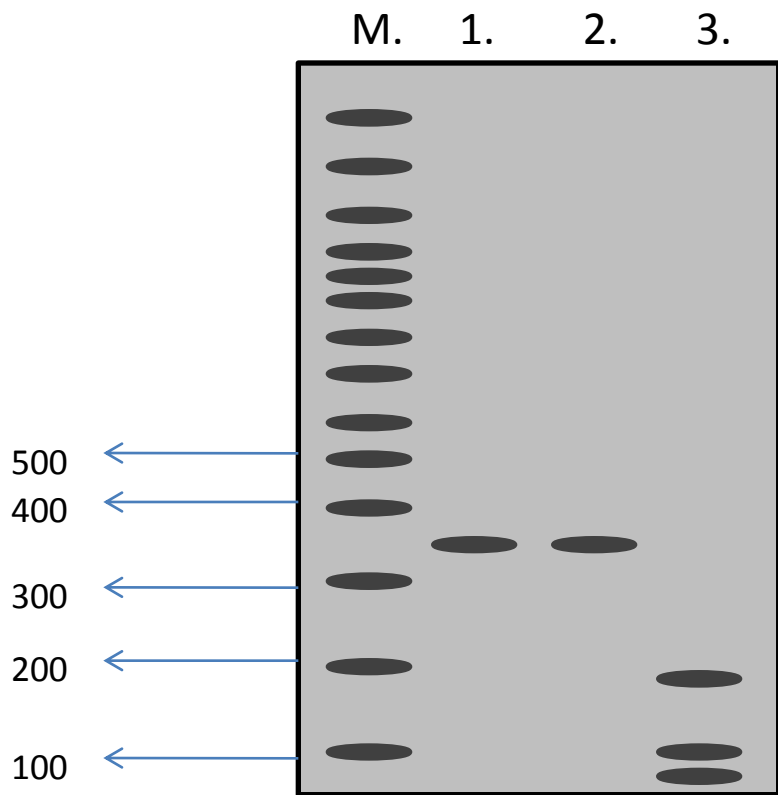
2.: juh

5.: szamár és ló

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME



A ló és a szamár elkülönítéséhez végzett PCR RFLP AluI enzimmal



Doosti et al.; 2011

M.: 100 bp létra
1.: hasítatlan fragment

2.: szamár
3.: ló (hasított)

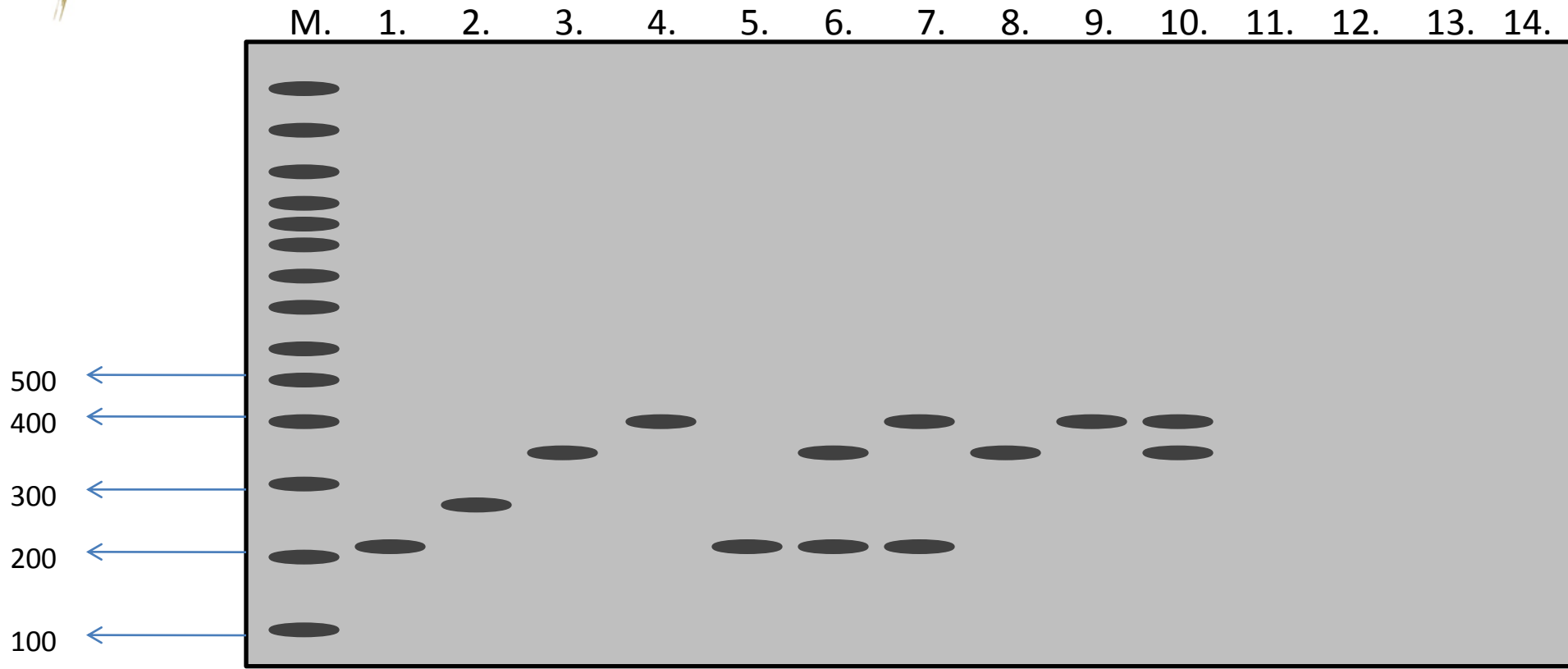
TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME



A módszer elve, alkalmazása

- Metodika: Négy faj elkülönítése hústermékekből multiplex-PCR reakcióban
- Vizsgált szakasz: mitokondriális citokróm b gén
- Vizsgált fajok: csirke, szarvasmarha, juh, sertés
- Eredmény: a fajokra különböző méretű termékek jellemzőek, a négy vizsgált faj elkülöníthető egy reakción belül



M.: 100 bp létra
 1.: csirke
 2.: szarvasmarha
 3.: juh

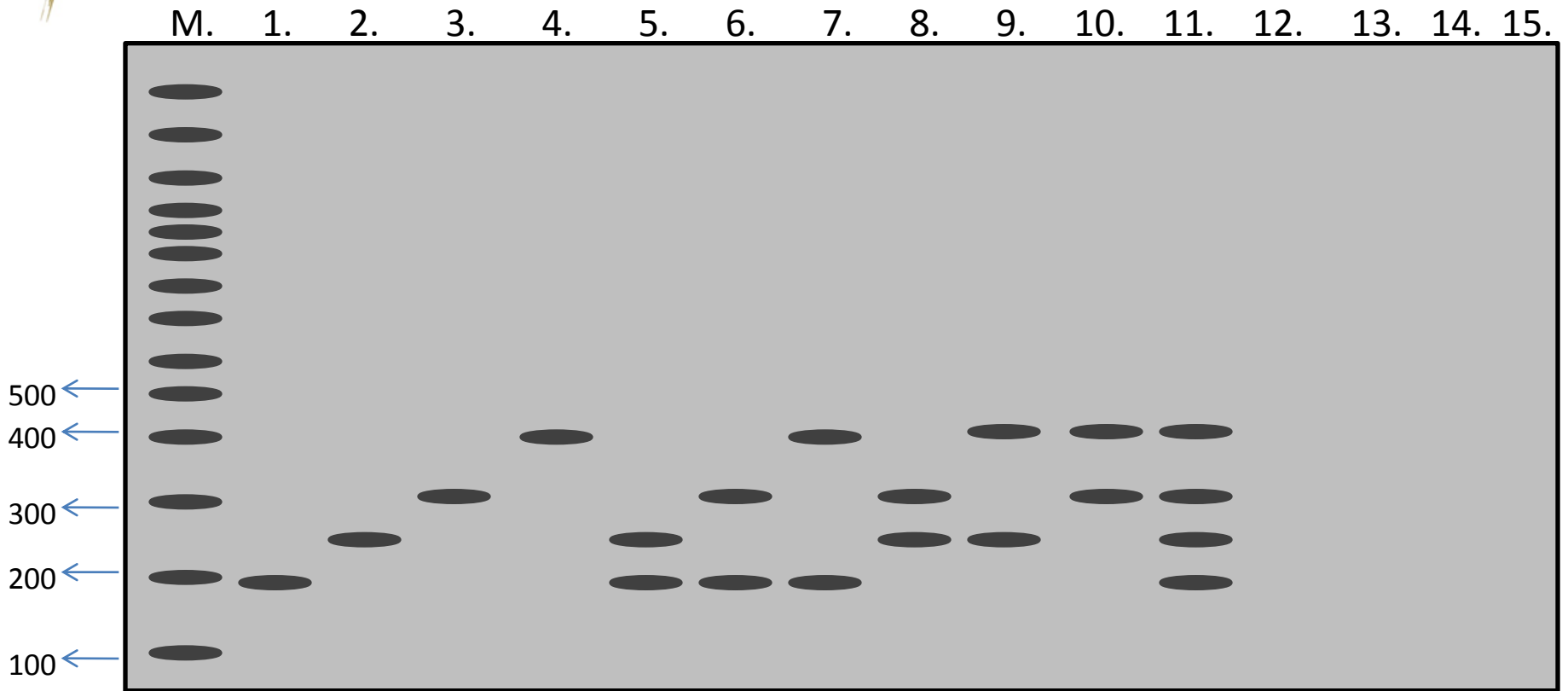
4.: sertés
 5.: csirke+szarvasmarha
 6.: csirke+juh
 7.: csirke+sertés

8.: szarvasmarha+juh
 9.: szarvasmarha+sertés
 10.: juh+sertés
 11.: hal

12.: ló
 13.: szamár
 14.: szója

Chi-Zhang et al.; 2013





M.: 100 bp létra	4.: sertés	8.: sz.marha+juh	12.: hal	Chi-Zhang et al.; 2013
1.: csirke	5.: csirke+sz.marha	9.: sz.marha+sertés	13.: ló	
2.: sz.marha	6.: csirke+juh	10.: juh+sertés	14.: szamár	
3.: juh	7.: csirke+sertés	11.: 4 faj együtt	15.: szója	



A módszer elve, alkalmazása

Metodika: Tengeri keszegfélék fajainak elkülönítése PCR-egyszálú DNS konformáció polimorfizmus segítségével (PCR-SSCP)

Vizsgált szakasz: mitokondriális citokróm b gén

Vizsgált fajok: tengeri keszegfélék öt faja

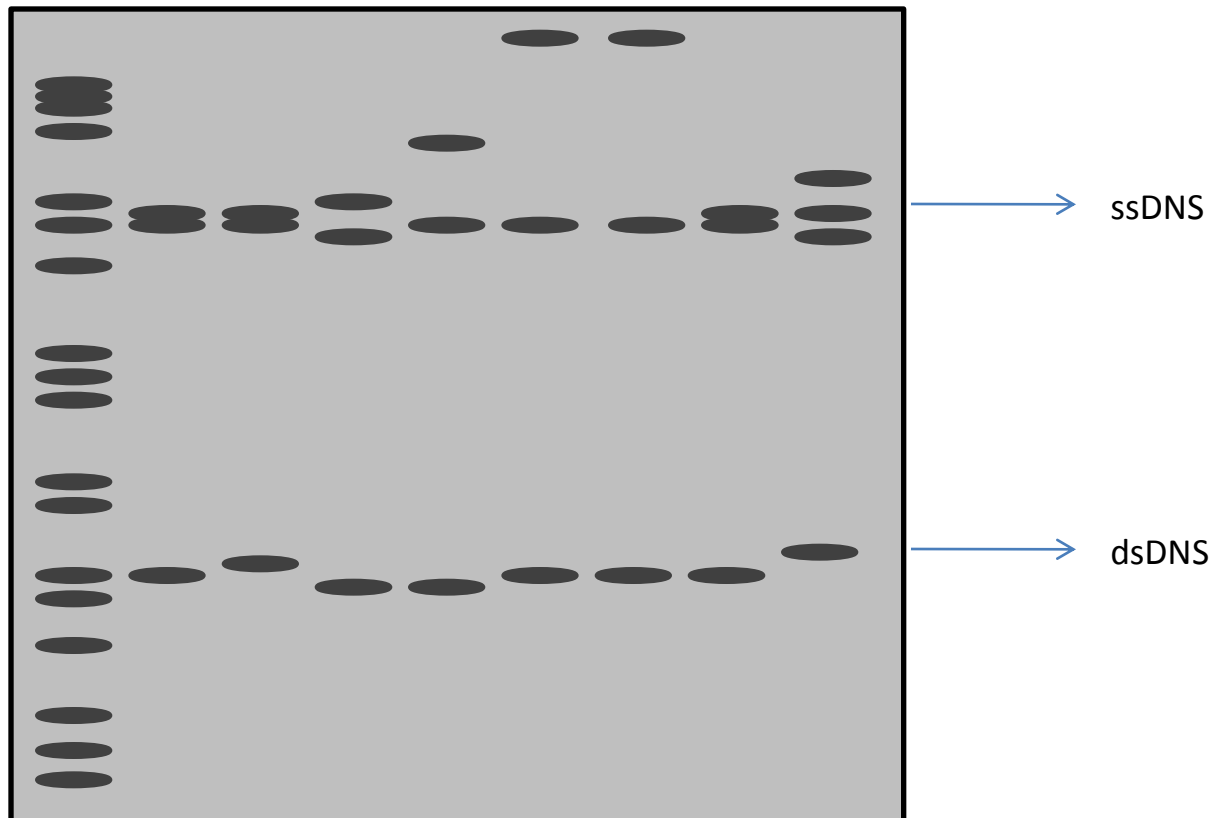
Eredmény: a PCR-SSCP során fajra jellemző sávmintázatok alakultak ki, az öt faj elkülöníthető egymástól

A mintázat megisméltéséhez szigorúan betartani a spec. protokollt!!



Halfajok elkülönítése PCR SSCP-vel, kétszálú és egyszálú DNS mintázat segítségével

- M.: 1 kb+100 bp DNS létra
- 1.: Sparus aurata A
- 2.: Sparus aurata B
- 3.: Argyrops spinifer
- 4.: Acanthopagrus bifasciatus
- 5.: Pagrus caeruleostictus A
- 6.: Pagrus caeruleostictus B
- 7.: Sample 13 (Sparus aurata)
- 8.: Spondyliosoma cantharus A



Schievenhövel et al.; 2013

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME





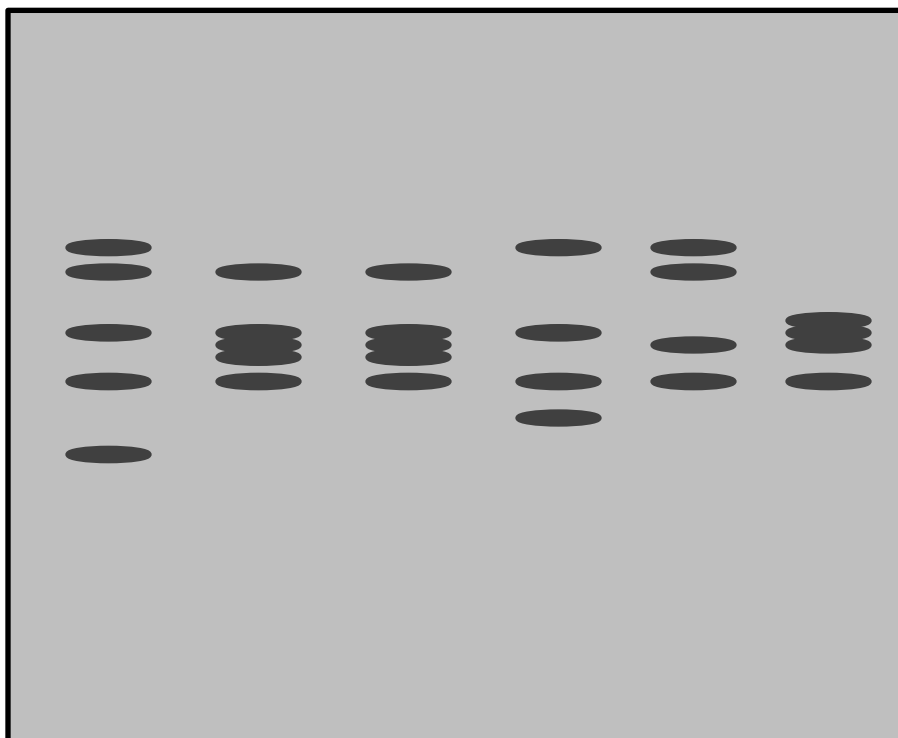
A módszer elve, alkalmazása

- Metodika: Tejeből négy faj elkülönítése PCR-SSCP módszer alkalmazásával
- Vizsgált szakasz: nukleáris (sejtmagi) genom β -kazein génje
- Vizsgált fajok: szarvasmarha, juh, kecske, bivaly
- Eredmény: a kecske/juh elkülöníthető mind a szarvasmarhától, mind a bivalytól és azok egymástól is, azonban a kecske a juhtól nem



PCR SSCP mintázat tejmintákból kivont DNS felhasználásával (univerzális primer, egyszálú DNS)

1. 2. 3. 4. 5. 6.



Plath et al.; 1997

1.: Tehén

4.: Bivaly

2.: Juh

5.: Kecske/tehén 50-50%

3.: Kecske

6.: Kecske/tehén 95-5% (*kimutatási határ alatt*)

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME





A módszer elve, alkalmazása

Metodika: PCR-RFLP módszerrel öt faj elkülönítése

Vizsgált szakasz: mitokondriális 12S rRNS gén

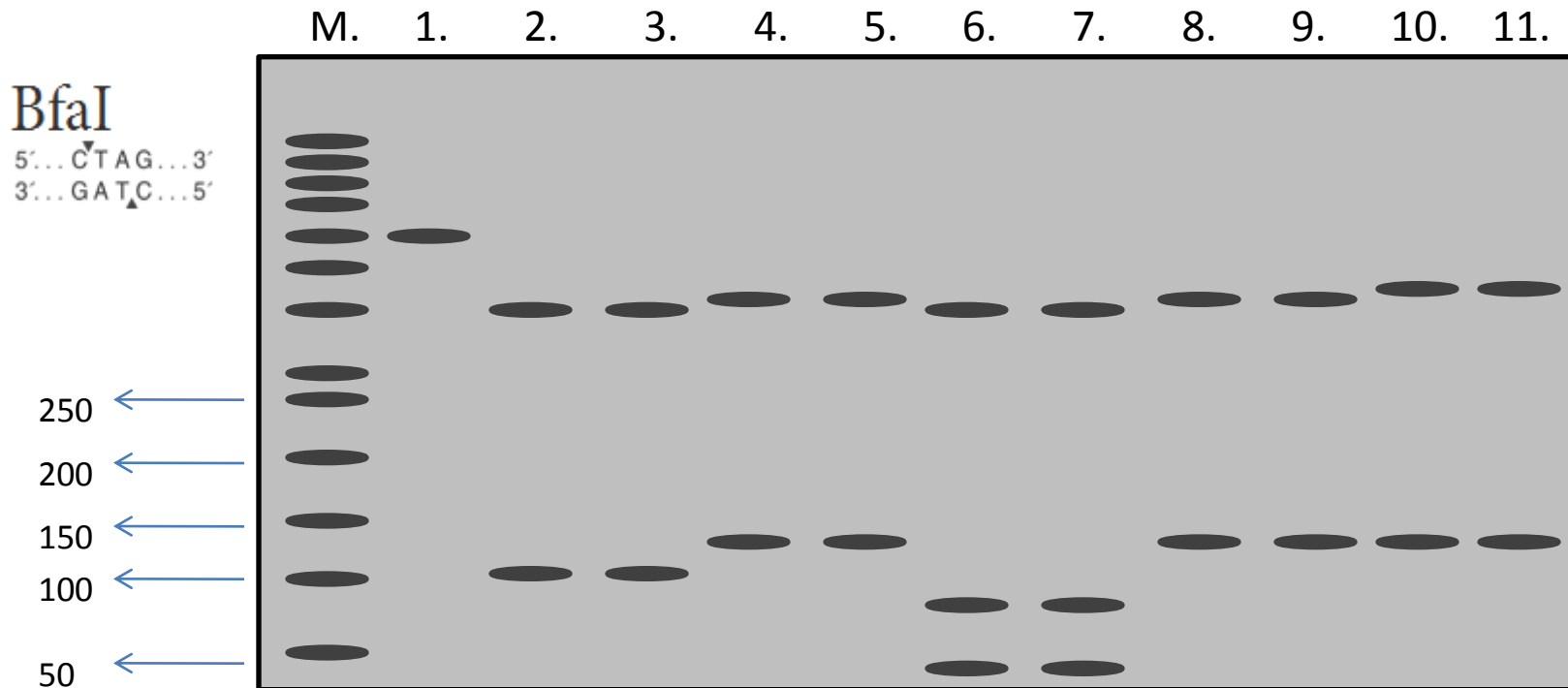
Vizsgált fajok: szarvasmarha, jak, bivaly, kecske, sertés

Restrikciós enzim: Bfal

Eredmény: elkülöníthető a szarvasmarha, jak, bivaly fajok



Fajazonosítás PCR RFLP reakció során, univerzális primerekkel végzett PCR termék Bfal emésztése után



M.: 50 bp létra

1.: hasítatlan PCR termék

2-3.: sertés

4-5.: kecske

6-7.: szarvasmarha

8-9.: bivaly

10-11.: jak

Chen et al.; 2010

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME





A módszer elve, alkalmazása

Metodika: Tíz madárfaj elkülönítése PCR-RFLP módszerrel, univerzális primerek használatával

Vizsgált szakasz: mitokondriális citokróm b és 12S rRNS gének

Vizsgált fajok: csirke, pulyka, kacska, liba, fácán, fogoly, erdei szalonka, strucc, fürj, énekes rigó

Restrikciós enzim: Acil

Eredmény: a legtöbb szárnyas elkülöníthető egymástól, de a fácán a fogolytól nem



Restrikciós fragment mintázat Acil emésztés után, 11 fajjal végzett PCR reakcióban (12S rRNS)

Acil

 5'... CCGC... 3'
 3'... GGCG... 5'

Fajok	Restrikciós fragmentek								Fragmentek száma	Teljes fragmentmért
Csirke	150	95	90	80	45	20			6	480
Pulyka	260	95	75	45	20				5	495
Kacsa	130	75	65	60	45	45	30	20	8	470
Liba	110	95	75	70	60	45	20		7	475
Fácán	250	95	75	45	20				5	485
Fogoly	240	95	75	45	20				5	475
Erdei szalonka	175	95	85	70	45	20			6	490
Énekes rigó	115	100	85	70	60	45	20		7	495
Fürj	210	95	80	50	45	20			6	500
Strucc	125	100	90	70	45	40	20		7	490
Sertés	250	135	95	20					4	500

Stamoulis et al.; 2010

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

 Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
 vonatkozású egyetemi együttműködés,
 DE-SZTE-EKF-NYME




Témakörhöz kapcsolódó kérdések

- Milyen PCR eljárásokat fejlesztettek ki fajok elkülönítésére?
- Mi a multiplex PCR előnye a legtöbb módszerrel szemben?

Felhasznált és ajánlott irodalom I.

1. **Aranishi, F. – Okimoto, T. – Izumi, S.** (2005) Identification of gadoid species (Pisces, Gadidae) by PCR-RFLP analysis. *J. Appl. Genet.* 46, 69-73.
2. **Girish, P.S. – Anjaneyulu, A.S.R. – Viswas, K.N. – Shivakumar, B.M. – Anand, M. – Patel, M. – Sharma, B.** (2005) Meat species identification by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism of mitochondrial 12S rRNA gene. *Meat Science.* 70, 107-112.
3. **Bai, W. – Xu, W. – Huang, K. – Yuan, Y. – Cao, S. – Luo, Y.** (2009) A novel common primer multiplex PCR (CP-M-PCR) method for the simultaneous detection of meat species. *Food Control.* 20, 366-370.
4. **Ghovvati, S. – Nassiri, M.R. – Mirhoseini, S.Z. – Heravi Moussavi, A. – Javadmanesh, A.** (2009) Fraud identification in industrial meat products by multiplex PCR assay. *Food Control.* 20, 696-699.
5. **Haunshi, S. – Basumatary, R. – Girish, P.S. – Doley, S. – Bardoloi, R.K. – Kumar, A.** (2009) Identification of chicken, duck, pigeon and pig meat by species-specific markers of mitochondrial origin. *Meat Science.* 83, 454-459.



Felhasznált és ajánlott irodalom II.

1. **Bottero, M.T. – Civera, T. – Nucera, D. – Rosati, S. – Sacchi, P. – Turi, R.M.** (2003) A multiplex polymerase chain reaction for the identification of cows', goats' and sheeps' milk in dairy products. *International Dairy Journal*. 13, 277-282.
2. **Zha, D. – Xing, X. – Yang, F.** (2010) A multiplex PCR assay for fraud identification of deer products. *Food Control*. 21, 1402-1407.
3. **Doosti, A. – Dehkordi, P.G. – Rahimi, E.** (2011) Molecular assay to fraud identification of meat products. *J Food Sci Technol*.
4. **Chi Zhang.** (2013) Semi-nested multiplex PCR enhanced method sensitivity of species detection in further-processed meats. *Food Control*. 31, 326-330.
5. **Schievenhövel, K. – Rehbein, H.** (2013) Differentiation of Sparidae species by DNA sequence analysis, PCR-SSCP and IEF of sarcoplasmic proteins. *Food Chemistry*. 138, 154-160.
6. **Plath, A. – Krause, I. – Einspanier, R.** (1997) Species identification in dairy products by three different DNA-based techniques. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A*. 205, 437-441.
7. **Chen, S.Y. – Liu, Y.P. – Yao, Y.G.** (2010) Species authentication of commercial beef jerky based on PCR-RFLP analysis of the mitochondrial 12S rRNA gene. *J. Genet. Genomics*. 37, 763-769.
8. **Stamoulis, P. – Stamatis, C. – Sarafidou, T. – Mamuris, Z.** (2010) Development and application of molecular markers for poultry meat identification in food chain. *Food Control*. 21, 1061-1065.



DEBRECENI EGYETEM



Proteomika és fehérjevizsgálati módszerek a fajazonosításban

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Az előadás vázlatja

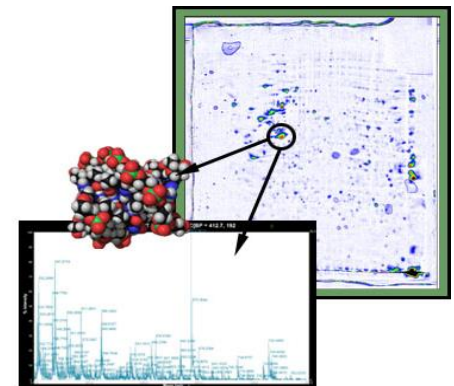
- Proteomika alapjai
- ELISA teszt
- Izoelektromos fókuszálás
- 2D PAGE



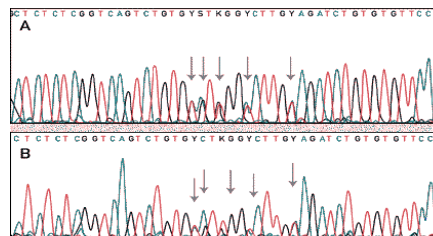
A proteomika

- A sejtben, szövetben, organizmusban expresszálandó proteinek összességét vizsgálja.
- Összehasonlító elemzéseket végez fehérje szinten.
- Kvantitatív és kvalitatív értékelések is elvégezhetők.
- Fajspecifikus peptidek azonosítása lehetőséget ad élelmiszerek eredetének meghatározására.

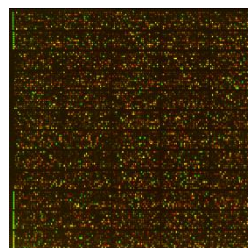
- A proteomikai elemzések során a szervezetben termelődő fehérjék összességét, a **proteomot** vizsgáljuk.
- Amíg **DNS** az állati termék mennyiségét és minőségét közvetve befolyásolja, addig a termelődő **proteinek** azt közvetlenül határozzák meg.
- A „postgenomic era” tudománya.
- Nem hipotézis vezérelt munka.
- Fenotípus ismerete – háttér keresése.



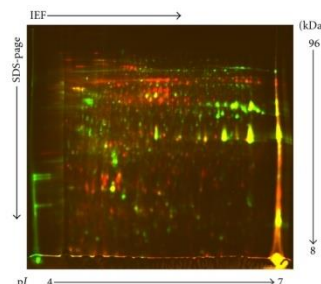
GENOMIKA - DNS



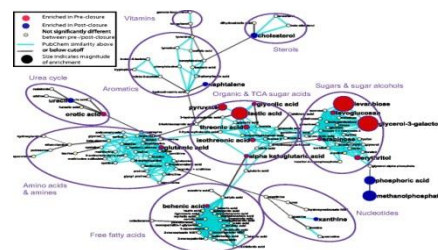
TRASZKRIPTOMIKA - mRNS



PROTEOMIKA - fehérjék



METABOLOMIKA - metabolitok



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

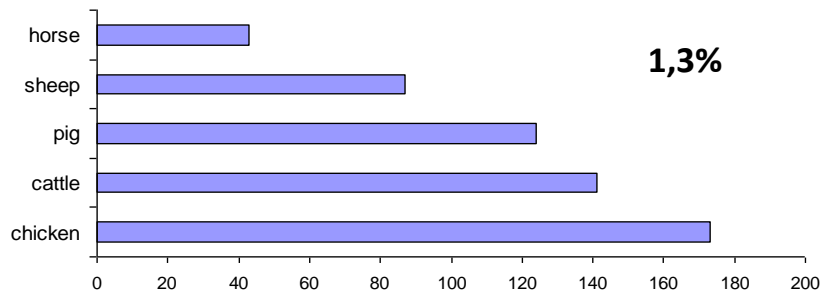
Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



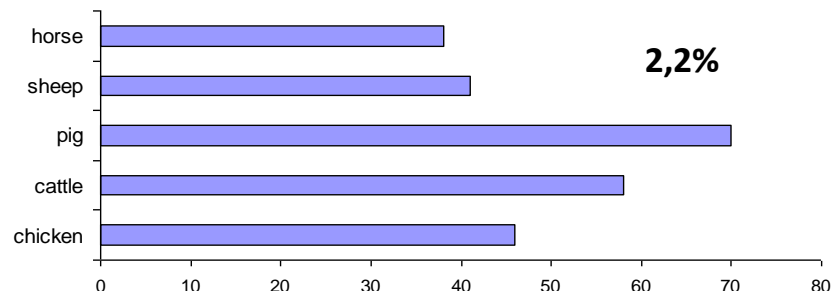
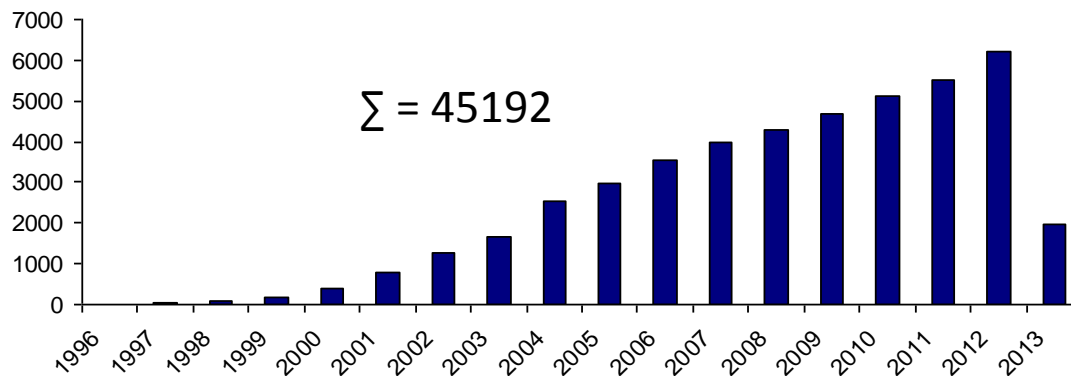
A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

A proteomika jelenlegi (2013) helyzete az állati termék-előállításban

Publikációk száma a PubMed adatbázisban



Publikációk száma a ScienceDirect adatbázisban

Találatok a **proteom*** keresésre a PubMed adatbázisban

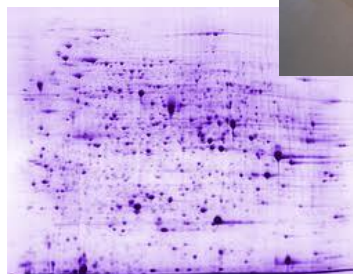
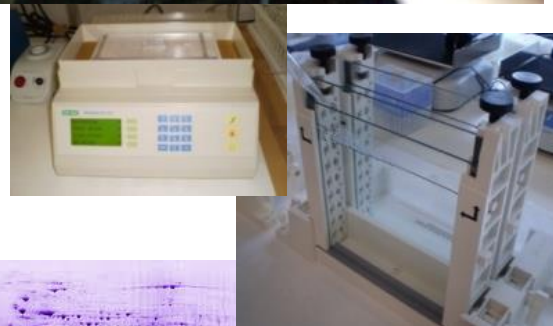
TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYMENemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638

A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



DEBRECENI EGYETEM



A MUNKAFOLYAMAT

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014
Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME



Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Biológiai minta

Fehérjetisztítás, frakcionálás

1D PAGE, 2D PAGE, BN PAGE



LC, nano-LC

Kép dokumentálás - elemzés

Fehérje pont kivágása

Fehérje emésztése

MS/Fehérje azonosítás

Bioinformatika



Azonosított biomarker fehérje

A MUNKAFOLYAMAT

(shotgun proteomika lépései)





A proteomika korlátai

Plazma nagy gyakoriságú fehérjéi

- Több mint 50%:** albumin
- 40%:** immunglobulin G, transferrin, fibrinogén, Ig A, alfa-2 macroglobulin, alfa-1 antitrypsin, C3 complement, Ig M, haptoglobin
- további 9%:** Apo B, Apo A1, alfa-1 acid, glycoprotein, lipoprotein A, factor H complement, ceruloplasmin, factor B complement, C4 complement, prealbumin, C9 complement, C1q complement, C8 complement
- maradék 1%:** több ezer egyedi protein



A proteomika korlátai

A DNS-el ellentétben a fehérjék degradálása gyakran bekövetkezik, amennyiben érlelt, feldolgozott élelmiszer vizsgálata történik.

A protein alapú vizsgálatok használhatósága alapvetően a nyers élelmiszerterméket Éró hatások befolyásolják (hőmérséklet, idő, só, adalékanyagok, fűszerek).

Előnye a DNS-el szemben:

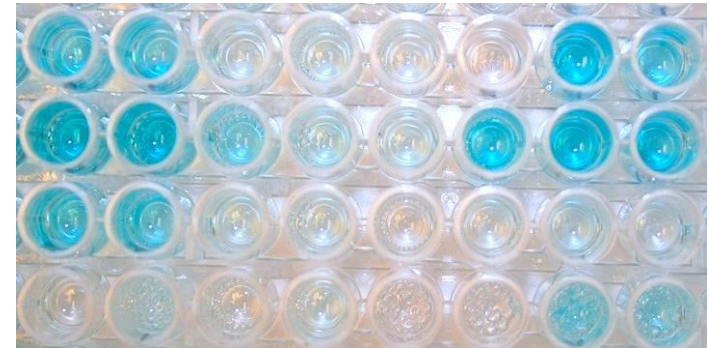
Általában kvalitatív meghatározásnál megbízhatóbb.

ELISA - enzyme-linked immunosorbent assay

Felhasználás: specifikus egy adott fehérjére

Elve: a bekötődő antitest színváltozást okoz
kvantitatív – színintenzitás arányos a mennyiséggel

- a) antitest - enzim kovalens kötés
- b) antitest – másodlagos antitest - enzim





ELISA - enzyme-linked immunosorbent assay

A detektálási folyamat

1. Antigén immobilizálása plate-re
2. Specifikus antitest hozzáadása a mintához (antigén – antitest kapcsolat)
3. Nem kötődő és nem spec. kötődő antitestek lemosása
4. Antitesthez kötött enzim szubsztrátjának hozzáadása
5. Színreakció megjelenése, detektálás = kvantifikálás



ELISA - enzyme-linked immunosorbent assay

Az állati fehérjék hamisításának egyik leggyakoribb módja a szója használata.

Szója protein felismerhető spec. antitesttel:

- ELISA
- Kereskedelmi forgalomban lévő immunoassay-k szója antigénre
- Multiplex immunoassay-k (borsó, szója, búza)

Állati fehérje felismerhető spec. antitesttel:

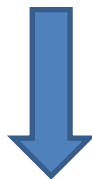
- Kereskedelmi forgalomban van néhány ELISA alapú teszt
- Jelenlegi használhatóságuk korlátozott
- Nem tesz különbséget az állati termékek között (hús, tej, sajt, tojás)



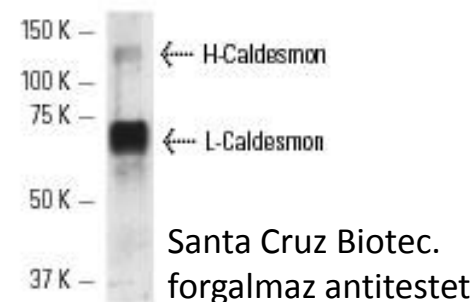
ELISA - enzyme-linked immunosorbent assay

Állati termék azonosításhoz fejlesztési lehetőség a szövetspecifikus ELISA.

A szarvasmarha **h-caldesmon** fehérje sima izomszövetben expresszálódik. A gén nem fejeződik ki a vázizomban, szívben, testfolyadékokban.



Detektálható, hogy a hús mellett egyéb szarvasmarha eredetű szövetet tartalmaz-e az adott élelmiszer.



Csirkehús és sertéshús keveréke

Minta: hús

Feldolgozás: friss és főzött (180 °C, 1 h)

Metodika:

- izoelektromos fókuszálás
- SDS PAGE
- Triptikus emésztés gélben és oldatban
- MALDI TOF tömegspektrometria
- Folyadék kromatográf tömegspektrometria



wisdomquarterly.blogspot.com

Kimutatási határ ?



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Megállapítások:

- a főzés jelentősen befolyásolja az oldható fehérjék oldhatóságát /denaturáltságát
- A főtt hús 1D PAGE gélen több sávot eredményez
- A protein tisztítási módszer (urea/thiourea, Tris-HCl) eltérő mintázatot adott a főtt hús elemzésénél
- A húskeverék fehérjéinek triptikus emésztése után a tömegspektrométerrel azonosított peptidek között tyúkra specifikust találtak (myosin light chain 3):

házi tyúk

DQGTFEDFVGLR

sertés

DQGSYEDFVGLR



Fajspecifikus miozin fehérje triptikus aminosav szekvenciák

Miosin light chain 1	Szarvasmarha	QQQDEFKEAFLR FDR
	Tyúk	ALGQNPTNAEINK
	Sertés	DQGSYEDFVEGL R
Miosin light chain 2	Szarvasmarha	RAAEGGSSSVF SMFDQTQI QEFK AAAEGGSSSVFS MFDQTQIQ EFK EASGPINFTVFLNMFGEKLR
	Tyúk	RAAEGSSNVFSMFDQTQIQEFK AAEGSSNVFSMFDQTQIQEFK GADPEDVIMGAF KVLDPDGK
	Sertés	HFLEELLTTQCDR FSQEEIK KHFLEELLTTQCD R

Izoelektromos fókuszálás (IEF)

Fehérjék egyedi sajátosságára alapozott elektroforetikus elválasztástechnika

Elve

Minden fehérjemolekula rendelkezik egy izoelektromos ponttal, melyben semleges.

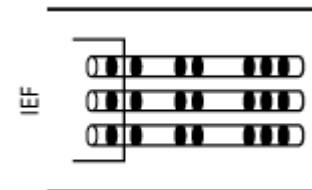
Működése

Egy pH grádiens rendszerben a fehérjék mozognak addig a pontig, amíg az meg nem felel az izoelektromos pontjuknak.

Jellemző pH tartomány: 3-10.

A legtöbb szövet fehérjeinek többsége a 5-8 pH tartományban található

Az elválasztás hatékonysága elérheti a 0,001 pH érték pontosságát.





Izoelektromos fókuszálás (IEF) halfajok elkülönítése IEF alkalmazásával

- Szarkoplazma fehérjék jelentik a halhús fehérjék 20-35 %-át.
- Ezen fehérjék pI-ja többnyire fajspecifikus.
- Jellemzően közeli rokonságban lévő fajok elkülönítése limitált.

Hőkezelés után is elválaszthatók bizonyos proteinek!

***Parvalbuminok
Myofibrilláris proteinek***

Széleskörű fogyasztó-
védelem

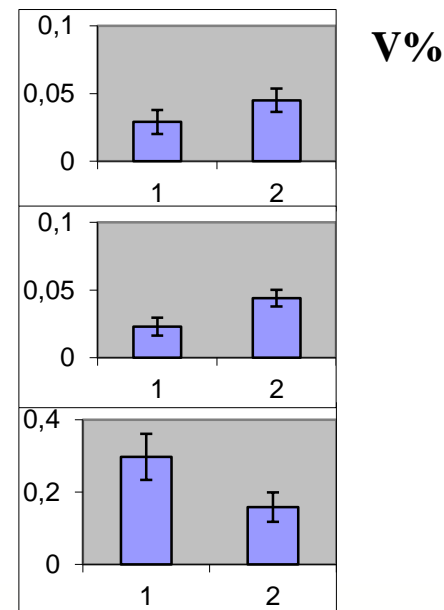
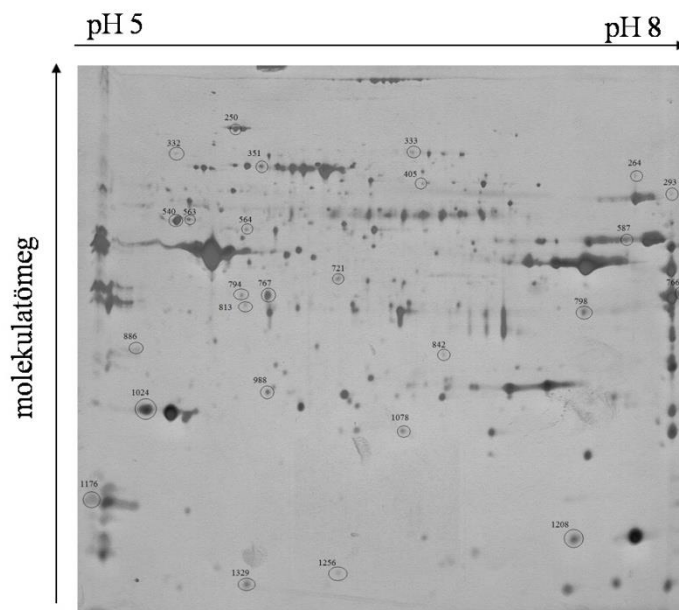


Két dimenziós poliakrilamid gél elektroforézis (2D PAGE)

Első dimenzió: izoelektromos fókuszálás - pI szerinti elválasztás

Második dimenzió: SDS PAGE

- molekulatömeg szerinti elválasztás



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
 vonatkozású egyetemi együttműködés,
 DE-SZTE-EKF-NYME



Két dimenziós poliakrilamid gél elektroforézis (2D PAGE) *tonhal fajok elkülönítése*

Indokoltsága:

- a kettős elválasztástechnika várt eredménye nagyobb
- közelrokon fajoknál a PCR alapú vizsgálat limitált

Módszer

Fajok: *T. thynnus*, *T. alalunga*, and *T. albacares*

Proteinek: hús szarkoplazma

Elválasztás: 7 cm strip, pH 3-10; SDS 12,5% PAGE

Spot azonosítás: MALDI TOF

Eredmény

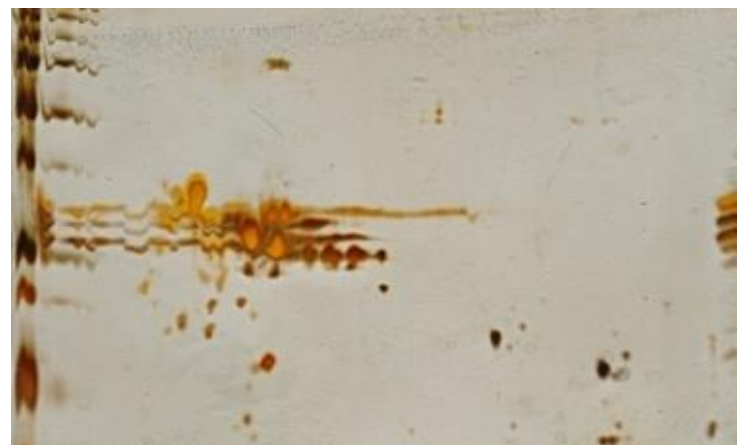
- Fajok közötti különbségek 10kDa alatti tartományban
- Egy fehérje mindössze egy faj esetében expresszáldott

Állatfajok azonosítása tejből proteomikai módszerrel

A tejsír proteinek

- Zsírcseppek formájában található
- Neutrális lipidek alkotják
- Membrán veszi körül
- Tőgy epithel sejtek sejtmembránja (apikális membrán)
- 120 zsírcsepp membrán protein ismert
- Szerepük: szállítás, immunválasz, szignál

Tejsírcsepp membrán fehérjék





Állatfajok azonosítása tejből proteomikai módszerrel

Módszer:

- Egydimenziós poliakrilamid gélelektroforézis
- MALDI TOF
- Kandidáns protein expr. Igazolása: qPCR

Eredmény:

- azonosítva: xanthine oxidase (XDH/XO), butyrophilin (BTN), lactadherin (LDH), adipophilin (ADRP)
- Fajok közötti expressziós különbség: butyrophilin and lactadherin
- lactadherin: a) egy polipeptid lánc
b) két polipeptid lánc
c) eltérő molekulatömegnél (49kDa, 54kDa, 55kDa, 56kDa)



Témakörhöz kapcsolódó kérdések

- Mi a proteomikai vizsgálatok lényege?
- Miként használható az ELISA teszt fajazonosításhoz?
- Mi a 2D PAGE?

Felhasznált és ajánlott irodalom

Ballin N. Z. (2010): Authentication of meat and meat products. *Meat Science*. 86. 577-587.

Sentandreu (2010): A Proteomic-Based Approach for Detection of Chicken in Meat Mixes. *Journal of Proteome Research*. 9. 3374–3383.

Hubalkova Z. et al. (2007): Methods of gadoid fish species identification in food and their economic impact in the Czech Republic: a review. *Veterinarni Medicina*. 52. 7. 273–292.

Pepe et al. (2010): Proteomics analysis for the identification of three species of Thunnus. *Vet Res Commun*. 34 (Suppl 1):S153–S155.

Cebo C., Martin P. (2012): Inter-species comparison of milk fat globule membrane proteins highlights the molecular diversity of lactadherin. *International Dairy Journal* 24. 70-77.



DEBRECENI EGYETEM



Zsírok, zsírsavak és meghatározásuk

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Az előadás vázlatja

A zsírsavakról általánosságban

A gázkromatográfia bemutatása

A gázkromatográfia alkalmazási lehetőségei –
különös tekintettel az eredet meghatározásokra

A lipidek



- Vízben egyáltalán nem vagy rosszul oldódnak
- Energiát raktároznak, szállítanak és szolgáltatnak
- Fontosak a membrán felépítésében
- Fontos: szteroid hormonok, zsírban oldódó vitaminok (A, D, K, E)



ZSÍRSAVAK

(Szerepet játszanak a legtöbb lipid-természetű anyag felépítésében)

A zsírsavak

- Oxidáció  ATP-szintézis
- Trigliceridek része  Energia-raktárak
- Foszfolipidek és szfingolipidek részeként membránfelépítésben meghatározó szerep
- Általános képlet: $\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-COOH}$
- Rövid (2-5), közepes (6-11), hosszú (12-26) szénlánc
- A karboxilcsoport C atomját tekintjük első C atomnak
- Telített, telítetlen (egyszeresen vagy többszörösen), esszenciális zsírsavak



Zsírok és zsírsavak

Telített zsírok

Telítetlen zsírok

Többszörösen
telítetlen zsírok

Egyszeresen
telítetlen zsírok

Omega-3 zsírsav

Omega-6 zsírsav

Omega-9 zsírsavak





Telített zsírsavak

Láncai szorosan kapcsolódnak egymáshoz

Megtalálhatóak: húсок, húskészítmények, állati eredetű zsírok, tej és tejtermékek, baromfi termékek..

Könnyen felszívódnak

Például:

- Palmitinsav/ Palmitát C16:0, *n*-Hexadecanoate $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COO}-$
- Sztearinsav/Sztearát C18:0, *n*-Octadecanoate, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COO}-$
- Arachidsav/Arachidát C20:0, *n*-Eicosanoate, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COO}-$

Telítetlen zsírsavak


A telített zsírsavakkal ellentétben legalább egy kettős kötést tartalmaznak, az emlős szervezetben cisz-konfigurációban fordulnak elő

Például:

- Olajsav/Oleát, $C_{18}H_{34}O_2$
- **Linolsav/Linolát**, $C_{18}H_{32}O_2$
- **Linolénsav/Linolenát**, $C_{18}H_{30}O_2$
- **Arachidonsav/Arachidonát**, $C_{20}H_{32}O_2$


Esszenciálisak

Az esszenciális zsírsavak

- A szervezetben nem szintetizálódnak, táplálékkal szükséges bejuttatni
- Többszörösen telítetlenek
- Fontosak eikozanoidok és a többszörösen telítetlen zsírsavak szintéziséhez
- Hiány esetén  dermatitis, rossz sebgyógyulás
- **Omega-6 zsírsav** (linolsav): legtöbb növényi olajban megtalálható, csökkenti az allergia, ekcéma, ADHD, PMS, osteoporózis, stb. tüneteit
- **Omega-3 zsírsav** (alfa-linolénsav, ALA): fontos szerep a magzat megfelelő fejlődéséhez, daganatos betegségek megelőzéséhez



Transzszírok

- növényi olajok hidrogénezése során telítetlen zsírsavakból keletkeznek
- eltarthatósági idejük hosszabbodik  kevésbé hajlamosak az avasodásra
- emelik a szérumban az LDL szintet
- csökkentik a HDL szintet
- növelik a szív- és érrendszeri megbetegedések kockázatát



Mozgófázis alapján történő csoportosítása a kromatográfiai technikáknak

- Folyadékkromatográfia (LC)
- Nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (HPLC)
- Szuperkritikus oldószeres kromatográfia (SFC)
- Elektrokinetikus kromatográfia (EKC)
- Kapilláris elektrokinetikus kromatográfia (CEC)
- **Gázkromatográfia (GC)**



DEBRECENI EGYETEM

Gázkromatográf



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME



Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai
Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

A gázkromatográfia és alkalmazási lehetőségei

- A **kromatográfia** (görögül: kroma: szín és grafein: írni) keverékek elválasztására alkalmas laboratóriumi módszerek gyűjtőneve
- A gázkromatográfia (GC): elválasztási technika, alapfeltétel, hogy a minta gáz fázisban legyen
- A GC tömegspektrometriával kombinálva (GC-MS) alkalmas többkomponensű, összetett minták jellemzésére
- Nem megfelelő jelölésű, akár hamisított termékek kiszűrésére lehetőséget teremt
- Fogyasztóvédelmi szempontok figyelembe vétele, minőségbiztosítás
- **Eredetigazolás**



A gázkromatográfia és alkalmazási lehetőségei

- A táplálékok hitelesítése, eredetigazolása folyamatosan fejlődik napjainkban a globális piaci trendeknek megfelelően
- A találékony csalóknak köszönhetően egyre inkább szükségessé válik az analitikai technikák fejlesztése, a hamisítványok kedvezőtlen versenyhelyzetet teremtenek az eredeti termékek számára
- A klasszikus tesztek nagyrészt az újabb laboratóriumi eljárások felváltották, a kimutatások idő és költségghatékony jellemzőit szem előtt tartva
- Vadon élő állatok elkülönítése a tenyésztettől
- Bio termékek differenciálása - hagyományos termékek
- A pontosabb analízisek miatt gyakran egészítik ki másféle technikákkal a gázkromatográfias vizsgálatokat

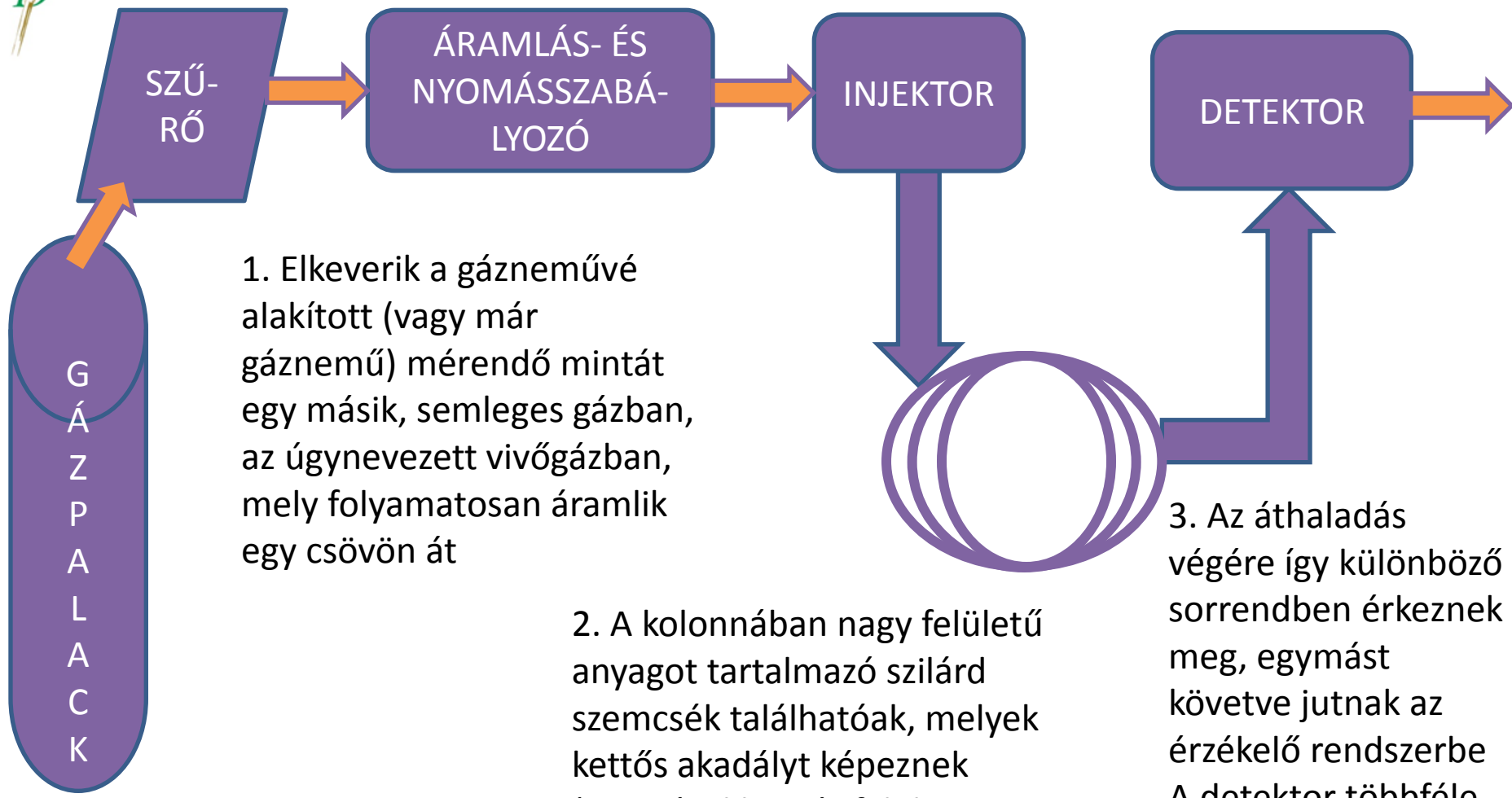


A gázkromatográfia jellemzői

- Gyors anyagátmenet → az elválasztási idő rövidebb
- Olcsó (más, hasonló hatékonyságú technikához képest pl.: HPLC)
- Használata egyszerű
- Ionos molekulák elválasztására nem alkalmas

CÉL:

- A vizsgálandó komponens a többi anyagtól váljon el lehetőleg minél jobb jel-zaj viszony mellett legyen meghatározható rövid idő alatt
- A csúcsok hegyessége mutatja a lehetőleg minél jobb jel-zaj viszonyt és az optimális felbontást



1. Elkeverik a gázneművé alakított (vagy már gáznemű) mérendő mintát egy másik, semleges gázban, az úgynevezett vivőgázban, mely folyamatosan áramlik egy csövön át

2. A kolonnában nagy felületű anyagot tartalmazó szilárd szemcsék találhatóak, melyek kettős akadályt képeznek (mozgásukban és felületi aktivitásukkal is akadályozzák a beáramló gázelegyet)

3. Az áthaladás végére így különböző sorrendben érkeznek meg, egymást követve jutnak az érzékelő rendszerbe. A detektor többféle lehet





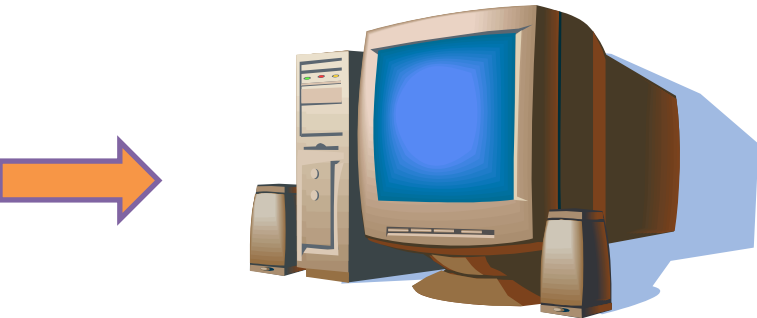
Detektorok

- Lángionizációs detektor (FID)
- Tömegspektrométer (MS)
- Hővezetőképeségi detektor (TCD)

Specifikus detektorok :

- Elektronbefogásos detektor (ECD)
- Nitrogén-foszfor detektor (NPD)
- Láng-fotometriás detektor (FPD)
- Atom-emissziós detektor (AED)

Jelfeldolgozó egység

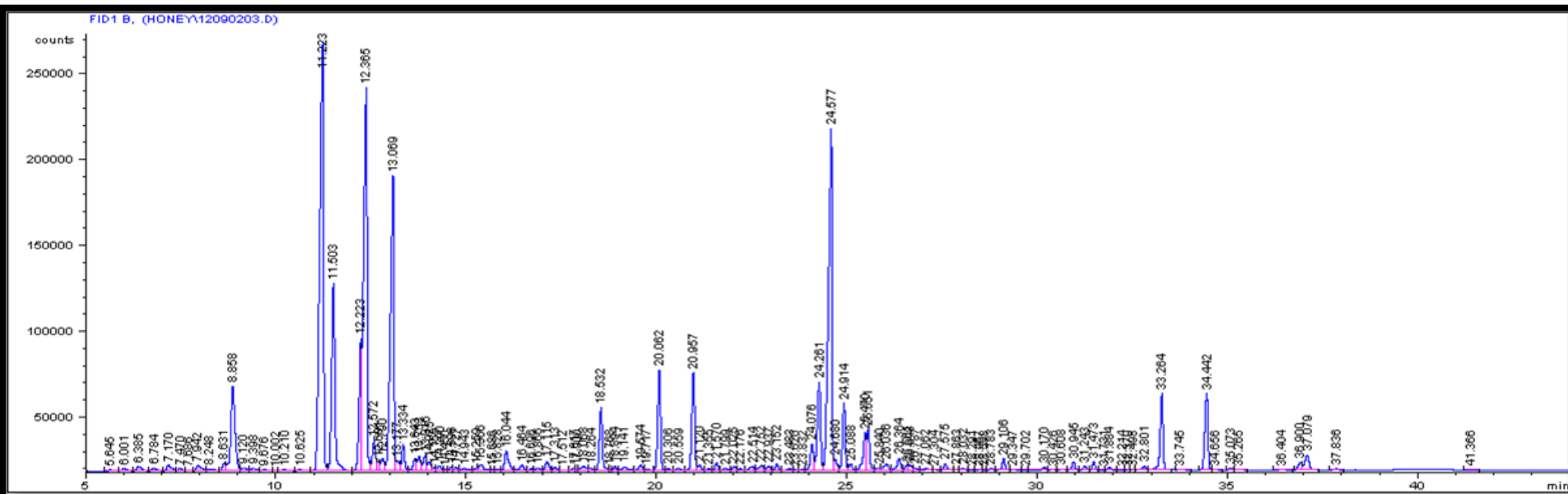


4. A detektor jele egy feldolgozó egységbe kerül, mely összeköttetésben áll egy kijelzővel, amin megjelenik a görbe retenciós ideje (a mintabeviteltől a görbe csúcspontjáig eltelt idő), ami az anyag minőségére, amplitúdója az anyag mennyiségére jellemző



Kromatogram

- A csúcsok hegyessége mutatja a lehetőleg minél jobb jel-zaj viszonyt és az optimális felbontást
- A pontos mennyiség a görbe alatti terület kiszámításával (integrálásával) határozható meg
- Számítógéppel vannak összekötve, a görbe a monitoron is látható



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Az elválasztást befolyásolja:

- A mintabeviteli körülmények (hőm., a bevétel módja, a minta minősége és mennyisége)
- A gáz áramlási viszonyai (áramlási seb., nyomás, nyomáskülönbség)
- A kromatográfiás oszlop jellemző
- A fázisok közötti anyagátmenet
- A minta összetevőinek az állófázissal való kölcsönhatásai



A zsírsavak meghatározásának és jellemzésének lehetőségei

- Jalali-Heravi és Vosough egy vizsgálat során a zsírsav metilészterek jellemzésének meghatározásának lehetőségeit vizsgálták kereskedelmi forgalomban is megvásárolható halolajokban
- Az eredmények alapján a gáz kromatográfiás módszerek és kemometriás felbontási technikák kombinációja egy kiegészítő módszert jelenthetnek az olyan több-összetevőjű rendszerek pontos analízisére, mint amilyen a halolaj is



Témakörhöz kapcsolódó kérdések

- Csoportosítsa a zsírsavakat!
- Mik az esszenciális zsírsavak jellemzői?
- Mik a gázkromatográfiai alkalmazási lehetőségei?
- Milyen detektorokat ismer?
- Mi befolyásolhatja az elválasztást?

Felhasznált és ajánlott irodalom

- J. Fritsche, H. Steinhart (1998) Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A, Volume 206, Issue 2, pp 77-82 Amounts of conjugated linoleic acid (CLA) in German foods and evaluation of daily intake
- Ballin NZ. (2010), Meat Sci.;86(3):577-87. Authentication of meat and meat products
- Resconi VC, del Mar Campo M, Montossi F, Ferreira V, Sañudo C, Escudero A, (2012), J Food Sci.;77(6):S240-6. Gas Chromatographic-Olfactometric Aroma Profile and Quantitative Analysis of Volatile
- Ruiz-Rodriguez A, Reglero G, Ibañez E., (2010) J Pharm Biomed Anal.;51(2):305-26. Recent trends in the advanced analysis of bioactive fatty acids





DEBRECENI EGYETEM



Állati szövetek, termékek zsírsavösszetétele

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Az előadás vázlatja

Takarmányozási zsírok elkülönítése

Kérődzők zsírsavösszetétele

A tej és a tejzsír

Különböző tejtermékek zsírösszetétele és azonosítása

Sertések zsírsavprofiljának vizsgálata


Lazacok eredet meghatározása

Baromfi szövet zsírsav minőségének módosítása

- A mellhús zsírtartalma (a foszfolipid viszont több) < comb < bőr (döntően trigliceridek alkotják)
- Vízi szárnyasok több n-3-as zsírsavban gazdag táplálékot, zöld növényeket, rovarokat fogyasztanak → több zsír a csirkéhez képest
- Lenmagdara, lenmagolaj → nő a linolénsav tartalma a szöveteknek



A takarmányozási zsírok eredetének meghatározása

- Az élelmiszeripar melléktermékei növelhetik a tápértéket  az állattakarmányozásban jól hasznosíthatók
- Az emberi táplálék és az állati eledel egybemosódása miatt a zsírok megfelelő csoportosítása egyre sürgetőbb feladattá válik
- A magas tápértékkel rendelkező zsírok a takarmányozásban biztonságosan alkalmazhatóak
- A megfelelő klasszifikáció a megbízható szabályozáshoz és a fogyasztók védelméhez járulhat hozzá



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME


Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



A takarmányozási zsírok eredetének meghatározása

- A 'Feeding Fats Safety; FFS – Etessük a zsírokat biztonságosan' EU projekt az állati takarmányozásra használt zsírokat tíz osztályba próbálja sorolni 
- Kémiai vagy fizikai úton finomított savas olajok, lecitinek, újrahasznosított sütőolajok, állati eredetű zsírok, halolajok stb
- A zsírok és olajok csoportosítására és azonosítására termék specifikus markerre van szükség (erre csak kevés kémiai marker alkalmas)



A takarmányozási zsírok eredetének meghatározása

- Egy vizsgálat három húsfeldolgozás során keletkező, állati takarmányozásra használt melléktermék (állati eredetű zsírok, halolaj és újrahasznosított olajok) eredetét próbálta igazolni
- A FFS projekt által, európai és más országokból összegyűjtött 53 mintát a következőképpen csoportosították: állati eredetű zsírok (36 minta), halolajok (9 minta) és újrahasznosított olajok (8 minta)



A takarmányozási zsírok eredetének meghatározása

- Az azonosítás a minták triacilglicerol és zsírsav ujjlenyomatán és illékony anyag profilján alapult
- A triacilglicerol és a zsírsav metilészter (FAME) analízis gázkromatográfiával történt, míg az illóanyag vizsgálat PTR-MS használatával történt
- A leghatásosabbnak a triacilglicerol és zsírsav ujjlenyomat meghatározása bizonyult (96% pontosság). Az illékony anyag detektálás 92% pontossággal valósítható meg



Kérődzők

előgyomorban mikrobiális fermentáció



baktériumok telítik,
hidrogénezik a zsírsavakat






eltérő takarmányozási stratégia



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014


Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

- Gabonamagvak  többszörösen telítetlen zsírsavak csökkenti a telített zsírsavak hányadát
- Olajosmagvak pl.: fullfat repce  szöveti lipidekben csökken a palmitinsav aránya, intramuszkuláris lipidekben nő az olajsav és a linolsav mennyisége
- Repcemag  nő a szöveti zsírok E vitamin koncentrációja



A kérődzők hújának zsírsavösszetevői, különös tekintettel a transz zsírsavakra

A transz-zsírsavak:

- a táplálékkal bevitt telítetlen zsírsavak bi-hidrogenációjából származnak
- a kérődzőkben csak kis mennyiségégekben fordulnak elő
- leginkább a zsíros szövetekre jellemzőek
- bevitelük részben a kérődzők tejéből és húásából, vagy a margarinokban előforduló növényi és halolajból származik
- egészségügyi vonatkozása különösen a kardiovaszkuláris betegségek terén a figyelem középpontjába került  a dán margarinipar csökkentette a transz-zsírsav- és növelte a egyszeresen telítetlen zsírsavmennyiséget a termékeikben



DEBRECENI EGYETEM

ÚJ SZÉCHENYI TERV

A kérődzők húsának zsírsavösszetevői, különös tekintettel a transz zsírsavakra

Egy tanulmány során kérődzők húsának zsírsavösszetevőit határozták meg:

39 marhahús, 20 borjúhús és 34 bányahús felhasználásával



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME


Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



A kérődzők hújának zsírsavösszetevői, különös tekintettel a transz zsírsavakra

- A margarinok esetében viszonylag megfelelő adatok állnak rendelkezésre
- Néhány adat ismert a kérődzők húzával és tejével kapcsolatban is
- A kérődzők különböző részeiből származó húsokról csak keveset tudunk 
- Öt különböző növekvő zsírtartalmú marha és borjú, illetve három bányahús szelet vizsgálata
- A zsírsav metilészterek gáz-folyadék kromatográfiás analízisét végezték el, láng ionizációs detektort használva
- A bányahúsnak volt a legmagasabb telített zsírsavtartalma



A kérődzők hújának zsírsavösszetevői, különös tekintettel a transz zsírsavakra



- A marhahús kb. fele annyi transz C18:1/100g zsírsavat tartalmazott, mint a borjú- és bárányhús
- A különböző szeletek között a transz és más zsírsavakban csak kis mértékű eltérése mutatkozott
- A kapilláris gáz-folyadék kromatográfiával tapasztalt cisz és a transz C18:1 zsírsavak közötti átfedések igazolását GLC-vel követett argentációs-vékonyréteg kromatográfiával végezték el

A tej zsírsav-összetételét befolyásolja:

- A faj/fajta, genotípus
- A tartási környezet/körülmények
- Az évszak/hónap
- Az állat kora
- A laktáció szakasza/száma
- Takarmányozás



A tej zsírtartalmának változása


- Homogénezés  kisebb zsírgolyócskák gyomorpanaszokban szenvedőknek könnyebb hasznosíthatóság
- Anyatej zsírtartalma: 6,9%
- Kecsketej zsírtartalma: 4,1%
- Kezelés után a tehéntej: 1,5-2,8%
- Több zsír a tejben  eredményesebb kalciumfelszívódás



Tej + tejtermékek:

nagyon fontos szerep az ember ásványi anyag-, fehérje-, esszenciális zsírsavszükséglet kielégítésében

Tejzsír:

- telített zsírsavakban gazdag, DE!!
- konjugált linolsavakat tartalmaz  antioxidáns, rákellenes hatás
- esszenciális zsírsavakat tartalmaz
- immunrendszert erősítheti,
- egészséges csontfejlődéshez fontos



A konjugált linolsav

- Linolsav izomerek gyűjtőneve
- Az emberi szervezetben megtalálható az epében a vérszérumban, az anyatejben és a béltartalomban
- A kérődzők bendőjében Butyrivibrio fibrosolvens baktériumok hatására képződik linolsav bio-hidrogénezése által
- A tejtermékek tartalmazzák legnagyobb mennyiségben
- DE!! az állatok húzában, a tojásban, és a növényi olajokban is megtalálhatóak (sokkal kisebb mennyiségben)
- Nő a tejsír konjugált linolsav tartalma → nő a transzsírsavak mennyisége





Tejzsír összetételének befolyásolása

(pl.: a konjugált linolsav-tartalom változtatása)

- tartásmód
- évszak (nyáron magasabb, ellentétben a telített zsírsavakkal, melyek nyáron alacsonyabb értéket mutatnak → a nyáron fejt tej kedvezőbb élettani hatásokkal rendelkezik)
- takarmányozás hatása, rendszeressége, gyakorisága

Pl.: szója, gyapotmag és napraforgóolaj → nő a tej konjugált linolsav-tartalma



Az elegytej eredetének meghatározása zsírsavösszetétele alapján

- Az ember étkezésében a lipid koncentráció és a zsírsavprofil fontos szerepet tölt be
- Napjainkban fokozott érdeklődés figyelhető meg a tej zsírsav profilja iránt
- Keresik azokat a termékeket, amelyek pozitív hatással vannak az ember egészségére
- A tenyésztő és takarmányozó körülmények megállapítása - melyek a zsírsavprofilot határozzák meg - egyre fontosabbá válnak a helyi termékek értékének növelésében



Az elegytej eredetének meghatározása zsírsavösszetétele alapján

- A telítetlen zsírsavak fontos részét képezik a humán táplálkozásnak
- A szív- és érrendszeri betegségek, daganat, gyulladós és autoimmun betegségek megelőzésében fontos szerep
- A tejzsír összetevői közül a konjugált linolsav és az n-3 telítetlen zsírsav játssza a legfőbb szerepet a prevencióban
- Olaszország és Szlovénia határvidékéről két év alatt összesen 19 tehenészetből gyűjtöttek össze elegytejet



Az elegytej eredetének meghatározása zsírsavösszetétele alapján

- Zsírsavösszetétel alapján próbálták elkülöníteni a tejet a lehetséges származási terület és eredet alapján
- Figyelembe vették a takarmányozást, tenyésztést és a farm irányítását is
- A szlovén farmokon a fűsilót és a szénát,
- Olaszországban a szénát és a koncentrált takarmányt részesítik előnyben az állatok etetése során
- A két nemzet tejében 53 zsírsavat választottak el és határozták meg a mennyiségüket




Az elegytej eredetének meghatározása zsírsavösszetétele alapján

- A telített zsírsavak képviseltetik magukat legnagyobb mennyiségben, melyeket a telítetlen zsírsavak követnek
- Negyven zsírsav koncentrációja esetén szignifikáns különbség volt tapasztalható az olasz és szlovén tejek között
- Szintén szignifikáns különbség volt megfigyelhető 15 zsírsav évi termelésében is
- Az ország és a tejtermelés éve alapján sikerült a tej klasszifikációs kritériumait meghatározni




A nem tejzsír eredetű zsír detektálása GC-vel és lineáris diszkriminancia analízissel

- A nem tejzsír eredetű zsírok detektálása GC-vel triglicerid profilok figyelembe vételével
- Mexikói jogszabályok szerint: az emberi fogyasztásra szánt tej csakis a saját tejzsírt tartalmazhatja, az egyéb, nem tej és származékaiból származó zsírokat fel kell tüntetni a címkén, mely az összetevőket tartalmazza
- Ha ez nem történik meg  csalás
- Az elmúlt 30 év során számos kutatási központ jött létre, az ilyen és ehhez hasonló hamisítások kiszűrése miatt
- Nagy gazdasági jelentősége lehet a csalások felderítésének a nemzeti és a nemzetközi kereskedelemben egyaránt



A nem tejzsír eredetű zsír detektálása GC-vel és lineáris diszkriminancia analízissel

Két csoportját elemezték a tejzsíroknak:

- Az első csoportba a nyerstej minták tartoztak, melyek Mexikó központi régiójából származtak (n = 216)
- A másik csoportba ultrapasztőrözött tejminták kerültek, melyek 3 telepről származtak és a termékeiket Mexikó város különböző supermarketjeiben próbálták értékesíteni
- A piacokról különböző zsírokat tartalmazó termékek (hal, földimogyoró, kukorica, olíva, és szója) beszerzése 
- a zsírsavprofilok elkészítése és összehasonlítása a tejben található zsírokkal



A nem tejzsír eredetű zsír detektálása GC-vel és lineáris diszkriminancia analízissel

- A diszkriminancia analízis során nem kaptak megbízható eredményeket a tejzsírok vizsgálatakor
- A step-by-step method (lépésenkénti módszer) alkalmazásával viszont értékelhető eredményeket kaptak
- Az osztályozás megbízhatósága 94,4% volt, következésképpen a módszer alkalmas volt kimutatni <10% szinten a csalásokat
- Legalább egy ipari telep hozzáadott a tejhez nem tej és származékaiból származó zsírokat
- Az eredmények tekintetében ezzel a módszerrel kialakítható egy nemzeti adatbázis,
- Megvalósulhat a tejtermékek hiteles ellenőrzése, a csalások kiszűrése



juhtej zsírtartalma ~ a bivalytej > kecsketej > tehéntej > szamáртеj > kancatej

A vaj összetétele kb.:

80% zsír

19% víz

1% zsírmentes szárazanyag

vaj zsírtartalma ~ teavaj > szendvicsvaj > háromnegyedzsíros vaj > félzsíros vaj



Sajtok: zsírdús, zsíros, félzsíros, zsírszegény, sovány



Sajtok hitelesítés

Telemea sajt hitelesítése

- Hagyományos fehér, sós lében érlelt sajt, kedvelt Romániában. Készülhet kecske, juh vagy szarvasmarha nem pasztörözött tejből, önmagában vagy keverhetik őket
- Kecse és juh tejből készült telemea sajt drágább, ezeket gyakran hamisíthatják, főleg tehéntejjel helyettesítve



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Sajtok hitelesítése

- **Gázkromatográfia + kemometria:** alkalmas lehet a hamisított Telemea sajtok kiszűrésére
- Bratu et al. 3 Telemea sajt fajtát (tehén, juh és kecske) hitelesített GC technikát főkomponens analízises kemometriával párosítva
- Összesen 25 különböző gyártótól és helyi sajt készítőktől származó mintát vizsgáltak: tehéntej, kecsketej, és juhtej





Sajtok hitelesítése

- 20 komponens vizsgálata → a különböző típusú sajtok között átfedések is voltak
- A kapott eredmények nem egyértelműek
- A pontosabb elkülönítés érdekében a kis relevanciájú összetevőket kiszűrték a további vizsgálatokból
- Az eljárás 12 releváns zsírsav használatával optimális elkülönítést biztosít
- Megbízhatóan alkalmazható a Telemea sajtok hitelesítési eljárásai során



Sertéshús minőségének változtatása

- lizin/energia arányának növelésével csökkenthető az intramuszkuláris zsírtartalom
- rostdús takarmánykomponensek etetése  csökkenthető a sertések túlzott mértékű elzsírosodása
- extenzív módon történő takarmányozás  nagyobb telítetlen zsírsav tartalom





Sertészsír eredetmeghatározása

- Narváez-Rivas et al. Pireneusi-félszigeten őshonos sertések (2783 sertés minta) bőr alatti zsírréteg triacilglicerol (17 féle) tartalmát határozta meg GC lángionizációs detektor segítségével
 - Montanera
 - Recebo
 - Extenzív cebo
 - Intenzív cebo
- különböző minőségű,
ennek megfelelően
eltérő árú termékek
fontos a minőségbiztosítás!!






Sertészsír eredetmeghatározása

- Az eddig használt technika (NIR: Near Infrared Spectrometry) hitelesítésre igen, de a minták összetevőinek a meghatározására nem volt alkalmas, ezáltal nem lehetett információt nyerni a hízlalás módjáról sem
- Multilayer Perceptron Artificial Neural Networks (MLPANN) a Montanera, extenzív Cebo és intenzív Cebo hízlalási formákat 97%-os, míg a recebo-t átlagban 82%-os pontossággal különítette el



Sertészsír elkülönítése

- Sertés, szarvasmarha, csirke és kecske zsírsavak analízise GC-vel
- A sertés zsír elkülönítése 3 zsírsav-metilészter (FAME, fatty acid methyl esters) alapján valósulhat meg
- Az elágazó zsírsavak több, mint 18 szénatomot tartalmaznak  a sertészsír jelenlétére utal
- A FAME profilok alkalmasak lehetnek a sertészsír más állati eredetű zsírtól való elkülönítésre az élelmiszerek hitelesítése során



Lazacok eredetének igazolása

- Egyre fontosabbá válik a fogyasztók részéről az élelmiszerek előállítási körülményeinek az ismerete
- Pontos információkat igényelnek a faj, az előállítási mód és a földrajzi eredet felől
- Az akvakultúra-termékek esetében markereket kell találni, hogy azonosítani lehessen a gazdaságokból származó, kiszökött halakat
- Norvégiában 2007-ben 600 000 tenyésztett lazac szökött el a gazdaságokból (www.statistics.no)



Lazacok eredetének igazolása

- A triglicerid zsírsavösszetevőinek vizsgálata alkalmas lehet a tenyésztett és vadon élő lazacok elkülönítésében
- A lipid frakciók alapján következtetni lehet a tenyésztés módjára
- A kereskedelmi célú tenyésztés gyakran sokoldalú, és nagy mennyiségű növényi olajt alkalmaz,
- Normál körülmények között nem fordul elő a vadon élő lazacok tápláléka között
- A lipidanalízist GC-vel és nagy felbontású (HR) ¹³C-NMR-rel kombinált kemometriával végezték



Lazacok eredetének igazolása

- Referenciamintaként 59 példányt használtak, 4 különböző farmról Hardangerfjord (Norvégia) területéről
- Teszthalként 17 szabadon élő halat használtak
- Egyedileg sorszámozva 501-517 halászok által 005-2006 októberéig
- Mérlegelés és mikroszkópos vizsgálat eredménye:
- csak az 505 és 510-es hal mutatja a jellegzetes vadon élő lazac bélyegeket
- Minden más szabadon élő halnál feltételezhető, hogy tenyészetben tartották



Lazacok eredetének igazolása

- A legmegfelelőbb módszernek a tenyésztő megállapítására a BBN (Bayesian belief networks) és SVM (support vector machines) bizonyult
- 59 referencia mintából helyesen csoportosítottak 58 (BBN és GC) és 56 (SVM és 13 C NMR) egyedet
- A 12 termesztett halként azonosított vadon élő lazac feltételezhetően négy különböző farmról származik
- A maradékot nem tudták teljes biztonsággal besorolni a négy farm valamelyikébe,
- vélhetően a fjord környékén található másik 26 farmról származhatnak



Milyen alkalmazási lehetőségei vannak a gázkromatográfiás vizsgálatoknak?

Miért fontos a tejtermékek eredet meghatározása?

Felhasznált és ajánlott irodalom

- AURELIA BRATU, MIHAELA MIHALACHE, ANAMARIA HANGAN, NICOLETA-AURELIA CHIRA, MARIA-CRISTINA TODASCA, SORIN ROSCA, (2012), CHEMISTRY MAGAZINE, volumel Gas Chromatography Coupled with Chemometric Method for Authentication of Romanian Cheese
- Indrasti, Dias and Che Man, Yaakob and Mustafa, Shuhaimi and Mat Hashim, Dzulkifly (2010), Food Chemistry, 122 (4). pp. 1273-1277. Lard detection based on fatty acids profile using comprehensive gas chromatography hyphenated with time-of-flight mass spectrometry
- Gaspardo B, Lavrencic A, Levart A, Del Zotto S, Stefanon B. (2010), J Dairy Sci.;93(8):3417-26. Use of milk fatty acids composition to discriminate area of origin of bulk milk
- Gutiérrez R, Vega S, Díaz G, Sánchez J, Coronado M, Ramírez A, Pérez J, González M, Schettino B. (2009), J Dairy Sci. 2009 May;92(5):1846-55. Detection of non-milk fat in milk fat by gas chromatography and linear discriminant analysis
- Torben Leth, Lars Ovesen, Kirsten Hansen(1998), Journal of the American Oil Chemists' Society, Volume 75, Issue 8, pp 1001-1005, Fatty Acid Composition of Meat from Ruminants, with Special Emphasis on *trans* Fatty Acids
- M. Narváez Rivas, E. Gallardo, J.M. Jurado, Isabel Viera-Alcaide, Manuel León Camacho, (2013), Grasas y aceites, ISSN 0017-3495, págs. 127-137 Application of artificial neural networks to determine the authentication of fattening diets of Iberian pigs according to their triacylglycerol profiles

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME





DEBRECENI EGYETEM



Eredetigazolási lehetőségek zsírsavvizsgálatok alapján

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.



Az előadás vázlatja

Különböző halfajok eredet meghatározása GC-val

- vadon élő és tenyésztett halfajok elkülönítése
- földrajzi eredet alapján azonosítás

Különbéle olajok azonosítása zsírsavprofil alapján Bio- és hagyományos termékek elkülönítése




Mediterrán halfajok zsírsavösszetételének meghatározása

- 24 zsírsavat vizsgáltak 12, mediterrán területen élő halfajban (melyek különböztek a lipid tartalmukban és a mintavétel idejében)
- Két különböző detektáló technikát alkalmazva (GC-FID /láng ionizációs detektor/ és GC-MS /tömeg spektrométer/) két különböző hosszúságú és töltésű kapilláris oszlop segítségével megfelelő adatok kaphatóak az adott mintákról
- A kialakított protokoll alapján a vizsgált 12 halfaj a teljes zsírsav meghatározása könnyen megvalósítható





A táplálkozási minőség meghatározása a csendes-óceáni halfajok zsírsavmintázata alapján

- Számos tengeri zsíros halfajról ismert  a telítetlen zsírsavak kitűnő forrásai, különösen gazdagok omega-3 zsírsavakban
- A tengeri halak zsírsavösszetételükben is különböznek az édesvízi halaktól
- A nyugati étrendben az n-3 zsírsavbevitel viszonylag alacsony, a kevés tengeri halfogyasztás miatt
- Ezzel szemben a növényi olajokból származó n-6 zsírsavbevitel mennyisége növekvő tendenciát mutat




A táplálkozási minőség meghatározása a csendes-óceáni halfajok zsírsavmintázata alapján

- Az omega-3 zsírsavak fokozott bevitele különösen az egészséges életmód miatt ajánlott
- Több betegség kialakulásának az esélyét is csökkentheti
- A Csendes-óceán északnyugati partjainál nagy számban előforduló nyolc halat csoportosítottak a teljes lipid tartalmuk szerint (zsírszegény haltól kezdve a zsíros halakig)
- *Merluccius productus*, *Theragra chalcogramma*, *Hypomesus pretiosus*, *Sebastes pinniger*, *Oncorhynchus gorbusha*, *Mallotus villosus*, *Sardinops sagax*, *Clupea harengus pallasi*



A táplálkozási minőség meghatározása a csendes-óceáni halfajok zsírsavmintázata alapján

- A kutatás során összehasonlították  a halak zsírsavmintázatait az össz-zsírsavak relatív arányával és a test összlipid tartalmának arányával
- A csendes-óceán partjáról származó halfajok alapvetően magas n-3 telítetlen zsírsavat tartalmaznak, ezek 80%-a C20:5n-3 (EPA) és C22:6n-3 (DHA)
- Az adott fajra jellemzően alacsonyabb mennyiségben olajsav és palmitinsav szintén előfordult
- A halak egyszeresen telítetlen zsírsavtartalma alacsonyabb volt a zsírszegény halakban a zsírosabb halakhoz képest





A táplálkozási minőség meghatározása a csendes-óceáni halfajok zsírsavmintázata alapján

- A zsírszegény halakat nagyobb többszörösen telítetlen zsírsavtartalom jellemezte (DHA tartalom: 18-29%), szemben a zsíros halakkal (DHA: 8-10%)
- A zsírsav tartalmat kifejező adatok tulajdonképpen a zsírsavak abszolút mennyiségét mutatják
- Mind az EPA, mind a DHA mennyiség sokkal kevesebb a sárga és a szürke tőkehalak húzában, mint a zsíros halakban (pl.: hering)
- A csendes-óceáni halaknak az összlipid tartalmukat és a zsírsavösszetevőiket is fontos figyelembe venni a táplálkozási minőség meghatározásakor




Vad és tenyésztett tokhalak ikráinak elkülönítése zsírsav és ásványianyag összetétel alapján

- A tokhal kaviárja (mindig fekete) nagyon drága termék  az illegális kereskedelme virágzik
- Az illegális kaviár-kereskedelem komoly gondokat okoz (Európában is)  közvetlen veszély a tokhalak számára
- A Természetvédelmi Világszövetség szerint a tokhalfélék 85 százaléka veszélyeztetett
- Kaliforniában eddig még nem találtak megoldást az illegális tokhal-kereskedelem megfékezésére
- Még nincs törvényszéki módszer, amivel biztosan el lehetne különíteni a vad és a tenyésztett tokhalak ikráit



Vad és tenyésztett tokhalak ikráinak elkülönítése zsírsav és ásványianyag összetétel alapján

- A STR DNS (Short Tandem Repeats DNS) profilok vizsgálata nem mutatott értelmezhető különbséget a fogságban és a vadon élő populációk között 
- A DNS-technikák nem alkalmasak a vadon élő és az akvakultúrás tokhalak ikráinak megbízható azonosítására Kaliforniában
- Kérdés: a zsírsav-és ásványianyag-kompozíciók különböznek-e a vadon élő ill. a tenyésztett tokhalak ikráiban




Vad és tenyésztett tokhalak ikráinak elkülönítése zsírsav és ásványianyag összetétel alapján

- Alkalmas-e zsírsav és ásványi anyag tartalom alapján történő akvakultúrás, ill. vadon élő tokhalak által termelt kaviár megkülönböztetésére
- Az analízis során azt tapasztalták, hogy az eikozapentaénsav (EPA, C20:5, n-3) és dokozahexaénsav (C22:6 n-3; DHS) tartalma magasabb volt a gazdaságban tenyésztett tokhalak ikráinak, mint a vadon élőknek



Vad és tenyésztett tokhalak ikráinak elkülönítése zsírsav és ásványianyag összetétel alapján

- A szelén koncentráció lényegesen magasabb volt a vadon élő tokhal ikráiban, mint az akvakultúrás halak esetében
- A vas, cink, réz, foszfor, kén, kalcium, kálium koncentráció tekintetében nem sikerült szignifikáns különbséget kimutatniuk az ikrák között
- Szélesebb körű elemzés szükséges  több gazdaság bevonásával, több nyomelem vizsgálatával
- A kiválasztott zsírsavak és ásványi anyagok alkalmasak lehetnek a tokhalak ikráinak eredetének a vizsgálatára



Többszörösen telítetlen zsírsav tartalom vizsgálata vadon élő és tenyésztett Tilapiák esetében

- A halak és a tengeri emlősök a természetben a leggazdagabb forrásai a hosszú szénláncú, többszörösen telítetlen zsírsavaknak (PUFA)
- Napjainkban a haltermékek nagyon fontos részét képezik az emberi táplálkozásnak és ez a tendencia várhatóan csak növekedni fog
- Az akvakultúrák jelentős szerepet játszanak annak biztosításában, hogy megfelelő mennyiségű hal álljon a fogyasztók rendelkezésére
- A nílusi tilápia (*Oreochromis niloticus*) a kilencedik legfontosabb faj, amit tenyésztenek a világon



Többszörösen telítetlen zsírsav tartalom vizsgálata vadon élő és tenyésztett Tilapiák esetében

- A piros tilápia (*Oreochromis* sp.) is egyre kedveltebb, főleg Thaiföldön, mert vonzó a színe és egyre növekszik a piacképessége
- A tilapia halak izomszövetének a teljes lipid tartalmát és zsírsav-összetételét vizsgálták *Oreochromis niloticus* és a hibrid vörös tilapia (*Oreochromis* sp.) esetében Thaiföldön
- A különböző táplálási rendszereket, akvakultúrákat hasonlították össze a természetes környezetben nevelkedett halakkal




Többszörösen telítetlen zsírsav tartalom vizsgálata vadon élő és tenyésztett Tilapiák esetében

- Vadon élő és tenyésztett halak egyaránt kedvező zsírsav profillal rendelkeznek az emberi fogyasztás szempontjából
- Magasabb α -linolénsav, ikozapentaénsav (C20:5, EPA), dokozahexaénsav (C22:6, DHA) tartalom és a n-3/n-6 PUFA arány is magasabb
- Az intenzíven tenyésztett halak izomszövetét fokozott zsírlerakódás jellemezte (főként telített és egyszeresen telítetlen zsírsavak)
- Nem kívánatos a fogyasztók számára, hogy csökkenjen az ikozapentaénsav (C20:5, EPA) és dokozahexaénsav (C22:6, DHA) tartalom tenyésztett tilapiák esetében



Földrajzi eredet alapján történő azonosítása a perui szardinellának

- A halolajak egyre szélesebb körben terjednek
- Fontos szerep  az egészségmegőrzésben, a betegségek megelőzésében, mivel kisebb-nagyobb mértékben tartalmaznak ún. többszörösen telítetlen zsírsavakat (omega-3 zsírsavakat)
- A többszörösen telítetlen zsírsavak esszenciálisak az emberi szervezet számára
- Szabályozzák a vérnyomást, csökkentik a koszorúér betegségek veszélyét, gátolják a vérrögképződést, javítják a rheumatoid arthritis tüneteit
- Peru az egyik legnagyobb gyártója a halolajnak, majd Chile, Dánia, Izland, USA, Japán, Norvégia és végül Kína követi




Földrajzi eredet alapján történő azonosítása a perui szardinellának

- Dél-Amerikában, nagyrészt Peruban és Chilében, hatalmas mértékű a halászati iparág (Peru a legnagyobb exportőre a halolajnak), a halakból Omega-3 olajokat nyernek ki
- A halászat szezonális, csak egy 2-3 hónapos időszakban érhető el friss hal. A halak nagy része nem emberi fogyasztásra, hanem kis értékű takarmány előállítására használják
- A halolajak árai közötti különbségek megköveteli a minőségük ellenőrzését
- Mivel a halolajok alig vagy egyáltalán nem tartalmaznak DNS-t és fehérjét, így a hagyományos hitelesítési eljárások **nem** alkalmazhatóak



Földrajzi eredet alapján történő azonosítása a perui szardinellának

- Jelenleg nem állnak rendelkezésre hivatalos, megbízható módszerek, melyek segítségével egyértelműen meghatározható a halolajak faji és földrajzi eredete
- 2007-ben a Norvég Élelmiszerbiztonsági Hatóság és a Norvég Kutatási Tanács kezdeményezte egy adatbázis kidolgozását  mely elősegíti a tengeri olajok eredetének nyomon követését
- Az adatbázis eredetileg a takarmányként hasznosított tengeri olajok vizsgálatára lett kifejlesztve, de felmerült az igény az emberi fogyasztásra szánt olajok, piaci termékek hitelesítése, eredetigazolása iránt is



Földrajzi eredet alapján történő azonosítása a perui szardinellának

- Található-e különbség a különböző helyekről származó perui szardellák zsírsavösszetételét illetően
- A földrajzi eredetre lehet-e következtetni a zsírsavprofil alapján
- A perzisztens szerves vegyületek (POP) vizsgálata is megtörtént
POP: toxikus hatásúak, nagyfokú biológiai felhalmozódásuk miatt potenciális kockázatot jelenthetnek az emberi egészségre és a környezet számára már alacsony koncentrációban is
- Zsírsav összetétel és a szennyező összetevők analízise alapján történt a szardella-olajok eredetének meghatározása a perui partok különböző helyeiről



Földrajzi eredet alapján történő azonosítása a perui szardinellának

- Az eredmények alapján találtak egyértelmű különbségeket az északi, a középső és a déli partvidék területeiről származó halak olajának zsírsav összetevőit illetően
- A különbségéért a különböző takarmányok, az ivási állapot valamint a víz hőmérséklete lehet a felelős
- A zsírsav profilok vizsgálata ígéretes módszernek bizonyult a szardella olaj földrajzi eredet alapján történő csoportosítása során
- A szennyező anyagok analízise alapján elmondható, hogy a perui szardella olajok általában alacsony POP tartalommal rendelkeznek

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME



Földrajzi eredet alapján történő azonosítása a perui szardinellának

- Több, bővített körű mintavételezés ajánlott a következtetések megerősítése következtében
- A halolajak hitelesítése, eredetvizsgálata során figyelembe kell venni:
 - a földrajzi,
 - és a szezonális jellemzőket a lipidprofilok kialakítása során
 - Adatbázisok kialakítása javasolt,
 - melyek tartalmazzák a fajtákra jellemző lipidprofilokat a vad és a tenyésztett fajták közötti különbségeket, valamint a különböző földrajzi körülményeket egyaránt figyelembe véve



A fókaolaj igazságügyi azonosítása a zsírsavprofil és statisztikai modellek segítségével

- A zsírsavak fontos egészségügyi hatással rendelkeznek
- Az omega-3 zsírsavak bevitele nehezen megvalósítható, viszont halolaj eredetű táplálék kiegészítők már elérhetővé váltak a fogyasztók számára
- Egy 2007-ben végzett felmérés alapján a halolaj tartalmú táplálék-kiegészítők voltak a legnépszerűbb egészséges életmóddal összefüggő készítmények
- Kanadában zsírsavforrásként fókaolaj alapú kiegészítőket is forgalmaznak, de az az Egyesült Államokban tiltott a kereskedelme. 2009 májusában az Európai Unió szintén betiltotta az ilyen termékeket

A fókaolaj igazságügyi azonosítása a zsírsavprofil és statisztikai modellek segítségével

- Szükségessé vált olyan megbízható módszer kifejlesztése, mely segítségével elkülöníthető a fókaolaj más halolajtól
- A legtöbb halterméket DNS vizsgálattal azonosítani lehet, a tengeri olajok eredetének igazolása bonyolultabb feladat





A fókaolaj igazságügyi azonosítása a zsírsavprofil és statisztikai modellek segítségével

- Az olajok főként lipidekből állnak és nem tartalmaznak amplifikálható DNS-t
- Meghatározásra kerültek a kereskedelmi forgalomban elérhető tengeri olajok és táplálék kiegészítők halolajok (tőkehal máj, hering, lazac, 'hal' és fóka) zsírsav összetételei
- A kísérlet során a különböző eredetű minták elkülönítése két módszer segítségével történt
- A zsírsav analízis során gázkromatográfiát, míg a triacilglicerol vizsgálat meghatározására folyadék kromatográfiát és tömeg spektrometriát alkalmaztak



A fókaolaj igazságügyi azonosítása a zsírsavprofil és statisztikai modellek segítségével

- Szignifikáns különbségeket figyeltek meg a zsírsavprofilok között, továbbá a fókaminták különböztek mindegyik halolajtól
- A véletlenerdő „random forest” statisztikai analízis segítségével a zsírsav és triacilglicerol profilok alapján mintacsoportokat (fóka vs. hal) lehetett elkülöníteni
- A zsírsavprofil analízisen és a triacilglicerol profilokon alapuló kétlépcsős módszer a jövőben alkalmas lehet a fókaolajak pontos azonosítására



Pisztácia magok földrajzi származásának igazolása zsírsavak és fitoszterolok vizsgálatával

- Zsírsavak és fitoszterolok vizsgálatával próbálták meghatározni a földrajzi besorolhatóságát a pisztácia olajnak
- A pisztácia olaj pisztácia magból származik
- Egészséges, az oliva olajhoz hasonló, vitaminokban gazdag olaj, magas olajsavtartalommal rendelkezik, B-szitoszterolt tartalmaz (nagyon hatásos a magas koleszterin-szint csökkentésében)
- Az analizált olajak Olaszországból, Törökországból, Iránból és Görögországból származtak




Pisztácia magok földrajzi származásának igazolása zsírsavak és fitoszterolok vizsgálatával

- Történtek már vizsgálatok a lipid frakciók segítségével bizonyos élelmiszereknél is, pl.: narancslé, articsóka, szentjánoskenyérfa magja
- Az olasz pisztácia lipid profilját a különböző országok pisztácia olajának lipid frakcióival hasonlították össze
- A szterinfrakció megoszlásának vizsgálatára először nyílt lehetőség
- A minták geográfiai azonosítása zsírsavak analízisével és többváltozós elemzéssel fontos szerepet tölthetnek be a pisztáciaolajok hitelesítésében




Csukamájolaj elkülönítése marhazsírtól

- A csukamájolaj a tőkehal, illetve egyes cápafajok májából nyert olaj
- Vitaminokban (A- és D-vitamin) és omega–3 zsírsavakban gazdag (különösen EPA és DHA)
- Kutatások bizonyítják jótékony hatásait az emberi szervezetre, fontos szerepet töltenek be az összetevői a betegségek megelőzésében
- Napjainkban sürgető problémává vált ennek a terméknek az eredetiségének a vizsgálata  a hamisítások kiszűrése, az élelmiszer címkék ellenőrzése, hiszen akár egészségügyi kockázatot is jelenthet a fogyasztók becsapása
- Ezek következtében erőfeszítések történtek a műszeres analitikai technikák és statisztikai szoftverek fejlesztésére



Csukamájolaj elkülönítése marhazsírtól

- A hamisítás az olajtermékek esetében általában az olaj hígítását vagy cseréjét (olcsóbb, kevésbé előnyös minőségi tulajdonságokkal rendelkező olaj termékekre) foglalja magában
- A csukamájolaj viszonylag drága terméknek minősül  kedvelt célpontja a hamisításoknak
- Általában disznó- vagy marhazsírral keverik
- Rohman et al. a csendes-óceáni tőkehalakból (*Gadus macrocephalus* Tilesius) és az atlanti tőkehalakból (*Gadus morhua* L.) nyert olajat vizsgálták Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia (FTIR-spektroszkópia) alkalmazásával GC-vel kiegészítve



Csukamájolaj elkülönítése marhazsírtól

- Ebben a kombinációban a GC-FID és IR spektroszkópiát már korábban alkalmazta Gurdeniz et al. (2008) török olívaolajok osztályozására termőhely, a betakarítás éve és fajta szerint
- Sikerült a marhafaggyú jelenlétét kimutatni a zsírsavprofil felállítására után
- Különösen az eikozapenténsav és a dokozaheksénsav savak tekintetében mutatkoztak nagy eltérések
- Célszerű FTIR spektroszkópiával kombinálva használni a gázkromatográfiát



Bio és hagyományos termékek elkülönítésének lehetőségei

- A bio tejtermékek több omega-3 zsírsavat tartalmazhatnak a hagyományos tejtermékekhez képest, valamint kevésbé szennyezettek a különböző növényvédő szerektől
- A biotermékek előállítási költségei magasabbak, mint a hagyományos termékeknek, ezáltal az áruk is magasabb, tehát fontos a fogyasztóvédelem szempontjából garantálni a biotermékek eredetét
- Nehéz feladat különbséget tenni a bio és a hagyományos tejtermékek között



Bio és hagyományos termékek elkülönítésének lehetőségei

- Fitán és prisztán savak markerként szolgálhatnak a bio és a hagyományos tejtermékek elkülönítése során
- Ezek a savak nem de novo szintetizálódnak az emlősökben, a klorofill metabolizálásából származnak és a kérődzők szövetében, ezáltal a tejtermékekben is előfordulnak
- Legnagyobb koncentrációban a kérődzők bendőjében találhatóak
- A biogazdálkodások egyedül fű alapú takarmányozási rendszerének köszönhetően lehetőség nyílt a fitán és prisztán savak koncentrációja alapján történő elkülönítésre



Bio és hagyományos termékek elkülönítésének lehetőségei


- A bio termékek (sajtok és egyéb tejtermékek) magasabb koncentrációval kell rendelkezniük ezekből a savakból, mint a hagyományos termékek
- Ebből a célból, egy érzékeny gázkromatográfiás-tömegspektrometriás módszer került kifejlesztésre kiválasztott ionfolyamat követés (Selected Ion Monitoring) elnevezésű csatolt technikával
- A minták begyűjtése helyi piacokról történt Németországban, Stuttgartban



Bio és hagyományos termékek elkülönítésének lehetőségei

- A bio sajtok átlagosan 50%-kal több fitán sav és 30%-kal több prisztán sav tartalommal rendelkeztek, mint a hagyományos termékek
- Meghatározásra került az az érték is (200 mg/100 g fitán sav), ami alatt szükséges lehet a bio termék ellenőrzése
- Egyes hagyományos termékek is elérték ezt az értéket, mivel a nem bio gazdálkodások tehenei is fogyasztanak fű alapú takarmányokat
- Csak egy bio sajt volt, ami nem érte el ezt az értéket
- Az eredmények azt mutatják, hogy a fitán sav és prisztán sav szignifikánsan magasabb volt a bio tejtermékek esetében a német piacon, mint a hagyományos

Ár, minőség és zsírsav-összetétel kapcsolata bio és hagyományos bányahús vizsgálatánál

- Bio és hagyományos bányahús szezleteket vizsgáltak  található-e összefüggés az állat tartása, a zsírsavösszetétele és a húsk ár között
- Három brit áruházból történt a címkével ellátott húsk vásárlása
- A bio és hagyományos bányahúsok húskainak az ár között nem mutatkozott nagy különbség a három különböző üzlet tekintetében sem
- Átlagosan a bio karaj 20 g-mal nehezebb volt, mint a hagyományos szelet



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME


Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.




Ár, minőség és zsírsav-összetétel kapcsolata bio és hagyományos bányahús vizsgálatánál

- A bio bányahús egy kicsit jobb minőségű volt a zamatosság, pikánság és az ízletesség tekintetében, mint a hagyományos bányahús, ez alátámaszthatja a fogyasztók elgondolását, miszerint a bio termékek "jobb ízűek"
- Az adatok alapján  nem volt lényeges különbség a zsírsav összetétel és az étkezési minőség között a hagyományos ökológiai termeléssel előállított bányahúsok és a bio húsu bányahúsok között
- A szupermarketek között nem volt jelentős különbség, egyedül az „A” szupermarketben volt olcsóbb és ezzel együtt egy kicsit gyengébb minőségű a bányahús



Feldolgozás, termék- és élelmiszerbiztonság

- A kereskedelmi forgalomban kapható broiler csirkék húsát összehasonlították annak függvényében, hogy a csirke bio, szabad tartású legelőkarámos vagy hagyományos farmról származik-e
- A vizsgálatok célja  a fogyasztók rendelkezésére álló húsok minőségi és mennyiségi tulajdonságait vizsgálják
- Az analízis során tizenöt brojlercsirke húsát vizsgálták, melyek 4 szállítótól származtak
- Mindegyik mintának értékelték külön a nyers, külön a főtt húsok minőségét, pH-ját, színét, a zsírsavösszetételét, ..




Feldolgozás, termék- és élelmiszerbiztonság

- A bio broiler csirkék hújának a fehérjetartalma nagyobb volt, mint a szabad tartású legelőkarámos vagy hagyományos farmról származó csirkék húsa
- A bio broiler csirkék mellhúsának pH-ja magasabb volt, mint a másik két tartási típusba tartozó csirkéknek, a bio csirkék mell és comb húsa kevésbé volt sárga
- A zsírsav analízis eredményei alapján látható, hogy a bio tenyésztésű csirkék comb és mell húsa kisebb mértékben tartalmazott telített és egyszeresen telítetlen zsírsavakat és magasabb mennyiségben többszörösen telítetlen zsírsavakat, mint a szabad tartású legelőkarámos vagy hagyományos farmról származó broiler csirkék

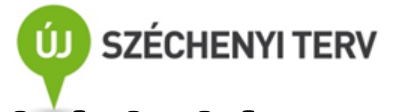


Feldolgozás, termék- és élelmiszerbiztonság

- Az érzékszervi vizsgálatok eredményei azt mutatták, hogy a hagyományos broiler csirke combok kevésbé rágósak, mint a legelőkarámos és a bio broiler csirkék
- Az egyéb érzékszervi tulajdonságokban nem különböztek szignifikánsan
- A legnagyobb különbség a zsírsav-összetételben mutatkozott meg a broiler csirkék vizsgálata során
- A piaci árak vizsgálata alapján  az árak nem teljesen tükrözik a mennyiségi és minőségi jellemzők alakulását



DEBRECENI EGYETEM



Eredet meghatározás gidák eltérő hizlalása alapján zsírsavprofil alkalmazásával

Összefüggés lehet a gida húsának minőségi jellemzői (illat és íz) és az etetés fajtája (kecsketej és tejpótló) között



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.




Eredet meghatározás gidák eltérő hizlalása alapján zsírsavprofil alkalmazásával

- A vizsgált húsok szopós kecske gidákból származtak, egy hónapos koruk körül kerültek levágásra
- A kérődzők elő gyomrában (beleértve a kecskéket is) mikrobiális fermentáció zajlik, a baktériumok telítik, hidrogénezik a zsírsavakat
- A kérődzők étrendje fontos szerepet játszik a zsírsavprofil kialakításában, mert ha a takarmányozási körülményeket módosítják, a tej tápértéke javítható



Eredet meghatározás gidák eltérő hizlalása alapján zsírsavprofil alkalmazásával

- A legtöbb zsír a gidák bőralatti perirenális rétegeiben található, csak körülbelül 1%-a intramuszkuláris zsír
- A gidák kevésbé telített zsírral rendelkeznek, mint például a csirke, marha, sertés vagy bárány húsok, ezért  meghatározó termék lehet a gidák húsa egyéb háziállatok húsának alternatívájaként
- lehet-e összefüggést kimutatni a kecske gidák húsának zsírsavprofiljai és az előzetes táplálás között



Eredet meghatározás gidák eltérő hízlalása alapján zsírsavprofil alkalmazásával

- 42 (eltérő módon táplált) gidától perirenális zsír mintavételezése
- 3 hízlalási rendszerbe tartoztak (kecsketejjel, tejhelyettesítő tápszerrel és a tejalapú tápszerrel tápláltak)
- Az analízist GC-vel végezték, lángionizációs detektort (FID) alkalmazva, hasznosnak bizonyult a zsírsavprofilok kialakításában
- PCA és klaszter analízis segítségével sikerült a 3 táplálási rendszert elkülöníteni a zsírsavprofilok alapján
- legnagyobb különbségek a C18:2 és C18:3 zsírsavaknál mutatkoztak



Soroljon fel példákat, ahol szükség lehet eredet meghatározásra!

Miért fontos a termékek pontos megjelölése, az eredetének az ismerete?

Milyen esetekben lehet gáz kromatográfiás analízist alkalmazni?

Felhasznált és ajánlott irodalom

- Karapanagiotidis IT, Bell MV, Little DC, Yakupitiyage A, Rakshit SK., (2006), J Agric Food Chem.;54(12):4304-10. Polyunsaturated Fatty Acid Content of Wild and Farmed Tilapias in Thailand: Effect of Aquaculture Practices and Implications for Human Nutrition
- Husak RL, Sebranek JG, Bregendahl K., (2008), Poult Sci.;87(11):2367-76. A Survey of Commercially Available Broilers Marketed as Organic, Free-Range, and Conventional Broilers for Cooked Meat Yields, Meat Composition, and Relative Value
- Angood KM, Wood JD, Nute GR, Whittington FM, Hughes SI, Sheard PR., (2008), Meat Sci.;78(3):176-84. A comparison of organic and conventionally-produced lamb purchased from three major UK supermarkets: Price, eating quality and fatty acid composition
- Mellado-González T, Narváez-Rivas M, Alcalde MJ, Cano T, León-Camacho M., (2009), Talanta.;77(5):1603-8. Authentication of fattening diet of goat kid according to their fatty acid profile from perirenal fat
- Rohman A, Man YB., (2011), Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.;28(11):1469-74. Authentication analysis of cod liver oil from beef fat using fatty acid composition and FTIR spectra
- E. Arena, S. Campisi, B. Fallico, E. Maccarone (2006), Food Chemistry 01/2007; 104(1):403-408. Distribution of fatty acids and phytosterols as a criterion to discriminate geographic origin of pistachio seeds
- Classification of Geographical Origin by PNN Analysis of Fatty Acid Data and Level of Contaminants in Oils From Peruvian Anchovy
- Broadwater MH, Seaborn GT, Schwacke JH., (2012), J Forensic Sci. doi: 10.1111/1556-4029.12018. Forensic Identification of Seal Oils Using Lipid Profiles and Statistical Models
- Depeters EJ, Puschner B, Taylor SJ, Rodzen JA., (2013), Forensic Sci Int. 10;229(1-3):128-32 Can fatty acid and mineral compositions of sturgeon eggs distinguish between farm-raised versus wild white (Acipenser transmontanus) sturgeon origins in California? Preliminary report

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia
vonatkozású egyetemi együttműködés,
DE-SZTE-EKF-NYME

