

**ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
(HELLENIC SOCIETY FOR BIOLOGICAL SCIENCES)**

**30^ο ΕΤΗΣΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ
30th ANNUAL CONFERENCE**

**ΠΡΑΚΤΙΚΑ
PROCEEDINGS**

Θεσσαλονίκη, 22–24 Μαΐου 2008

Thessaloniki, May 22–24, 2008

ΕΚΔΟΤΗΣ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

Πρόεδρος: Καθηγήτρια Αντιγόνη Λάζου

Γραμματεία: Επικ. Καθηγητής Σωτήρης Κ. Μανώλης

Διεύθυνση: Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου
Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστημίου Αθηνών
Πανεπιστημιόπολη 157 01 Ζωγράφου Αθήνα
Τηλ. 210 7274 637, 7274 640, Φαξ: 210 7274 635

E-mails

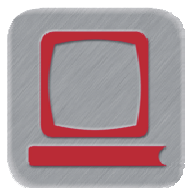
Πρόεδρος: Α. Λάζου (lazou@bio.auth.gr)
Αντιπρόεδρος: Λ.Χ. Μαργαρίτης (lmargar@biol.uoa.gr)
Γεν. Γραμματέας: Σ.Κ. Μανώλης (smanol@biol.uoa.gr)
Ειδ. Γραμματέας: Ι.Δ. Λεονάρδος (ileonard@cc.uoi.gr)
Ταμίας: Σ. Τσάκας (stsakas@upatras.gr)
Πληροφορίες: eebe-2006@biol.uoa.gr

Ιστοσελίδα: <http://kyttariki.biol.uoa.gr>

© Ελληνική Εταιρεία Βιολογικών Επιστημών, 2008

ISBN:

Επιμέλεια έκδοσης



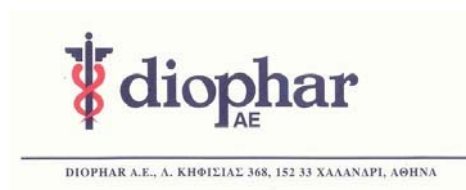
ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΝΕΩΝ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ
Στουρνάρη 49^Α, 106 82, Αθήνα
Τηλ. 210-38.45.594 - Fax: 210-38.08.009
email: contact@newtech-publications.gr
URL: www.newtech-publications.gr

ΧΟΡΗΓΟΙ - SPONSORS

Υπουργείο Εθνικής Παιδείας & Θρησκευμάτων
Υπουργείο Μακεδονίας – Θράκης

Νομαρχιακή Αυτοδιοίκηση Θεσσαλονίκης

Επιτροπή Ερευνών Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου
Θεσσαλονίκης



ΚΟΡΔΟΠΑΤΗΣ Α.Ε.

ION plus

BIOSOLUTIONS

Bioline scientific, Αφοί Ντούρου-Ε. Δεμάγκος Ο.Ε.

BIOSURE R & T Cell Co.

METROLAB

INTERLAB, Κ. Οικονόμου

ΤΣΙΜΠΟΣ ΣΤ. Ε.Π.Ε

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΠΑΡΙΣΙΑΝΟΥ Α.Ε.

Διοικητικό Συμβούλιο ΕΕΒΕ (2008-2010)
Hellenic Society for Biological Sciences Board

| | |
|----------------------------|-----------------------------|
| Πρόεδρος: | Αντιγόνη Λάζου |
| Αντιπρόεδρος: | Λουκάς Χ. Μαργαρίτης |
| Γενικός Γραμματέας: | Σωτήρης Κ. Μανώλης |
| Ειδικός Γραμματέας: | Ιωάννης Λεονάρδος |
| Ταμίας: | Σωτήρης Τσάκας |
| Μέλη: | Αλέκα Στάϊκου |
| | Σπύρος Ευθυμιόπουλος |

Οργανωτική Επιτροπή

Ισίδωρος Μπέης
Λουκάς Μαργαρίτης
Αντιγόνη Λάζου
Σωτήρης Μανώλης
Σύλβια Παπαβασιλείου

Τοπική Οργανωτική Επιτροπή

Αντιγόνη Λάζου
Βασίλειος Μιχαηλίδης

- Η Οργανωτική Επιτροπή δεν φέρει ευθύνη για το περιεχόμενο των περιλήψεων που δημοσιεύονται στον τόμο αυτό.
- **The Organizing Committee has no responsibility for the content of the abstracts published in this volume.**

- Οι εργασίες έχουν ταξινομηθεί αλφαβητικά με βάση το όνομα του πρώτου συγγραφέως, γραμμένο στην ελληνική γλώσσα.
- **Papers have been arranged alphabetically according to the Hellenic-written name of the first author.**

Επιμέλεια Έκδοσης Πρακτικών

Δρ. Σωτήρης Κ. Μανώλης

Τμήμα Βιολογίας

Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών



ATAGO®

BUCHI

CARBOLITE

CEM

HunterLab
Ministry Color - Measure Quality

MALVERN
INSTRUMENTS

METTLER TOLEDO

MM
Mettler Energy

Nabertherm
MORE THAN HEAT SINCE 1946

PANalytical

Parr

Quantachrome
INSTRUMENTS

TELEDYNE LEEMAN LABS
A Teledyne Technologies Company



HELLAMCO
ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

3η Δεκαετία συνεχούς Πρωτοπορίας

στον Επιστημονικό Εξοπλισμό Εργαστηρίων
Ελέγχου Ποιότητας & Έρευνας για:

- Τρόφιμα • Ποτά • Αναψυκτικά • Νερά
- Φάρμακα • Καλλυντικά • Απορρυπαντικά
- Πετρελαιοειδή • Πολυμερή • Λιπάσματα
- Βιοκαύσιμα • Χημικά • Μέταλλα
- Περιβάλλον • Φυτοφάρμακα • Ορυκτά
- Τοξικολογία • Εγκληματολογία
- Anti-doping Control • Τεχνολογία Υλικών, κ.λπ.

Ολοκληρωμένη παρουσία με:

| |
|-----------------------|
| Μελέτη αναγκών |
| Πώληση |
| Εγκατάσταση |
| Εκπαίδευση |
| Συντήρηση |
| Βαθμονόμηση |
| Πιστοποίηση |
| Μεταφορά Τεχνογνωσίας |

Εκπ. 210 619 9454



HELLAMCO®
ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ



HELLAMCO A.E.
Επιστημονικός Εξοπλισμός
e-mail: info@hellamco.gr
www.hellamco.gr

ΕΔΡΑ:
Μαραθώνος 7, 152 33 Χαλάνδρι, Αθήνα
Τηλ.: 210 689 5260, Fax: 210 680 1672
Ταχ. Δ/ση: Τ.Θ. 65074, 154 10 Ψυχικό

ΓΡΑΦΕΙΟ Β. ΕΛΛΑΔΟΣ:
Βασιλ. Όλγας 65, 546 42 Θεσσαλονίκη
Τηλ.: 2310 869 910, Fax: 2310 869 911



ΧΑΙΡΕΤΙΣΜΟΣ
ΤΗΣ ΠΡΟΕΔΡΟΥ ΤΗΣ Ε.Ε.Β.Ε. Καθηγήτριας Α. Λάζου

Αγαπητοί Συνάδελφοι,

Το 30^ο Ετήσιο Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών διοργανώνεται στη Θεσσαλονίκη, από 22 μέχρι και 24 Μαΐου 2008.

Η επιλογή της Θεσσαλονίκης ως τόπου διεξαγωγής του Συνεδρίου, έχει και επετειακό χαρακτήρα, αφού η Ε.Ε.Β.Ε. διοργάνωσε το 1^ο της ετήσιο Συνέδριο στη Θεσσαλονίκη το 1979 κι εφέτος διοργανώνει το 30^ο Συνέδριο.

Οι συμμετοχές εφέτος ξεπέρασαν κάθε προηγούμενο. Θα παρουσιαστούν 15 κεντρικές ομιλίες και 249 posters (αριθμός ρεκόρ). Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι, ο αριθμός των μεταπτυχιακών και προπτυχιακών φοιτητών που συμμετέχουν με ανακοινώσεις συνεχώς αυξάνεται τα τελευταία χρόνια κι αυτό είναι ελπιδοφόρο αφού έτσι έρχονται σε επαφή μεταξύ τους καθώς και με άλλα μέλη ΔΕΠ και ερευνητές, γνωρίζοντας από κοντά τις δραστηριότητες στα διάφορα ερευνητικά πεδία της Βιολογίας.

Το συνέδριο, ως συνήθως, διακρίνεται σε δύο ενότητες, τις προφορικές παρουσιάσεις προσκεκλημένων ομιλητών και τις αναρτώμενες ανακοινώσεις (posters). Οι αναρτώμενες ανακοινώσεις παρουσιάζονται και προφορικά σε ειδικές συνεδρίες, όπως καθιερώθηκε να γίνεται από το συνέδριο του Ναυπλίου το 2005. Εφέτος, όμως, προβλέπεται και μία ειδική συνεδρία όπου θα γίνει παρουσίαση και συζήτηση των posters στο χώρο όπου εκτίθενται.

Επίσης, βρισκόμαστε στην ευχάριστη θέση να σας ενημερώσουμε ότι με τον παρόντα τόμο των Πρακτικών διανέμεται στους συνέδρους και ένα DVD που περιέχει τα Πρακτικά όλων των συνεδρίων σε μορφή pdf.

Η Οργανωτική Επιτροπή ευχαριστεί τους τοπικούς παράγοντες, τον Υπουργό Μακεδονίας-Θράκης κ. Μαργαρίτη Τζίμα και τον Νομάρχη Θεσσαλονίκης κ. Π. Ψωμιάδη, την Επιτροπή Ερευνών του ΑΠΘ και τον Οργανισμό Λιμένος Θεσσαλονίκης για τη σημαντικότερη βοήθεια τους στην οργάνωση του 30^{ου} Συνεδρίου, καθώς επίσης και τους χορηγούς.

Τέλος η Ο.Ε. καλωσορίζει τους Συνέδρους και τους εύχεται «καλή επιτυχία» και ευχάριστη διαμονή.

ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ

ABSTRACTS

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΦΥΛΟΥ ΣΕ ΑΡΧΑΙΟΛΟΓΙΚΟ ΣΚΕΛΕΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ
ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΒΙΟΜΕΤΡΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΜΕΤΑΚΑΡΠΙΚΩΝ ΟΣΤΩΝ ΑΠΟ
ΤΗ ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΣΚΕΛΕΤΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ «THE ATHENS
COLLECTION»**

Αγγελάκη Σ.¹, Πασχαλίδου Π., Κοίλιας Χ.² & Σ.Κ. Μανώλης¹

¹Ερευνητική Ομάδα Βιολογικής Ανθρωπολογίας, Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου,
Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη
15784 Αθήνα. Email: smanol@biol.uoa.gr

²Τμήμα Πληροφορικής, ΤΕΙ Αθήνας, Οδός Αγ. Σπυρίδωνος, 122210 Αιγάλεω Αττικής.
E-mail: ckoilias@teiath.gr

Οι βιολογικοί και δικαστικοί ανθρωπολόγοι αλλά και οι βιοαρχαιολόγοι επίσης, συνήθως προσδιορίζουν το φύλο με την ανάλυση ποσοτικών και ποιοτικών χαρακτηρισμών του ανθρώπινου σκελετού. Γενικά, η λεκάνη και το κρανίο είναι τα σκελετικά μέρη που χρησιμοποιούνται πιο συχνά, αλλά σε πολλές περιπτώσεις τα μέρη αυτά συνήθως λείπουν. Σε τέτοιες περιπτώσεις είναι απαραίτητο να χρησιμοποιηθούν άλλες τεχνικές βασισμένες σε διαφορετικά σκελετικά μέρη. Ο στόχος αυτής της εργασίας είναι η ανάπτυξη εξισώσεων γραμμικής παλινδρόμησης για τον προσδιορισμό του φύλου και βασίζεται στα βιομετρικά δεδομένα των μετακαρπικών οστών από ένα δείγμα σύγχρονου ελληνικού σκελετικού πληθυσμού. Το σκελετικό αυτό δείγμα των σύγχρονων Ελλήνων στεγάζεται στο Πανεπιστήμιο της Αθήνας και είναι γνωστό συλλογικά ως "Athens Collection" (Eliopoulos et al, 2007). Το δείγμα περιλαμβάνει 1126 μετακαρπικά (αριστερά και δεξιά) που ανήκουν σε 198 ενήλικες (106 άνδρες και 92 γυναίκες). Η στατιστική ανάλυση επέτρεψε να λάβουμε έναν μαθηματικό πίνακα (matrix) των πιθανών συνδυασμών μετρήσεων για τα δεξιά και τα αριστερά μετακαρπικά οστά, ο οποίος όταν εισάγονται τα μετρικά δεδομένα προβλέπει το φύλο και βοηθά τον ερευνητή για μια τελική απόφαση. Αυτός ο πίνακας ονομάστηκε "sexing metacarpal tool" και είναι διαθέσιμος σε λογιστικό φύλλο του Excel. Η σωστή ταξινόμηση φύλου κυμαίνεται από 81-89%, για τα άρρενα και 85-88% για τα θήλεα. Επίσης μελετήθηκαν όλα τα διαθέσιμα μετακαρπικά οστά και των δύο χεριών (175 οστά) από το Υστεροελλαδικό νεκροταφείο της Αγίας Τριάδας Ηλείας. Η εφαρμογή του "sexing metacarpal tool" έδωσε σχεδόν τα ίδια αποτελέσματα σε ποσοστό επιτυχούς πρόβλεψης. Συνεπώς, τα αποτελέσματα μας προτείνουν ότι τα μετακαρπικά οστά μπορούν να χρησιμοποιηθούν στις βιοαρχαιολογικές και δικαστικής ανθρωπολογίας μελέτες, σε συνδυασμό με άλλες βασικές τεχνικές προσδιορισμού του φύλου.

**SEX DETERMINATION IN ARCHAEOLOGICAL HUMAN SKELETAL
POPULATIONS USING BIOMETRIC DATA OF METACARPAL BONES
FROM THE MODERN HUMAN SKELETAL REFERENCE COLLECTION**

Aggelaki S.¹, Paschalidou P.¹, Koilias Chr.², & S.K. Manolis¹

¹Dept of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis 15784 Athens, Greece, Email: smanol@biol.uoa.gr

²Department of Informatics, Technological Institution of Athens, Ag. Spyridonos Str, 12210 Aegaleo Attica, Greece. Email: ckoilias@teiath.gr

Biological and Forensic anthropologists and Bioarchaeologists as well, usually determine sex by analyzing quantitative and qualitative characters of the human skeleton. In general, pelvis and skull are the most often skeletal parts used, but in many cases these parts are missing. In such circumstances, it is necessary to use other techniques based on different skeletal parts. The aim of this work is to describe and develop linear regression equations and discriminant functions, for sex determination based in a contemporary Greek population using metacarpal biometric data. The skeletal sample of the modern Greeks is housed at the National and Kapodistrian University of Athens (NKUA) and is known collectively as "The Athens Collection" (Eliopoulos et al., 2007). The sample comprised 1126 metacarpals (left and right), corresponding to 198 adult individuals (106 males and 92 females). The statistical analysis allowed to obtain a matrix of the possible measurements combination for both (right and left metacarpal bones) that when filled is predicting sex and helps the researcher for a final decision. This matrix is named "sexing metacarpal tool" and it is available in an Excel spreadsheet. The correct sex classification rank progressed from 81-89%, for all male metacarpals and 85-88%, for the female metacarpals. We also studied all the available metacarpal bones of both hands (175 bones) coming from the Late Bronze Age cemetery of Aghia Triada, Elis. The application of the "sexing metacarpal tool" gave almost the same results. Thus, these results suggest that metacarpals can be used for sexing in bioarchaeological, and forensic studies, additional to other basal techniques.

**ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΤΩΝ ERKs ΚΑΙ JNKs ΣΤΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΥΠΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ
ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ mRNA ΚΑΙ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΤΟΥ
ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ EGR-1 ΣΕ H9c2 ΚΥΤΤΑΡΑ**

Αγγελή Ι.Κ., Γαϊτανάκη Αικ. και Μπέης Ι.

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπων, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστιμιούπολη
Ιλίσσια, 157 84 Αθήνα*

¹ ikaggeli@biol.uoa.gr; ² cgaitanaki@biol.uoa.gr; ³ ibeis@biol.uoa.gr

Ένα από τα σημαντικότερα στρεσογόνα ερεθίσματα στα οποία εκτίθενται τα καρδιακά κύτταρα είναι η επίδραση ενεργών ριζών οξυγόνου (ROS) π.χ. στην ισχαιμία, την επαναιμάτωση και τις αρρυθμίες. Ο εμπλεκόμενος στην πρώιμη ανάπτυξη μεταγραφικός παράγοντας Egr-1 (Early growth response factor-1) έχει βρεθεί ότι ενέχεται σε ποικιλία βιολογικών διεργασιών όπως ο πολλαπλασιασμός και η απόπτωση, προάγοντας την προστασία κυττάρων και ιστών έναντι του οξειδωτικού στρες. Κρίθηκε λοιπόν σκόπιμη η διερεύνηση των σηματοδοτικών μονοπατιών που συμμετέχουν στη ρύθμισή του. Επίδραση 200μM H₂O₂ σε καρδιακούς μυοβλάστες H9c2 προκάλεσε αύξηση των επιπέδων mRNA του Egr-1, η οποία μεγιστοποιήθηκε στις 2 ώρες. Παρουσία αναστολέων των ERKs (PD98059) και JNKs (SP600125 και AS601245) διαπιστώθηκε αναστολή της παραπάνω απόκρισης. Εξετάζοντας την απόκριση του Egr-1 σε επίπεδο πρωτεΐνης, μέγιστα επίπεδά της ανιχνεύθηκαν μετά από 2 ώρες επίδρασης H₂O₂, παραμένοντας υψηλά για τουλάχιστον 6 ώρες. Παρουσία των ειδικών για τις ERKs και JNKs αναστολέων, σημειώθηκε καταστολή της συγκεκριμένης απόκρισης. Πειράματα ανοσοκυτταροχημείας κατέδειξαν τον καθοριστικό ρόλο των ERKs και JNKs και στην επαγόμενη από το υπεροξειδίο συσσώρευση του Egr-1 στον πυρήνα. Τα αποτελέσματά μας αναδεικνύουν για πρώτη φορά την εμπλοκή των ERKs και JNKs στην επαγόμενη από το οξειδωτικό στρες απόκριση του Egr-1 σε επίπεδο μεταγραφής, μετάφρασης και σε ότι αφορά στην υποκυτταρική του κατανομή. Περαιτέρω μελέτες χρειάζονται βέβαια ώστε να αποσαφηνιστεί ο ρόλος του μεταγραφικού αυτού παράγοντα στη γονιδιακή έκφραση και την κυτταρική ομοιόσταση.

Η παρούσα έρευνα χρηματοδοτήθηκε από προγράμματα του Ε.Λ.Κ.Ε.

**H₂O₂-INDUCED EGR-1 mRNA AND PROTEIN UPREGULATION AS WELL
AS NUCLEAR ACCUMULATION ARE ERKS- AND JNKS-DEPENDENT IN
H9c2 cells**

Aggeli I.K.¹, Gaitanaki C.², and Beis I.³

*Dept. of Animal and Human Physiology, School of Biology, University of Athens,
Panepistimioupolis Ilissia, 157 84 Athens*

¹ikaggeli@biol.uoa.gr; ²cgaitanaki@biol.uoa.gr; ³ibeis@biol.uoa.gr

One of the most significant insults that jeopardize cardiomyocyte homeostasis is a surge in the levels of reactive oxygen species (ROS) i.e. during ischemia, reperfusion, arrhythmias as well as in the failing myocardium. Early growth response factor-1 (Egr-1) has been found to act as a transcriptional regulator in a variety of biological processes as diverse as proliferation and apoptosis, protecting cells and tissues against oxidative damage. We thus decided to investigate the signaling pathways involved in its regulation. Egr-1 mRNA levels were found to be maximally induced after 2h in H₂O₂-treated H9c2 cells. Blockade of ERKs and JNKs by appropriate pharmacological inhibitors significantly inhibited this response. Looking into Egr-1 respective response at the protein level, we found that the latter was maximally induced after 2h of treatment with 200μM H₂O₂, remaining elevated for 6h, declining thereafter. H₂O₂-induced upregulation of Egr-1 protein levels was ablated in the presence of the selective ERKs inhibitor PD98059 and the widely used inhibitors of JNKs: SP600125 and AS601245. In an effort to examine the subcellular distribution of Egr-1 under these conditions, immunofluorescent experiments revealed H₂O₂-induced Egr-1 nuclear sequestration to be also dependent on ERK and JNK cascades. Our results show for the first time the potential role of ERKs and JNKs in the mechanism regulating Egr-1 response to the oxidative stress signal in cardiomyoblasts at multiple levels i.e. mRNA, protein and subcellular localization. Nevertheless, further studies are essential so as to elucidate the specific effect of Egr-1 response on modulation of gene expression and determination of cell fate.

This work was funded by grants from the Special Research Account

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΠΙΘΑΝΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ T/C ΤΟΥ ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ CYP17 ΜΕ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΝΟΣΟ ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ

Αγιαννιτόπουλος Κ¹, Κασπαριάν Χ², Βοττέας Β², Λάμνησου Κ¹

¹ Τομέας Γενετικής & Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, klamnis@biol.uoa.gr ² Καρδιολογική Κλινική, Λαϊκό Νοσοκομείο Αθηνών

Το γονίδιο CYP17 κωδικοποιεί για το ένζυμο του κυτοχρώματος P450c17a, το οποίο συμμετέχει στο μεταβολικό μονοπάτι των στεροειδών ορμονών. Ο πολυμορφισμός T/C του υποκινητή του γονιδίου αυτού έχει δείχθει ότι συνδέεται με αυξημένα επίπεδα ανδρογόνων και οιστρογόνων στο ορό του αίματος. Στην παρούσα εργασία, μελετήσαμε την πιθανή συσχέτιση του πολυμορφισμού αυτού του γονιδίου CYP17 με την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου στον ελληνικό πληθυσμό. Για την ομάδα των ασθενών, χρησιμοποιήσαμε 99 άτομα με στεφανιαία νόσο, η οποία διαπιστώθηκε με στεφανιογραφία. Για την ομάδα ελέγχου, χρησιμοποιήσαμε 105 υγιή άτομα του γενικού πληθυσμού ελληνικής καταγωγής με φυσιολογικά ηλεκτροκαρδιογραφήματα. Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε ήταν: απομόνωση DNA, εφαρμογή της μεθόδου PCR-RFLP και καταγραφή των γονοτύπων των ατόμων. Οι συχνότητες των γονοτύπων A1A1, A1A2, A2A2 ήταν: 0.43, 0.39, 0.17, αντίστοιχα, για τους ασθενείς και 0.28, 0.48, 0.23, για την ομάδα ελέγχου. Οι συχνότητες των αλληλομόρφων A1 και A2 για τους δύο πληθυσμούς ήταν: 0.63 και 0.37, αντίστοιχα, για τους ασθενείς και 0.52 και 0.48 για την ομάδα ελέγχου. Ανάλυση των αποτελεσμάτων αυτών έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συχνοτήτων των γονοτύπων και των γονιδίων ανάμεσα στους ασθενείς και στα υγιή άτομα ($P=0.1386$). Η μελέτη συνεχίζεται αλλά τα μέχρι τώρα αποτελέσματά μας οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η παρουσία του αλληλομόρφου A2 (C) του πολυμορφισμού T/C του υποκινητή του γονιδίου CYP17 δε μπορεί να θεωρηθεί επιβαρυντικός παράγοντας για την εκδήλωση στεφανιαίας νόσου στον ελληνικό πληθυσμό.

Η παρούσα εργασία χρηματοδοτήθηκε από τον ΕΛΚΕ του Πανεπιστημίου Αθηνών.

**STUDY FOR ASSOCIATION BETWEEN THE POLYMORPHISM T/ C OF THE
PROMOTER OF THE CYP17 GENE AND THE RISK OF PREMATURE
CORONARY ARTERY DISEASE IN THE GREEK POPULATION**

Agiannitopoulos K.¹, Kasparian H.², Votteas V.², Lamnissou K.¹

¹Dept of Biology, University of Athens, Greece. ²Dept of Cardiology, "Laiko" Hospital, Athens

The CYP17 gene encodes the enzyme cytochrome P450c17 α , which functions at key steps in the genesis of human sex steroid hormones. A T/C polymorphism in the 5' promoter region of the CYP17 gene has been described. Serum levels of androgens and estrogens have been shown to be elevated in individuals who carry the C substitution (A2 allele). In the present study, we investigated the possible association between the T/C polymorphism of the promoter of CYP17 gene on risk of coronary artery disease (CAD) in the Greek population. In the prospective case-control study, 99 CAD patients, documented by coronary angiography, aged less than 65 years and 105 healthy controls were studied. To genotype the subjects we used the PCR-RFLPs method. The frequencies of GG, GC, CC genotypes were 0.43, 0.39, 0.17, respectively, in the patient group and 0.28, 0.48, 0.23, respectively, in the control group. The data between the two groups were analyzed by chi-square test. Our results showed that there were no patient/control significant differences (P=0.1386) and suggest that there is no association of the T/ C promoter polymorphism of the CYP17 gene with the risk of premature coronary artery disease in the Greek population.

This work was supported by grant from the Special Research Account of Athens University.

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΒΟΛΦΡΑΜΙΟΥ ΣΤΟΥΣ ΜΙΚΡΟΣΩΛΗΝΙ-ΣΚΟΥΣ ΤΩΝ
ΜΕΡΙΣΤΩΜΑΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΗΣ ΡΙΖΑΣ
ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *Pisum sativum***

Αδαμάκης Σ. Ι.-Δ., Ελευθερίου Π.Ε.

*Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 541 24
Θεσσαλονίκη, E-mail: eeleft@bio.auth.gr*

Το βολφράμιο (W), ένα από τα βαρέα και σπάνια απαντώμενο αλλά ευρέως χρησιμοποιούμενο μέταλλο, έχει τοξική επίδραση στους οργανισμούς, περιλαμβανόμενων και των φυτών. Η τοξική του δράση εκδηλώνεται ως αναστολή της ανάπτυξης του φυτού και ως διαταραχή πολλών υποκυτταρικών δομών, πιθανώς περιλαμβανόμενων και των μικροσωληνίσκων. Η ακεραιότητα και η φυσιολογική λειτουργία των μικροσωληνίσκων είναι θεμελιώδους σημασίας για την ομαλή διαίρεση, αύξηση και μορφογένεση των φυτικών κυττάρων. Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε με μικροσκοπία φθορισμού, συνεστιακή και ηλεκτρονική μικροσκοπία η επίδραση του βολφραμίου στην οργάνωση των μικροσωληνίσκων κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου μεριστωματικών κυττάρων της ρίζας αρτιβλάστων του φυτού *Pisum sativum* (μπιζέλι). Τα κύτταρα στα οποία έγινε επίδραση βολφραμίου εμφάνιζαν σοβαρή διαταραχή σε όλα τα συστήματα μικροσωληνίσκων: η προ-προφασική ζώνη μικροσωληνίσκων εμφανίζεται ως άθροισμα άτυπων πολυμερών σωληνίνης, το περιπυρηνικό σύστημα μικροσωληνίσκων στην πρόφαση δεν οργανώνεται, η μεταφασική και αναφασική άτρακτος είναι ανώμαλη και οι δέσμες μικροσωληνίσκων διέρχονται μέσα από τα χρωματοσώματα, ενώ στη μεσόφαση εντοπίζονται παχέα και συχνά διακεκομμένα νήματα σωληνίνης. Τα μεταφασικά και αναφασικά χρωματοσώματα εμφανίζονται ως άμορφη μάζα. Ορισμένοι μεσοφασικοί πυρήνες περιέχουν άμορφες φθορίζουσες περιοχές, που στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο παρουσιάζονται ως τοπικές συναθροίσεις χρωματίνης που οριοθετούνται από διπλή μεμβράνη πυρηνικού φακέλου. Τα αποτελέσματα αποκαλύπτουν ότι η επίδραση του βολφραμίου προκαλεί σοβαρή διαταραχή των συστημάτων μικροσωληνίσκων και των λειτουργιών που αυτοί επιτελούν, με αποτέλεσμα την αναστολή ανάπτυξης του φυτού.

**TUNGSTEN EFFECTS ON MICROTUBULES OF THE ROOT MERISTEMATIC
CELLS OF *Pisum sativum***

Adamakis S.I.-D., Eleftheriou P.E.

*Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 541 24 Thessaloniki,
E-mail: eelefth@bio.auth.gr*

Tungsten (W), a heavy and rare but widely used metal, causes toxicity to living organisms, including plants. Its toxic effects are manifested as inhibition of plant growth and disturbance of subcellular components, most probably including microtubules. Structural and functional integrity of microtubules is essential for the normal division, growth and morphogenesis of plant cells. In the present study we investigated by fluorescence, confocal and electron microscopy the effects of sodium tungstate (Na_2WO_4) on the microtubule array organization during the cycle of root tip meristematic cells of pea seedlings (*Pisum sativum*). In tungstate-treated cells all microtubule arrays were considerably disturbed: the preprophase microtubule band appeared as a bundle of atypical tubulin polymers, the perinuclear system of microtubules did not organize, and the metaphase and anaphase spindle was irregular, while the microtubule bundles traversed the chromosome areas. In interphase cells thick, cortical and frequently interrupted tubulin filaments were localized. In the supposed metaphase and anaphase nuclei chromosomes were rather vague in outline, some interphase nuclei contained amorphous fluorescent masses, which in electron micrographs appeared as local aggregations of chromatin surrounded by nuclear envelope-like double membrane. Results obtained here are consistent with the view that tungsten causes severe disturbance of all arrays of microtubules and affects their function, which consequently interrupts plant growth and development.

**ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΟΥ ΝΕΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΩΝ
ΣΠΟΥΔΩΝ ΚΑΙ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΣΧΕΤΙΚΑ ΜΕ ΤΙΣ ΣΠΟΥΔΕΣ ΣΤΟ ΤΜ.
ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ Α.Π.Θ.**

Αϊβαζίδης Κ.¹, ΟΜ.Ε.Α.²

¹ Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης
Πανεπιστημιούπολη 54124 Θεσσαλονίκη. E-mail: ai vazidis@gmail.com

² Ομάδα Εσωτερικής Αξιολόγησης*, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο
Θεσσαλονίκης Πανεπιστημιούπολη 54124 Θεσσαλονίκη.
E-mail: QualityAssuranceforHE@gmail.com

Η διασφάλιση της ποιότητας είναι μια νέα τάση στην Εθνική τριτοβάθμια εκπαίδευση αλλά για το Τμήμα Βιολογίας του Α.Π.Θ. αυτή είναι μια γνωστή διαδικασία, η οποία ξεκίνησε στο πλαίσιο του προγράμματος ΕΠΕΑΚ για την αναμόρφωση του προπτυχιακού προγράμματος σπουδών. Τα μαθήματα του νέου προγράμματος προπτυχιακών σπουδών του Τμ. Βιολογίας που εφαρμόζεται από την ακαδημαϊκή χρονιά 2003-2004 αξιολογούνται κάθε χρόνο από τους φοιτητές του Τμήματος με τη συμπλήρωση ερωτηματολογίων και τα αποτελέσματα αυτής της αξιολόγησης συγκρινόμενα με τα αντίστοιχα αποτελέσματα του προηγούμενου προγράμματος σπουδών δείχνουν μια στατιστικά σημαντική ($p < .000$) αύξηση του δείκτη ποιότητας. Επίσης, η εκτίμηση στοιχείων σχετικά με την κατανομή των φοιτητών σε ενεργούς, ανενεργούς, επί πτυχίω και λιμνάζοντες, τη διαχρονική κατάσταση της σύνθεσης του πληθυσμού ανά τρόπο εισαγωγής, τα ποσοστά συμμετοχής και επιτυχίας στις εξετάσεις, την κατανομή των βαθμών στα μαθήματα, το βαθμό του πτυχίου και τη διάρκεια σπουδών, επιτρέπει μια ολοκληρωμένη εκτίμηση της ποιότητας της παρεχόμενης εκπαίδευσης.

* Η ΟΜ.Ε.Α. του Τμ. Βιολογίας Α.Π.Θ. αποτελείται από τους Καθηγητές-τριες Μαρία Λαζαρίδου, Δέσποινα Βώκου, Θεόδωρο Αμπατζόπουλο και Κωνσταντίνο Στεργίου. Υποστηρικτικό προσωπικό αποτελούν οι Λέκτορες Αλέξανδρος Τριανταφυλλίδης, Ευθυμία Αντωνοπούλου, Κωνσταντίνος Βλαχονάσιος, και Ιωάννης Τσιριπίδης, ο Λέκτορας Π.Δ. 407/80 Κωνσταντίνος Αϊβαζίδης και οι Ι.Δ.Α.Χ. Νικόλαος Κρίγκας, Χρυσοβαλάντης Παπαευθυμίου, Αθανάσιος Μπαξεβάνης, και Ευδοξία Τσακίρη.

EVALUATION OF THE NEW UNDERGRADUATE CURRICULUM AND DATA ABOUT THE STUDIES AT THE SCHOOL OF BIOLOGY A.U.Th.

Aivazidis C.¹, OM.E.A.²

¹ School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, University Campus 54124, Thessaloniki.

E-mail: aivazidis@gmail.com

² Team of Internal Evaluation, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki,
University Campus 54124, Thessaloniki. E-mail: QualityAssuranceforHE@gmail.com

The quality assurance may be a new trend in national higher education but for the School of Biology of A.U.Th. this is a well known procedure, which has started with the reformation of the undergraduate curriculum that has been funded by the the European Union (75%) and the Ministry of Education. The courses of the new undergraduate curriculum that initiated in academic year 2003-2004 were evaluated with a survey research annually by the students of the School. The comparison of the results of this evaluation with the results of the evaluation of the old curriculum showed a statistically significant ($p < .000$) increase of the quality index. Moreover, the analysis of data concerning a) the distribution of active, inactive, senior and stagnant students, b) the longitudinal composition of students population per induction type, c) the percentage of participating students and their success in exams, d) the distribution of course grades and graduate grade and e) the duration of the studies allow an intergraded estimation of the quality of the provided education.

Members of the OM.E.A. are the Professors Maria Lazaridou, Despoina Vokou, Theodoros Abatzopoulos and Konstantinos Stergiou. The work of OM.E.A. is supported by the Lecturers Alexander Triantafyllidis, Efthimia Antonopoulou, Konstantinos Vlachonassios and Ioannis Tsiripidis, the Lecturer 407/80 Konstantinos Aivazidis and the I.D.A.X. Nikolaos Krigas, Athanasios Mpaxevanis, Chrysovalantis Papaefthimiou and Eudoxia Tsakiri.

ΚΑΛΛΟΓΕΝΕΣΗ ΤΟΥ ΕΝΔΗΜΙΚΟΥ ΦΥΤΟΥ *SIDERITIS TROJANA*

Aki Cuneyt και Nursen Corduk

Canakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Sciences and Arts, Department of Biology, 17020,
Canakkale, TURKEY.

E-mail: cuneytaki@comu.edu.tr ; nursencorduk@comu.edu.tr

Το *Sideritis trojana* είναι ένα ενδημικό φυτό της περιοχής Canakkale Kazdagi της Τουρκίας. Σε αυτή τη έρευνα, παρουσιάζονται βελτιώσεις στη καλλιέργεια κάλλου από το *Sideritis trojana* κάτω από *in vitro* συνθήκες. Ως έκφυτα χρησιμοποιήθηκαν φύλλα του *Sideritis trojana* που συλλέχθηκαν από την περιοχή Kazdagi. Μετά από απολύμανση, τα έκφυτα μεταφέρθηκαν σε petri τα οποία περιείχαν υπόστρωμα MS (Murashige and Skoog, 1962) με διαφορετικούς συνδυασμούς και συγκεντρώσεις ρυθμιστών φυτικής αύξησης, 3% σουκρόζη και 0,8% αγαρόζη, για την παραγωγή κάλλων. Τα έκφυτα αναπτύχθηκαν σε θαλάμους ανάπτυξης φυτών κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες, 26±2°C και 16/8 φωτοπεριόδου με 72W/m² ένταση φωτός. Διαφορετικά υποστρώματα εκδήλωσαν διαφορετικές αποκρίσεις στην ικανότητα καλλογένεσης. Η μεγαλύτερη επαγωγή κάλλων επιτυγχάνθηκε με τον συνδυασμό 3 mg/L Κινετίνη και 0,1 mg/L 2,4D. Οι κάλλοι ήταν πράσινοι, συνεκτικοί και είχαν μεριστωματικά χαρακτηριστικά. Όλοι οι κάλλοι ανακαλλιεργήθηκαν με αποτέλεσμα την αύξηση της βιομάζας τους. Επιπρόσθετα χρησιμοποιήθηκαν *in vitro* καλλιέργειες κάλλων για έμμεση οργανογένεση στα φυτά *Sideritis* και προετοιμάστηκαν αποθεματικές καλλιέργειες κάλλων για μελλοντική έρευνα.

CALLOGENESIS OF KAZDAGI ENDEMIC PLANT SIDERITIS TROJANA

Aki Cuneyt and Nursen Corduk

*Canakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Sciences and Arts, Department of Biology, 17020,
Canakkale, TURKEY.*

E-mail: cuneytaki@comu.edu.tr ; nursencorduk@comu.edu.tr

Sideritis trojana is an endemic plant of Canakkale Kazdagi, Turkey. In this research, *Sideritis trojana* callus culture had been improved *in vitro* conditions. Leaves taken from *Sideritis trojana* which collected from Kazdagi were used as an explant source. After surface sterilization, explants transferred to the petri dishes which were containing Murashige and Skoog medium (Murashige and Skoog,1962) supported with different combinations and concentrations of plant growth regulators for callus inductions. All of the culture medium were consisted MS basal medium, 3 % sucrose and 0,8% agar. Explants were incubated in plant growth chamber under controlled conditions $26\pm 2^{\circ}\text{C}$ and 8/16 photoperiod with 72 W/m^2 light. Different mediums gave different response by the meaning of callogenesis. The best callus induction were realized in MS medium which supported with 3 mg/L Kinetin, 0,1 mg/L 2,4 D. Callus was green, compact and had meristemoids. All callus were subcultured and increasing in biomass were observed during subculture series. In addition that we used *in vitro* callus culture series for indirect organogenesis in *Sideritis* plants and we prepared stock culture of callus for future research

**ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΗΣ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ
ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ ΣΕ ΣΥΝΑΡΤΗΣΗ ΜΕ ΤΟ ΧΡΟΝΟ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ
ΣΕ ΑΣΚΟΥΣ ΜΕΤΑΓΓΙΣΗΣ**

Ακριδάς Γ., Κριεμπάρδης Α., Αντωνέλου Μ., Μαργαρίτης Λ.Χ., Παπασιδέρη Ι.

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Πανεπιστημιούπολη 15784 Αθήνα, E-mail: ipapasid@biol.uoa.gr*

Η *ex vivo* αποθήκευση των συμπυκνωμένων ερυθροκυττάρων (ΣΕ) αποτελεί ένα σύστημα-μοντέλο για τη μελέτη των μονοπατιών σηματοδότησης στην κυτταρική γήρανση. Κατά την αποθήκευση αναδιαμορφώνεται η μεμβράνη των ΣΕ με τρόπο ανάλογο των συνθηκών συντήρησης του ασκού. Έγινε μελέτη των αλλαγών των πρωτεϊνών της μεμβράνης κατά τη διάρκεια αποθήκευσης ΣΕ στο αντιπηκτικό CPD-SAGM χωρίς λευκαφαίρεση. Απομονώθηκαν μεμβράνες, κυτταροσκελετοί και κυτταροπλάσματα από αποθηκευμένα κύτταρα και αναλύθηκαν με τεχνικές ηλεκτροφόρησης και ανοσοαποτυπώματος κατά Western σε διαφορετικά χρονικά σημεία, από την αιμοδοσία μέχρι και μετά τη μεταγγίσιμη περίοδο χρήσης του ασκού. Η αποθήκευση των ΣΕ επιφέρει μεταβολές στο μακροσύνμπλοκο της ζώνης-3, ενώ δεν επηρεάζει το σύνμπλοκο της γλυκοφορίνης C. Οι σκελετικές πρωτεΐνες (σπεκτρίνες, ακτίνη, πρωτεΐνες 4.1, και 4.2) παραμένουν σταθερές ενώ οι κυτταρο-πλασματικές αιμοσφαιρίνη, συνεξίνη και σορκίνη, μετατοπίζονται στη μεμβράνη μετά τη δεύτερη εβδομάδα αποθήκευσης. Ανιχνεύθηκε επίσης πρόσδεση αποδιαταγμένης αιμοσφαιρίνης στους σκελετούς και τις ερυθροκυτταρικές μεμβράνες. Τέλος πρωτεΐνες που σχετίζονται με τις λιπιδικές σχεδίες, όπως η στοματίνη και οι φλοτιλίνες εγκαταλείπουν τη μεμβράνη πιθανόν εισαγόμενες στα ερυθροκυτταρικά μικροκυτίδια. Τα δεδομένα αυτά υποστηρίζουν προηγούμενα ευρήματά μας σχετικά με την τροποποίηση ερυθροκυτταρικών πρωτεϊνών ως παράγοντα της αποθηκευτικής βλάβης και ανοίγουν νέες κατευθύνσεις στην έρευνα των βέλτιστων συνθηκών αποθήκευσης ΣΕ που προορίζονται για μετάγγιση.

Η μελέτη αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς την Ι. Παπασιδέρη. Ο Υποψήφιος Διδάκτορας Α. Κριεμπάρδης είναι υπότροφος του Ιδρύματος Κρατικών Υποτροφιών.

MODIFICATIONS OF RED CELL MEMBRANE PROTEINS DURING BLOOD STORAGE PERIOD IN TRANSFUSION UNITS

Akridas G., Kriebardis A., Antonelou M., Margaritis L.H., Papassideri I.

*Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens,
Panepistimiopolis 157 84, Athens. E-mail: ipapasid@biol.uoa.gr*

Ex vivo storage of packed red blood cells (pRBCs) is a model system for studying signaling pathways operating in cell senescence. Under certain conditions of blood storage, the pRBC membrane undergoes widespread remodeling over the storage time. We investigated the red cell membrane protein modifications during the storage of CPD-SAGM-preserved pRBCs units, without leukoreduction. Membrane ghosts, cytoskeleton and cytoplasm fractions were prepared from the pRBCs units at eight different time-points of the storage period and shortly afterwards and analyzed of SDS-PAGE densitometry and immunoblotting. We observed changes in the expression and the oligomerization of proteins associated with band-3 macrocomplex but not in those participating in the skeleton-associated complex of glycophorin C, nor in those consisting the submembrane skeleton (spectrin, actin, 4.1R and 4.2). The cytoplasmic proteins hemoglobin, synexin and sorcin moved from the cytosol to the membrane after the second week of storage. We also detected gradually increasing binding of denatured and aggregated hemoglobin to the ghosts and the skeletons of pRBCs. The lipid raft-associated proteins stomatin and flotillins leave the membrane, probably following the released microvesicles. These data are consistent with our previous studies on RBC membrane modifications as a part of the storage lesion and suggest new research perspectives towards the optimization of the storage conditions used in blood units intended for transfusion.

This study was supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to I. S. Papassideri. PhD student A. Kriebardis, MSc also thanks the "Hellenic State Scholarship Foundation" for the award of PhD fellowship.

**ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΣΕ
ΦΩΚΑΙΝΑ (*PHOCOENA PHOCOENA*) ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΚΑΒΑΛΑΣ (Β.
ΑΙΓΑΙΟ)**

Ακριτοπούλου Ε.¹, Γεροβασιλίου Β.¹, Κουτσούμπας Δ.¹ & Α. Καλλιανιώτης²

¹ Τμήμα Επιστημών της Θάλασσας, Σχολή Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Λόφος
Πανεπιστημίου, 81100 Μυτιλήνη, Ελλάδα, E-mail: tsakali20@yahoo.gr

² Ινστιτούτο Αλιευτικής Έρευνας (ΙΝ.ΑΛ.Ε.), Νέα Πέραμος, 64007 Καβάλα, Ελλάδα,
E-mail: akallian@inale.gr

Παρόλο που η φώκαινα (*Phocoena phocoena*) θεωρείται ένα εξαιρετικά σπάνιο είδος Κητώδους για τη Μεσόγειο, ένας σχετικά μικρός πληθυσμός *P. phocoena relicta* ζει στη Μαύρη Θάλασσα. Περιορισμένος αριθμός αναφορών του υποείδους αυτού έχει αναφερθεί στο παρελθόν σποραδικά, στο Β. Αιγαίο, πιθανώς προερχόμενος από τη Μαύρη Θάλασσα. Στις 20 Ιουλίου 2005, μία νεκρή νεαρή φώκαινα, από την περιοχή της Καβάλας, που αποτελεί την έβδομη αναφορά του είδους, μεταφέρθηκε στο Ινστιτούτο Αλιευτικών Ερευνών (ΙΝ.ΑΛ.Ε.). Στη νεαρή νεκρή φώκαινα (αρσενικό άτομο) λήφθηκαν ιστοί από το ήπαρ και τον πνεύμονα για ανάλυση ιστολογική και παθολογοανατομική. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης έδειξαν ότι ο θάνατος του ατόμου προήλθε από πνευμονία παρασιτικής αιτιολογίας, οφειλόμενη σε Νηματώδεις του γένους *Halocercus* spp.

**PRELIMINARY RESULTS OF HISTOLOGICAL ANALYSIS ON HARBOR
PORPOISE (*PHOCOENA PHOCOENA*) FROM NORTH AEGEAN SEA
(KAVALA, GREECE)**

Akritopoulou E.¹, Gerovasileiou V.¹, Koutsoubas D.¹ & A. Kallianiotis²

¹*Department of Marine Sciences, School of Environment, University of the Aegean, University Hill,
81100 Mytilene, Greece, E-mail: tsakali20@yahoo.gr*

²*Fisheries Research Institute, Nea Peramos, 64007 Kavala, Greece, E-mail: akallian@male.gr*

Harbor porpoise (*Phocoena phocoena*), is considered to be an extremely rare species of Cetacean in the Mediterranean Sea, even if a population of the subspecies *P. phocoena relict* lives in the Black Sea. A small group of animals, originated from the later area, has been scarcely reported from the N. Aegean Sea in the past. On the 20th July 2005, a juvenile dead male individual, was brought to the Fisheries Research Institute (Kavala, Greece), consisting the 7th record of this species in Greece. During the necropsy and autopsy of the dead individual, tissues from the liver and lungs were collected for histological and pathological analysis. The research findings indicate that the cause of the young harbor porpoise's death was pneumonia due to the effect of the pulmonary nematodes ('lung worms') *Halocercus* spp.

**ΤΟ ALL-TRANS ΡΕΤΙΝΟΪΚΟ ΟΞΥ (ATRA) ΚΑΙ ΤΟ ΣΤΕΡΟΕΙΔΙΚΟ ΤΟΥ
ΑΝΑΛΟΓΟ (EA-4) ΠΡΟΚΑΛΟΥΝ ΑΥΞΗΜΕΝΕΣ ΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ ΜΙΚΡΟΠΥ-
ΡΗΝΩΝ ΣΕ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ *In vitro*****Alakhras R.¹, Ευθυμίου Μ.¹, Στεφάνου Γ.¹, Δημόπουλος Ν.Α.¹,
Νικολαρόπουλος Σ.Σ²**¹Τμήμα Βιολογίας, E-Mail: ndemop@biology.upatras.gr ²Τμήμα Φαρμακευτικής, E-
Mail: snikolar@upatras.gr Πανεπιστήμιο Πατρών, 265 00 Πάτρα

Η βιταμίνη Α και οι μεταβολίτες της, ρετινάλη και ρετινοϊκό οξύ, είναι σημαντικά μόρια για τη ρύθμιση της κυτταρικής ανάπτυξης, της διαφοροποίησης και άλλων κυτταρικών λειτουργιών. Τα ρετινοειδή παρουσιάζουν τόσο μεταλλαξιγόνο όσο και αντιμεταλλαξιγόνο δράση. Τα μέχρι τώρα βιβλιογραφικά δεδομένα δεν αναφέρουν πληροφορίες για την ικανότητα του all-trans-ρετινοϊκού οξέος (ATRA) να επάγει μικροπυρήνες (MN). Διερευνάται η ικανότητα του ATRA και του στεροειδικού του αναλόγου EA-4 να προκαλεί αυξημένες συχνότητες MN σε καλλιέργειες ανθρώπινων λεμφοκυττάρων *in vitro*. Οι MN είναι πυρηνικό υλικό εκτός του πυρήνα και δημιουργούνται λόγω χρωμοσωματικής θραύσης ή/και χρωμοσωματικής καθυστέρησης. Ο προσδιορισμός των συχνοτήτων των MN έγινε με τη μέθοδο αναστολής της κυτταροκίνησης (CBMN). Εκτιμήθηκε επίσης η ικανότητα των εξεταζόμενων ενώσεων να επηρεάζουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό με υπολογισμό του δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού (CBPI). Η μέθοδος CBMN συνδυαζόμενη με άλλες μεθόδους, όπως η CREST και FISH, μας πληροφορεί για το μηχανισμό προέλευσης των MN. Έγιναν καλλιέργειες λεμφοκυττάρων, από τρεις υγιείς, νεαρής ηλικίας δότες, στις οποίες επιδράσαμε με διαφορετικές συγκεντρώσεις των δύο ρετινοειδών (10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} M). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι και τα δύο μειώνουν το CBPI. Η μείωση αυτή συσχετίζεται γραμμικά με τη συγκέντρωση για το ATRA, ενώ για το EA-4 η γραμμική σχέση είναι οριακή. Παρατηρήθηκε επίσης αύξηση της συχνότητας των MN η οποία είναι στατιστικά σημαντική για τις δύο μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Η αύξηση ακολουθεί γραμμική σχέση με τη συγκέντρωση τόσο για το ATRA όσο και για το EA-4. Προκαταρκτικά αποτελέσματα με ανάλυση FISH έδειξαν ότι ο κύριος μηχανισμός δράσης του ATRA είναι η δημιουργία ρηγμάτων. Φαίνεται επίσης να υπάρχει τάση συμμετοχής χρωμοσωματικής καθυστέρησης. Η τελευταία παρατήρηση απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση.

**HUMAN LYMPHOCYTES EXPOSED *IN VITRO* TO ALL-TRANS RETINOIC ACID
(ATRA) AND ITS STEROIDAL ANALOGUE (EA-4) EXERT INCREASED
MICRONUCLEUS FREQUENCY**

**Alakhras R. ¹, Efthimiou M.¹, Stephanou G.¹, Demopoulos N.A.¹,
Nikolaropoulos S.S.²**

¹ *Department of Biology, E-Mail: ndemop@biology.upatras.gr* ² *Department of Pharmacy, E-Mail:
snikolar@upatras.gr, University of Patras, 265 00 Patras, Greece*

Vitamin A and its metabolites retinal and retinoic acid are important for regulation of normal cellular growth, differentiation and other important functions. Retinoids are known to exert mutagenic as well as antimutagenic activity. Since there is no information to our knowledge about the ability of all-trans-retinoic acid (ATRA) to induce micronucleus (MN) formation, it would be of interest to study the ability of ATRA and its steroidal analogue EA-4 to enhance micronucleation in human lymphocytes cultured *in vitro*. Micronuclei (MN) consist of chromosome fragments and/or whole chromosome as a result of chromosome breakage and chromosome delay, respectively. MN frequency was determined using the Cytokinesis Blocked Micronucleus assay (CBMN). The ability of the compounds to affect cell proliferation was also evaluated by estimating the Cytokinesis Blocked Proliferation Index (CBPI). Lymphocyte cultures were established from three healthy young donors. Both compounds were investigated at four different concentrations 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} M. It was shown that ATRA, as well as EA-4, exert cytostatic activity by reducing the CBPI. Regression analysis showed that this reduction follows a linear dose-response for ATRA, while this is borderline for EA-4. An increase in MN frequency was also observed for both compounds that is statistically significant at the two higher concentrations, and follows a dose-response for both compounds. The mechanism by which ATRA and EA-4 cause MN generation was assessed at the higher studied concentration, in one of the three donors by FISH analysis using α -satellite DNA probe. Preliminary results indicated that ATRA exerted clastogenic activity and provoked chromosome breakage, while it was observed a trend of chromosome loss to be increased after treatment of lymphocytes with ATRA. Further studies are warranted to clarify the last observation.

**ΑΝΑΛΥΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΔΟΜΗΣ ΤΟΥ ΑΓΡΙΟΧΟΙΡΟΥ (*Sus scrofa*) ΣΤΗΝ
ΕΛΛΑΔΑ****Αλεξανδρή Π.¹, Τριανταφυλλίδης Α.¹, Χατζηνίκος Ε.³, Παπαγεωργίου Ν.²,
Αμπατζόπουλος Ι.Θ.¹, Τριανταφυλλίδης Κ.^{1*}**¹Τμήμα Βιολογίας, ²Τμήμα Δασολογίας & Φυσικού Περιβάλλοντος
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη³Δ' Κυνηγετική Ομοσπονδία Στερεάς Ελλάδος Φωκίωνος 8 & Ερμού, 10563, Αθήνα

* Τηλ: 2310998309, Fax: 2310998374, e-mail: triant@bio.auth.gr

Ο αγριόχοιρος αποτελεί ένα από τα πιο δημοφιλή θηραματικά είδη με ευρεία εξάπλωση στην ηπειρωτική Ελλάδα και παρουσιάζονται διακυμάνσεις στα πληθυσμιακά του μεγέθη. Τα τελευταία χρόνια εκφράζονται ανησυχίες σχετικά με τις επιπτώσεις που μπορούν να έχουν στους φυσικούς πληθυσμούς τόσο οι επανεισαγωγές, που έγιναν κατά το παρελθόν, αλλά πολύ περισσότερο η ανεξέλεγκτη εκτροφή οικόσιτων χοίρων μέσα ή κοντά στις περιοχές εξάπλωσης του αγριόχοιρου. Τα προβλήματα πηγάζουν από τον υβριδισμό του άγριου με τον οικόσιτο χοίρο με συνέπεια τη μείωση των πληθυσμών του αλλά και την εμφάνιση υβριδίων με μειωμένη προσαρμοστικότητα. Κατά το παρελθόν δεν είχε δοθεί ιδιαίτερη σημασία στις επιπτώσεις που μπορεί να έχουν οι συγκεκριμένες πρακτικές στη διατήρηση των φυσικών πληθυσμών, ενώ ταυτόχρονα η γενετική δομή του ελληνικού αγριόχοιρου ήταν άγνωστη. Προκειμένου, όμως να διατυπωθεί μια ολοκληρωμένη διαχειριστική πρόταση για το συγκεκριμένο είδος, οι γενετικές πληροφορίες είναι ουσιώδους σημασίας. Για το σκοπό αυτό στα πλαίσια προγράμματος της Δ' Κυνηγετικής Ομοσπονδίας πραγματοποιήθηκε ανάλυση επτά μικροδορυφορικών δεικτών σε 306 δείγματα άγριων ατόμων από διάφορες περιοχές της Ελλάδας και σε οικόσιτα άτομα, καθώς και τμήματος της περιοχής του βρόχου εκτόπισης (D-loop) του μιτοχονδριακού DNA. Η ανάλυση αποκάλυψε την πιθανή ύπαρξη υποπληθυσμών μέσα στα όρια εξάπλωσης του είδους και το διαχωρισμό των ατόμων της Β. Ελλάδας. Η μελέτη είναι σε εξέλιξη με ανάλυση νέων δειγμάτων αγριόχοιρου, αλλά και επιπλέον δεικτών DNA.

Η μελέτη υποστηρίχθηκε από την Δ' Κυνηγετική Ομοσπονδία Στερεάς Ελλάδας.

STUDY OF THE GENETIC STRUCTURE OF WILD BOAR (*Sus scrofa*) IN GREECE

**Alexandri P.¹, Triantafyllidis A.¹, Chatzinikos E.³, Papageorgiou N.²,
Abatzopoulos J.T.¹, Triantaphyllidis C.^{1*}**

¹*School of Biology* ²*School of Forestry and Natural Environment,*

Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki, Macedonia, Greece

³*4th Hunting Federation of Sterea Ellada, Fokionos 8 & Ermou, 10563, Athens, Greece*

**Tel: 2310998309, Fax: 2310998374, e-mail: triant@bio.auth.gr*

Wild boar is one of the most important game species with wide distribution in continental Greece and variations in its population size. Many scientists along with hunting federations have expressed their concern not only about restocking efforts that took place in the past but also on the breeding of domesticated individuals within or close to the natural habitats of wild boar. The results of these practices are the potential decline of wild populations and the production of hybrids with reduced survival and reproduction success. Little is known about the genetic characteristics of Greek wild boar, while genetic information is crucial for the establishment of an effective conservation plan. For this reason, in the context of a programme funded by the 4th Hunting Federation of Sterea Ellada, 306 wild and domesticated individuals were analyzed with seven microsatellite loci. Additionally a segment of the mtDNA D-loop region was sequenced in a subset of them. Some genetic substructure is evident within Greek wild boar populations, with individuals from Northern Greece presenting different haplotypes. The study is in progress aiming to analyze additional wild boar samples and use more molecular markers.

This study is financed by the 4th Hunting Federation of Sterea Hellas, Greece.

ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ FISAT II ΣΤΗΝ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΑΥΞΗΣΗΣ ΤΟΥ ΓΟΝΟΥ ΚΑΙ ΝΕΑΡΩΝ ΑΤΟΜΩΝ ΤΟΥ *Liza ramada* (Risso 1826)**Αλεξάνδρου Μ. & Γ. Μίνος**

Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης, Παράρτημα Ν. Μουδανιών,
Τμήμα Τεχνολογίας Αλιείας και Υδατοκαλλιέργειών, Τ.Θ. 157, Ν. Μουδανιά 63200.

Ee-mail: gminos@otenet.gr

Οι ως τώρα προσεγγίσεις της εκτίμησης της αύξησης των ψαριών γίνονται συνήθως σε ενήλικα άτομα ή σε μεικτά δείγματα ενηλίκων και νεαρών ατόμων. Στην παρούσα εργασία έγινε εκτίμηση της αύξησης ιχθυοπληθυσμού γόνου και νεαρών ατόμων (<11 cm) του *Liza ramada* (Risso 1826) μαυράκι (Pisces: Mugilidae), με τη χρήση του λογισμικού προγράμματος FISAT II. Τα δείγματα συλλέχθηκαν μηνιαία για διάστημα τριών ετών, σε προστατευμένη περιοχή στο λιμάνι των Ν. Μουδανιών. Πραγματοποιήθηκε ανάλυση της συχνότητας των μηκών με την μεθοδολογία ELEFAN I και Shepherd για την εκτίμηση των παραμέτρων L_{∞} και k της von Bertalanffy (VBGF). Στα μηνιαία δεδομένα του μήκους έγινε ανάλυση των κατανομών (Modal class Progression Analysis) με τη βοήθεια της ανάλυσης Bhattacharya και στη συνέχεια της NORMSEP (Separation of Normally) για την εκτίμηση του ρυθμού αύξησης (Growth Increment). Τα αποτελέσματα αυτά χρησιμοποιήθηκαν στην ανάλυση Munro και Gulland & Holt για την εκτίμηση των παραμέτρων της VBGF. Από τη σύγκριση των αποτελεσμάτων της κάθε μεθόδου, οι τιμές της παραμέτρου ϕ' ήταν παρόμοιες, από 3,34 μέχρι 3,94. Το L_{∞} που εκτιμήθηκε με τις περισσότερες μεθόδους ήταν 105mm και χρησιμοποιήθηκε στις μεθόδους που απαιτούσαν την εισαγωγή αυτής της παραμέτρου για την εξαγωγή αποτελέσματος. Είναι γνωστό ότι το k είναι ο ρυθμός που η καμπύλη αύξησης πλησιάζει το ασύμπτωτο μήκος (L_{∞}) και ο ρυθμός αύξησης στα οντογενετικά στάδια των ιχθύων διαφέρει σημαντικά μεταξύ τους. Αυτό αποτυπώνεται και στην παρούσα μελέτη καθώς σε εργασία με ενήλικα άτομα του είδους, μήκους 10-42 cm, εκτιμήθηκε τιμή της παραμέτρου $k=0,179$, πολύ μικρότερη σε σχέση με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας ($k=0,2-1,917$). Θεωρούμε ότι είναι από τις ελάχιστες περιπτώσεις που εφαρμόζεται η παραπάνω προσέγγιση στην εκτίμηση της αύξησης νεαρών ψαριών γενικά και μοναδική σε νεαρά ή ενήλικα άτομα των κεφαλοειδών (Mugilidae).

APPLICATION OF THE FAO-ICLARM STOCK ASSESSMENT TOOLS (FISAT II) ON THE GROWTH ESTIMATION OF *Liza ramada* (Risso 1826) FRY AND JUVENILES

Alexandrou M. & G. Minos

Alexander Technological Educational Institute Thessalonikis, Department of Aquaculture and Fisheries Technology, P.O. Box: 157, N. Moudania 63200. E-mail: gminos@otenet.gr

Until now, approaches that were used to estimate the fish growth usually applied on adults or in mixed samples of adults and young individuals. In this study the growth of fry and juveniles (<11 cm) of *Liza ramada* (Risso 1826) thinlip grey mullet (Pisces: Mugilidae) population was estimated, using the computer software application FISAT II. The samples were collected on a monthly basis for a three year period, in a protected area of Nea Moudania harbour. Length frequency analysis was performed using the application of ELEFAN I and Shepherd for the estimations of von Bertalanffy (VBGF) parameters L_{∞} and k . On monthly length data Modal class Progression of Analysis was performed with the use of Bhattacharya and NORMSEP (Separation of Normally) analysis to estimate the growth rate (Growth Increment). The above results were used in the analysis of Munro and Gulland & Holt for the estimation of VBGF parameters. From the comparison of the results in each methodology, the values of parameter ϕ' appeared to be similar, ranging from 3,34 to 3,94. The estimated L_{∞} value from most of the methodologies was 105mm and was used in the estimations that required a fixed parameter of L_{∞} to have a result. It is known that k is the rate that growth curve approaches the asymptotic length (L_{∞}). Also the growth rate differs considerably between the ontogenetic stages of fishes. The above is also confirmed by the results in the present study, since in a previous work of the same species with adult individuals, ranging 10-42 cm, the value of k is 0,179, which is smaller related to the present results ($k=0,2-1,917$). This paper is one of the very few studies that the FISAT II approach was applied for the estimation of juveniles growth and the only one for young or adult individuals of grey mullets (Mugilidae).

**ΕΤΕΡΟΛΟΓΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ ΦΩΣΦΟΓΛΥΚΟΜΟΥΤΑΣΗΣ ΤΟΥ
ASPERGILLUS NIDULANS ΣΤΟ ΜΥΚΗΤΑ FUSARIUM OXYSPORUM**

**Ανασοντζής Γ.Ε.¹, Κούρτογλου Ε.², Μαμμά Δ.², Αμίλλης Σ.¹,
Χριστακόπουλος Π.², Διαλλινάς Γ.¹, Καραγκούνη Α.Δ.¹, Χατζηνικολάου Δ.Γ.¹**

¹ Ομάδα Μικροβιολογίας, Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθήνας,
Πανεπιστημιούπολη, 157 81 Ζωγράφου. E-mail: chatzdim@biol.uoa.gr

² Εργαστήριο Βιοτεχνολογίας, Σχολή Χημικών Μηχανικών, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο

Σύμφωνα με οδηγία της Ευρωπαϊκής Ένωσης, το 10% των καυσίμων θα πρέπει να αντικατασταθεί με βιο-βασιζόμενα καύσιμα μέχρι το 2020. Παρόλα αυτά, το ποσοστό αυτό φαίνεται ότι θα αναθεωρηθεί προς τα κάτω, μετά την ανησυχία που έχει προκληθεί από την αλλαγή χρήσης καλλιεργειών, όπως το σιτάρι και το καλαμπόκι, για την παραγωγή αιθανόλης. Αυτό καθιστά πιο επιτακτική την ανάγκη επίτευξης υψηλότερης παραγωγικότητας κατά τη ζύμωση της κυτταρινούχου βιομάζας που προέρχεται από παραπροϊόντα αγροτικών και δασικών δραστηριοτήτων, απόβλητα χάρτου και άλλα βιομηχανικά απόβλητα. Ο *F. oxysporum* έχει την ικανότητα να αποικοδομεί αποτελεσματικά ποικίλους πολυσακχαρίτες και υπό αναερόβιες συνθήκες να ζυμώνει τα προϊόντα τους προς αιθανόλη. Η φωσφογλυκομουτάση (PGM) είναι το ένζυμο που καταλύει τη μεταφορά της φωσφορυλ-ομάδας από τη θέση 1' της γλυκόζης στη θέση 6' (μετατροπή της 1-P-γλυκόζης σε 6-P-γλυκόζη) και το αντίστροφο. Τα υψηλά επίπεδα της συσσωρευμένης 1,6-P-γλυκόζης, ενδιάμεσο στάδιο της παραπάνω μετατροπής, που παρατηρήθηκαν σε προηγούμενες έρευνες με το ίδιο στέλεχος του μύκητα, αποδόθηκαν στη μειωμένη ενεργότητα του ενζύμου και ενδεχομένως να εξηγούν τη μειωμένη απόδοση της ζύμωσης της γλυκόζης προς αιθανόλη. Η υπερέκφραση της PGM θα μπορούσε να οδηγήσει στην εξάλειψη του συγκεκριμένου προβλήματος. Η υπερέκφραση του ενζύμου επιτεύχθηκε με το μετασχηματισμό του μικροοργανισμού με το πλασμίδιο pBARGPE1, στο οποίο είχε κλωνοποιηθεί το γονίδιο της φωσφογλυκομουτάσης του *A. nidulans*, υπό τη ρύθμιση του υποκινητή συνεχούς έκφρασης του *grpA* του *A. nidulans*. Ωστόσο, η υψηλή ενεργότητα του ενζύμου στα μετασχηματισμένα στελέχη δε συνοδεύτηκε από αντίστοιχη αύξηση στην παραγωγικότητα της αλκοολικής ζύμωσης.

**HETEROLOGOUS EXPRESSION OF *ASPERGILLUS NIDULANS*
PHOSPHOGLUCOMUTASE IN *FUSARIUM OXYSPORUM***

**Anasontzis G.E.¹, Kourtoglou E.², Mamma D.², Amillis S.¹, Christakopoulos P.²,
Diallinas G.¹, Karagkouni A.D.¹, Hatzinikolaou D.G.¹**

¹ *Microbiology Group, Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, Zografou
Campus, 157 81 Attica, Greece, E-mail: xatzdim@biol.uoa.gr*

² *Biotechnology Lab, Chemical Engineering Dept, National Metsovio Polytechnic School.*

According to European Union guidelines till 2020, 10% of the currently used amount of fossil fuels must be replaced by bio-fuels. Nevertheless, this percentage will probably be reduced, following concerns on the excessive land use for wheat and corn cultures for the production of ethanol. This makes it even more imperative to significantly improve the productivity of cellulosic biomass fermentation, a process that utilizes byproducts of agricultural and forest activities, paper and other industrial wastes. The fungus *F. oxysporum* has the ability to hydrolyze a large variety of cellulosic oligosaccharides and ferment the products to ethanol. Phosphoglucomutase (PGM) is the enzyme that catalyses the transfer of the phosphoryl group from position 1' of glucose to position 6' (conversion of 1-P-glucose to 6-P glucose) and vice versa, via the metabolite 1,6-P- glucose. The high levels of the latter, observed in previous studies with the same strain of *F. oxysporum*, were attributed to the probable low activity of this enzyme. This implies a difficulty in the drainage of glucose to the glycolysis pathway and explain the low levels of ethanol production observed during glucose fermentation. PGM overexpression could help to the alleviation of this phenomenon. The heterologous expression was succeeded by transforming the microorganism with the plasmid pBARGPE1, where the PGM of *A. nidulans* was cloned, under the regulation of the constitutive *gpdA* promoter of *A. nidulans*. However, the high activity of PGM in the transformed strains did not result in a respective increase in the fermentation productivity.

**ANISOUND – ΜΙΑ ΒΙΟΑΚΟΥΣΤΙΚΗ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΒΑΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΠΑΝΙΔΑ****Ανδρέου Α., Ηλιόπουλος Η.***Εργαστήριο Γενετικής, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο
Αθηνών, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα*

Οι ήχοι των ζώων ήταν γνωστοί και είχαν τεκμηριωθεί από τους Έλληνες κλασικούς φιλόσοφους και ιδιαιτέρως τον Αριστοτέλη. Ωστόσο, μόνο τα τελευταία πενήντα χρόνια η μελέτη των ηχητικών σημάτων των ζώων σε συσχέτισμό με την συμπεριφορά τους, αποτελεί αντικείμενο έντονης επιστημονικής έρευνας. Η δυνατότητα εγγραφής και χειρισμού των βιοακουστικών σημάτων έχει κάνει την ακουστική συμπεριφορά μια από τις πιο ενεργές και προηγμένες περιοχές της ηθολογίας των ζώων. Γενικά τα ενδιαφέροντα για την ακουστική συμπεριφορά, έχουν επικεντρωθεί στην σεξουαλική συμπεριφορά για την αναζήτηση, αναγνώριση και ερωτοτροπία συντρόφων. Ο ρόλος του ήχου ωστόσο επεκτείνεται σε πιο καθαρά οικολογικά πλαίσια, όπως στην οργάνωση των συναθροίσεων των ζώων και στην διάπλαση των κοινοτήτων τους. Η βάση δεδομένων ANISOUND είναι μια συλλογή 1.700 διαφορετικών εγγραφών ήχων θηλαστικών, εντόμων, ψαριών, αμφιβίων, ερπετών και πτηνών με έμφαση στην ελληνική πανίδα. Στην ηλεκτρονική συλλογή τα είδη καταχωρούνται, με την επιστημονική ονοματολογία αλλά και με την κοινή ελληνική ονομασία, σύμφωνα με δημοσιεύσεις συστηματικής ταξινόμησης των ζωικών οργανισμών. Τα ψηφιοποιημένα ηχητικά σήματα μελετήθηκαν με εργαλεία ανάλυσης συχνότητας και πλάτους, προάγοντας την έρευνα της ακουστικής συμπεριφοράς των ζώων. Η αρχική σαφής διαφοροποίηση μεταξύ των πτηνών και θηλαστικών, των οποίων οι ακουστικοί δέκτες είναι περισσότερο ευαίσθητοι στα σήματα διαμορφωμένα κατά συχνότητα και των εντόμων με ευαισθησία στα κατά πλάτος διαμορφωμένα σήματα σε μια περιοχή συχνοτήτων έχει ελαχιστοποιηθεί, μετά την ανακάλυψη εντόμων γνωστών για την ευαισθησία τους σε σήματα με διαμόρφωση συχνότητας. Στο βιολογικό επίπεδο του είδους οι βιοακουστικές μελέτες έχουν ευρύτατη χρήση και είναι αποτελεσματικές για τον εντοπισμό της ποικιλομορφίας πληθυσμών διαφόρων ζώων. Αυτό περιλαμβάνει μελέτες για την διασαφήνιση της γενετικής βάσης της βιοχημικής διαφοροποίησης των οργανισμών.

ANISOUND – AN INTER-TAXA SOUND ELECTRONIC DATABASE FOR THE GREEK FAUNA

Andreou, A., Eliopoulos, E.

*Laboratory of Genetics, Department of Agricultural Biotechnology,
Agricultural University of Athens, Iera Odos 75, 118 55 Athens, Greece*

Animal sounds have been known and documented since the writings of the classical Greek philosophers, most notably Aristotle. However, only in the past fifty to sixty years has the subject of animal acoustic signals and associated behaviour become available as a subject of intense scientific investigation. The ability to record and to manipulate bioacoustic signals simply has made acoustic behaviour one of the most active and advanced areas of animal ethology. Generally interests in acoustic behaviour have centred on sexual behaviour in mate searching, recognition and courtship. The role of sound though extends further in more purely ecological contexts, such as in the organization of natural field assemblages and communities of animals. The ANISOUND database is a collection of 1,700 different sound recordings of mammals, insects, fish, amphibians, reptiles, and birds with emphasis on the greek fauna. The indexed electronic collection is species classified on the scientific name as well as the common greek name. Recorded digitized signals analysed by frequency and amplitude analysis tools have advanced the investigation of animal acoustic behaviour. The initial clear differentiation between birds and mammals, whose acoustic receptors are more sensitive to frequency modulated signals and insects with sensitivity to amplitude modulated patterns over a band of frequencies has been diminished, with the discovery of insects known to be sensitive to frequency modulation. At the level of biological species bioacoustic studies have been widely and effectively used to establish the status of related populations of a wide variety of animals. This includes studies illuminating the genetic, and therefore specific, status of groups of related organisms.

**ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ, ΣΚΕΛΕΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑ-
ΤΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΑΠΟΘΗΚΕΥΜΕΝΩΝ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΕ
ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΜΕΤΑΓΓΙΣΗΣ****Αντωνόπουλος Σ., Κριεμπάρδης Α., Αντωνέλου Μ., Μαργαρίτης Δ.Χ.,
Παπασιδέρη Ι.***Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Πανεπιστημιούπολη 15784 Αθήνα. E-mail: ipapasid@biol.uoa.gr*

Η αποθήκευση του αίματος επιφέρει διάφορες βιοχημικές και μηχανικές αλλαγές στα ερυθροκύτταρα που αποδίδονται με τον όρο «αποθηκευτική βλάβη ερυθρών». Πολλές από τις αρνητικές επιπτώσεις των μεταγγίσεων σχετίζονται με αυτές τις αλλαγές. Σκοπός της συγκεκριμένης μελέτης ήταν η ανίχνευση τυχόν οξειδωτικών τροποποιήσεων των ερυθροκυττάρων κατά την αποθήκευσή τους σε συνθήκες που χρησιμοποιούνται για τη μετάγγιση. Μελετήθηκαν απομονωμένες μεμβράνες, κυτταροσκελετοί και κυτταροπλάσματα κατά τις ημέρες αποθήκευσης 0 έως 52 σε αντιπηκτικό CPD-SAGM, και αναλύθηκαν με τεχνικές ηλεκτροφόρησης και ανοσοστυπώματος κατά Western. Η καρβονυλίωση υπολογίστηκε μετά από επίδραση δινιτροφαινυλδραζίνης (DNPH) και ανίχνευση του επαγόμενου μορίου DNP με ειδικό αντίσωμα. Διαπιστώθηκε ότι η μεμβράνη, οι κυτταροσκελετοί και τα κυτταροπλάσματα των αποθηκευμένων για διαφορετικά χρονικά διαστήματα ερυθροκυττάρων έχουν ουσιώδεις διαφορές στα ποσοστά καρβονυλίωσης τόσο μεταξύ τους όσο και σε σχέση με τα μη-αποθηκευμένα κύτταρα. Καθώς προάγεται ο χρόνος αποθήκευσης παρατηρείται αύξηση της καρβονυλίωσης των πρωτεϊνών της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης και του κυτταροσκελετού που σχετίζεται με τη μείωση των αντιοξειδωτικών μηχανισμών των ερυθροκυττάρων κατά την αποθήκευση, αλλά παράλληλα διαπιστώνεται μείωση της καρβονυλίωσης κυτταροπλασματικών πρωτεϊνών. Στη βάση αυτών των δεδομένων προτείνονται νέες βελτιωμένες συνθήκες συντήρησης των ερυθροκυττάρων που προορίζονται για μετάγγιση.

Η μελέτη αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς την Ι. Παπασιδέρη. Ο Υποψήφιος Διδάκτορας Α. Κριεμπάρδης είναι υπότροφος του Ιδρύματος Κρατικών Υποτροφιών.

MEMBRANE, CYTOSKELETON AND CYTOPLASMIC PROTEIN OXIDATION DURING STORAGE OF PACKED RBC TRANSFUSION UNITS

Antonopoulos S., Kriebardis A., Antonelou M., Margaritis L.H., Papassideri I.

*Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens,
Panepistimiopolis 157 84, Athens. E-mail: ipapasid@biol.uoa.gr*

During storage of packed red blood cell (pRBCs) units the cells undergo a variety of biochemical and mechanical modifications, collectively described as “RBC storage lesion”. Some of the negative effects of transfusions are tightly associated with the storage lesion of pRBCs. The aim of this study was the investigation of the oxidation status of red blood cell membrane, cytoskeleton and cytoplasm fractions during the storage of pRBC units intended for transfusion. We examined the RBC biochemical fractions from pRBCs stored for 0 to 52 days in the CPD-SAGM anticoagulant, by means of SDS-PAGE and western blotting. Carbonylated protein content was determined after 2,4-dinitrophenyl-hydrazine derivatization and immunoblotting with DNP-specific antibody. Our results revealed increased proportion of RBC membrane and cytoskeleton protein carbonylation after prolonged storage in CPD-SAGM, which was related to the decrease in antioxidant RBC mechanisms during storage. On the other side, the cytoplasmic protein carbonylation was decreased towards the end of the storage period. These data could give additional, useful information for the evaluation of improved storage conditions for pRBCs units intended for transfusion.

This study was supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to I. S. Papassideri. PhD student A. Kriebardis, MSc also thanks the “Hellenic State Scholarship Foundation” for the award of PhD fellowship.

**ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΟΓΚΟΡΡΥΘΜΙΣΗΣ ΣΤΑ ΦΥΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ:
Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΦΩΣΦΟΛΙΠΑΣΩΝ****Αποστολάκος Π. ****Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, 15781, Αθήνα*

Έχει βρεθεί ότι τα πλασμολυμένα κύτταρα της ρίζας διαθέτουν μηχανισμό ρύθμισης του όγκου του πρωτοπλάστη, βασικό στοιχείο του οποίου είναι ο κυτταροσκελετός της σωληνίνης. Στα κύτταρα αυτά κατά την έναρξη της υπερωσμωτικής καταπόνησης οι μικροσωληνίσκοι αντικαθίστανται από μακροσωληνίσκους, οι οποίοι ελέγχοντας τη λειτουργία μεταφορέων ιόντων και υδατοπορινών, ρυθμίζουν την υδατική κατάσταση του πρωτοπλάστη, με αποτέλεσμα τη σταθεροποίηση του όγκου του. Επίσης έχει βρεθεί ότι ο σχηματισμός των μακροσωληνίσκων ελέγχεται από μια νέα για τα φυτά πρωτεϊνική κινάση με MB 46 kD (p-46 MAPK). Πρόσφατα δεδομένα υποστηρίζουν ότι τα προϊόντα της καταλυτικής δραστηριότητας των φωσφολιπασών C και D (PLCs και PLDs αντίστοιχα) σχετίζονται με την ενεργοποίηση του μηχανισμού ογκορρύθμισης. Οι PLCs και PLDs υδρολύουν κυρίως δομικά φωσφολιπίδια παράγοντας φωσφατιδικό οξύ (PA), τριφωσφορική ινοσιτόλη και διακυλογλυκερόλη. Ο ρόλος των PLCs και PLDs στην προκειμένη περίπτωση διερευνήθηκε με την μελέτη των επιπτώσεων στα πλασμολυμένα κύτταρα ενώσεων που επηρεάζουν την δραστηριότητα των PLCs και PLDs καθώς και άλλων που επηρεάζουν τον κυτταροσκελετό. Χρησιμοποιήθηκαν: U73122 (αναστολέας των PLCs), νεομυκίνη (δεσμεύει το υπόστρωμα των PLCs την PIP₂), R59022 (αναστέλλει την παραγωγή PA μέσω PLCs), βουτανόλη-1 (αναστέλλει τη παραγωγή PA μέσω PLDs), N-ακυλαιθανολαμίνη (αναστολέας των PLDs), ορυζαλίνη (αποδιοργανώνει τα πολυμερή σωληνίνης), ταξόλη (σταθεροποιεί τα πολυμερή σωληνίνης). Τα πειραματικά δεδομένα υποστηρίζουν ότι η μεταγωγή του υπερωσμωτικού ερεθίσματος ακολουθεί τα εξής βήματα: α) Η αποδιοργάνωση των μικροσωληνίσκων κατά την έναρξη της υπερωσμωτικής καταπόνησης ενεργοποιεί τις PLCs με αποτέλεσμα την μείωση των επιπέδων της PIP₂ και την ενεργοποίηση των PLDs. β) Το παραγόμενο από τις PLDs PA επάγει την ενεργοποίηση της p-46 MAPK. γ) Η p-46 MAPK σε συνδυασμό με τα μειωμένα επίπεδα PIP₂ επιτρέπουν τη δημιουργία μακροσωληνίσκων με αποτέλεσμα την πυροδότηση του μηχανισμού ογκορρύθμισης.

Στην εκτέλεση του παρόντος προγράμματος συμμετείχαν:

Κόμης Γ.¹, Γαλάτης Β.¹, Αποστολάκος Π.¹, Γαλανοπούλου Κ.², Quader H.³

¹Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, ²Τμήμα Χημείας, Εργαστήριο Βιοχημείας ΕΚΠΑ

³Biocenter Klein Flottbek, University of Hamburg

* Προσκεκλημένος ομιλητής

ON THE MECHANISM OF PROTOPLAST VOLUME REGULATION IN PLANT CELLS: THE ROLE OF PLCs AND PLDs

Apostolakos P. *

Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens

The plasmolyzed root cells display a unique mechanism of protoplast volume regulation, in which the tubulin cytoskeleton plays a primary role. At the beginning of the hyperosmotic treatment, the microtubules disappear in these cells. They are replaced by macrotubules, ie. tubulin polymers of greater diameter, which probably control the function of ion transporters and of aquaporins preventing the movement of water out of the protoplast, thus stabilizing its volume. It has been found that macrotubule formation is regulated by a new for the plants 46 kD protein kinase (p-46 MAPK). Recently published work revealed that the products of the catalytic activity of phospholipases C and D (PLCs and PLDs respectively) are implicated in the activation of the mechanism regulating the protoplast volume. PLCs and PLDs hydrolyze plasma membrane phospholipids producing phosphatidic acid (PA), inositol triphosphate and diacylglycerol. The role of PLCs and PLDs were investigated treating plasmolyzed seedlings with PLC and PLD modulators as well as with substances interfering with cytoskeleton. The substances used were: (1) U73122, a PLC inhibitor, (2) neomycin that binds to the PLC substrate PIP₂, (3) R59022 that inhibits PA production via PLCs, (4) butanol-1 that inhibits PA production, via PLDs, (5) N-acylethanolamine, a PLD inhibitor, (6) oryzalin that disintegrates tubulin polymers, and (7) taxol that stabilizes the tubulin polymers. The overall consideration of the derived data suggest that the transduction of the hyperosmotic stimulus occurs in the following steps: (a) Microtubule depolymerization at the onset of the hyperosmotic stress activates PLCs, which result in the reduction of the PIP₂ levels and PLD activation. (b) The PA produced via PLDs induces p-46 MAPK activation. (c) p-46-MAPK in relation to the reduced PIP₂ allows macrotubule formation, which triggers the mechanism of protoplast volume regulation.

The contributors of this work were:

Komis G.¹, Galatis B.¹, Apostolakos P.¹, Galanopoulou D.², Quader H.³

¹Department of Botany, Faculty of Biology, ²Laboratory of Biochemistry, Faculty of Chemistry, University of Athens; ³Biocenter Klein Flottbek, University of Hamburg.

* *Invited speaker*

ΑΝΑΓΛΥΦΟ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΣ ΓΥΡΕΟΚΟΚΚΩΝ**Αργυρόπουλος Α.Φ.¹, Ριζοπούλου Σ.¹**

¹Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη 15784
Αθήνα

E-mail: afargirop@biol.uoa.gr, srhizop@biol.uoa.gr

Οι γυρεόκοκκοι είναι οι αρσενικοί γαμέτες των φυτών. Σχηματίζονται στον ανθήρα και μεταφέρονται κατά την επικονίαση στο στίγμα των θηλυκών ανθέων. Ένα από τα βασικά χαρακτηριστικά των ώριμων γυρεοκόκκων είναι η εναπόθεση ενός περίτεχνου κυτταρικού τοιχώματος με πολύπλοκη χημική σύσταση. Η εξωτερική στιβάδα του τοιχώματος ονομάζεται εξίνη. Η εξίνη αποτελείται από σποροπολλενίνη (μια ασυνήθιστη και ανθεκτική οργανική ουσία). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το ανάγλυφο της επιφάνειας της εξίνης, η μορφή του οποίου ποικίλλει από είδος σε είδος. Στην επιφάνεια των γυρεοκόκκων παρουσιάζονται διαφόρων μορφών «εξαρτήματα» και ανοίγματα με μορφή πόρων ή κόλπων. Στην εργασία αυτή παρουσιάζονται ερευνητικά αποτελέσματα από ώριμους γυρεόκοκκους, αυτοφυών φυτών της ελληνικής χλωρίδας. Η παρατήρηση του ανάγλυφου της επιφάνειας πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια οπτικού μικροσκοπίου, μικροσκοπίου ατομικών δυνάμεων (AFM) και ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης εκπομπής πεδίου (FESEM). Ακολούθησε χαρακτηρισμός του ανάγλυφου και χαρτογράφηση της επιφάνειας.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτείται από το ΠΕΝΕΔ 03ΕΔ174.

MICRO SCULPTURE ON THE SURFACE OF POLLEN GRAINS

Argiopoulos A.F.¹, Rhizopoulou S.¹

*¹Section of Botany, Biology Department, University of Athens, Panepistimioupoli 15784 Athens
E-mail:afargiop@biol.uoa.gr, srhizop@biol.uoa.gr*

Pollen grains are the male gametes of plants; they form in the anther and are transferred during pollination to the stigma of female flowers. One of the basic characteristics of mature pollen grains is the accumulation of an elaborate cell wall with a complex chemical composition. The outer layer of the wall is called exine, which is composed of sporopollenin (amongst the very unusual and tolerant organic substances). Of particular interest is the ornamentation of the exine surface, the form of which varies from species to species. On the surface of pollen grains various "components" can be observed, as well as openings (i.e. pores or indentations). The present work involves observations of mature pollen grains of native plants of the Greek flora. The observation of the surface ornamentation was accomplished with the aid of an optical microscope, an atomic force microscope (AFM) and a field emission scanning electron microscope (FESEM); according to the results, characterization of the ornamentation and mapping of pollen surfaces was made.

This research is funded by the programme PENED 03ED174.

ΝΑΥΑΓΙΟ ΖΗΝΟΒΙΑ: ΜΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ**Αργυρού Χ., Βουλτσιάδου Ε., Χιντήρογλου Χ.**

Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124
Θεσσαλονίκη, E-Mail: elvoults@bio.auth.gr, chintigl@bio.auth.gr

Είκοσι επτά χρόνια μετά τη βύθισή του στα ανοιχτά της Λάρνακας, το πλοίο Ζηνοβία έχει μετατραπεί σε τεχνικό ύφαλο, συμβάλλοντας έτσι στην αύξηση της βιοποικιλότητας στην περιοχή. Αποτελεί πόλο έλξης για τον τουρισμό και κατατάσσεται στα δέκα πιο δημοφιλή ναυάγια παγκοσμίως. Στο πλαίσιο της πρακτικής άσκησης ΕΠΕΑΕΚ, πραγματοποιήθηκε για πρώτη φορά μελέτη των μακροβενθικών οργανισμών που έχουν εγκατασταθεί πάνω και γύρω από το ναυάγιο, προκειμένου να εκτιμηθεί το καταδυτικό ενδιαφέρον που αυτό προσφέρει, με απώτερο στόχο την ενίσχυση της προβολής του στις ενδιαφερόμενες κοινωνικές ομάδες τουρισμού και της σύνδεσης της επιστήμης της θαλάσσιας βιολογίας με τη συγκεκριμένη δράση του οικοτουρισμού. Συνολικά καταγράφηκαν τα είδη *Posidonia oceanica*, *Lauresia sp.*, *Sarcotragus foetidus*, *Sarcotragus sp.*, *Dysidea anara*, *Chondrosia reniformis*, *Aplysina aerophoba*, *Axinella polypoides*, *Echinaster glacialis*, *Astropecten aurantiacus*, *Cidaris cidaris*, *Palinurus elephas*, *Sabella sp.* Είναι φανερή η κυριαρχία των σπόγγων. Η παρουσία των ειδών αυτών προσφέρει στους αυτοδύτες μια φαντασμαγορική εικόνα του θαλάσσιου κόσμου που μπορεί να αποτελέσει και αντικείμενο προγραμμάτων εκπαίδευσης. Σήμερα, οι επισκέπτες αυτοδύτες της περιοχής σε ποσοστό μεγαλύτερο από 80% καταδύονται στο ναυάγιο, ενώ σε ποσοστό 70 % εμφανίζονται σε όλη τη διάρκεια του χρόνου. Λαμβάνοντας υπόψη ότι στην Ευρώπη, τουλάχιστον 800.000 αυτοδύτες πραγματοποιούν τουλάχιστο ένα καταδυτικό ταξίδι ετησίως, δαπανώντας 2 δις €, το ναυάγιο Ζηνοβία φαίνεται να αποτελεί μια μοναδική ευκαιρία για την ενίσχυση της βιώσιμης ανάπτυξης μέσω του νέου αυτού αυτοτελή τουριστικού κλάδου που μπορεί να δράσει ευεργετικά στην τοπική και εθνική οικονομία.

ZENOBIA SHIPWRECK: A BIOLOGICAL APPROACH

Argyrou Chr., Voultziadou E., Chintiroglou Ch.

*Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki,
Greece, elvoults@bio.auth.gr, chintigl@bio.auth.gr*

Twenty seven years after it sank off Larnaka, Cyprus, Zenobia has become an artificial reef, thus enhancing local biodiversity. The shipwreck acts as a pole of attraction for tourists since it is rated among the ten most popular shipwrecks worldwide. In the framework of the practical training EPEAEK, a study of the macrobenthic organisms settled on and around the remains of the sunken ship was carried out, in order to evaluate the diving interest it provides. This evaluation aims to enhance its promotion to the social groups interested in tourism, as well as to connect the science of marine biology with this particular ecotourism action. Thirteen species were totally recorded, *Posidonia oceanica*, *Lauresia* sp., *Sarcotragus foetidus*, *Sarcotragus* sp., *Dysidea avaxra*, *Chondrosia reniformis*, *Aplysina aerophoba*, *Axinella polypoides*, *Echinaster glacialis*, *Astropecten aurantiacus*, *Cidaris cidaris*, *Palinurus elephas*, *Sabella* sp., sponges being the dominant animal group. The presence of the above species offers a spectacular aspect of the underwater world, which can become the basis for organizing educational programs. Nowadays, more than 80 % of the scuba divers coming to the area visit the shipwreck, while more than 70 % visit the area all around the year. Taking into account that in Europe, at least 800,000 scuba divers travel at least once a year for diving purposes spending 2 billions €, Zenobia shipwreck seems to be a unique opportunity for the enhancement of sustainable development through this tourism service which can become very beneficial for the local and national economy.

**ΕΠΙΠΕΔΑ ΟΡΜΟΝΩΝ ΤΟΥ ΛΙΠΩΔΟΥΣ ΙΣΤΟΥ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΚΑΤΑΜΗΝΙΩΝ ΚΥΚΛΩΝ****Ασημακόπουλος Β.¹, Γιανισλής Γ.¹, Γκιοκά Θ.², Καμπουρομήτη Γ.²**

¹ Εργαστήριο Φυσιολογίας, Ιατρικό Τμήμα, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, 68100
Αλεξανδρούπολη. E-mail: basima@med.duth.gr

² Τμήμα Βιοπαθολογίας, Γενικό Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Αλεξανδρούπολης, 68100
Αλεξανδρούπολη. E-mail: gkabouromiti@yahoo.gr

Ο ενδοκρινής ρόλος του λιπώδους ιστού αποτελεί πεδίο εντατικής έρευνας καθώς οι ορμόνες που εκλύονται από αυτόν φαίνεται να επηρεάζουν πληθώρα λειτουργιών. Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η διακύμανση των επιπέδων της λεπτίνης, του διαλυτού υποδοχέα λεπτίνης, της αδιπονεκτίνης και της ρεζιστίνης κατά τη διάρκεια του φυσιολογικού καταμήνιου κύκλου. Δεκαέξι γυναίκες (19-30 ετών, δείκτης μάζας σώματος: 19,46-24,49) με κανονικό καταμήνιο κύκλο και φυσιολογικό αναπαραγωγικό σύστημα συμμετείχαν στη μελέτη. Δείγματα αίματος ελήφθησαν κάθε δεύτερη ημέρα ενός καταμήνιου κύκλου. Οι ορμόνες του λιπώδους ιστού, καθώς και οι: FSH, LH, οιστραδιόλη και προγεστερόνη μετρήθηκαν στον ορό με ανοσοενζυματικές μεθόδους. Παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα λεπτίνης και ρεζιστίνης κατά την ωχρινική φάση σε σχέση με την ωοθυλακική και περι-ωοθυλακιορρηκτική φάση. Οι διακυμάνσεις της αδιπονεκτίνης και του διαλυτού υποδοχέα λεπτίνης κατά τη διάρκεια του κύκλου δεν ήταν στατιστικά σημαντικές. Οι μεταβολές των επιπέδων λεπτίνης και ρεζιστίνης, και συγκεκριμένα η άνοδος τους κατά την ωχρινική φάση, υποδεικνύουν την πιθανή συμμετοχή τους στη ρύθμιση των κυκλικών αναπαραγωγικών λειτουργιών.

ADIPOKINE LEVELS DURING PHYSIOLOGICAL MENSTRUAL CYCLE

Asimakopoulos B.¹, Gianislis G.¹, Gioka Th.², Kabouromiti G.²

¹ *Laboratory of Physiology, School of Medicine, Democritus University of Thrace, 68100
Alexandroupolis. E-mail: basima@med.duth.gr*

² *Department of Biopathology, General University Hospital of Alexandroupolis, 68100
Alexandroupolis. E-mail: gkabouromiti@yahoo.gr*

The endocrine function of adipose tissue is a field of intensive investigation since adipokines seem to influence a plethora of functions. In the present study, the levels of leptin, soluble leptin receptor, adiponectin and resistin were investigated during the physiological menstrual cycle. Sixteen women (aged 19-30 years old, body mass index: 19,46-24,9) with regular menstrual cycle and normal reproductive system participated. Blood samples were obtained every second day during a full menstrual cycle. Adipokines as well as FSH, LH, estradiol and progesterone were measured with enzyme immunoanalytical methods. The levels of leptin and resistin were elevated during the luteal phase compared to the follicular and midcycle phases. The variations of adiponectin and the soluble leptin receptor during the menstrual cycle were not statistically significant. The variations on the levels of leptin and resistin, specifically the elevation of their levels during the luteal phase, indicate the implication of these two adipokines in the regulation of the cyclic female reproductive functions.

**mirGRID: ΜΙΑ ΠΛΕΓΜΑΤΙΚΗ ΠΥΛΗ, ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΒΛΕΨΗ ΚΡΙΣΙΜΩΝ
ΑΜΙΝΟΞΙΚΩΝ ΘΕΣΕΩΝ ΜΕ ΤΟΝ ΑΛΓΟΡΙΘΜΟ MIR****Ατλαμάζογλου Β.¹, Θηραίου Τ.¹, Φουκαράκης Ι.², Παπανδρέου Ν.¹,
Τσελίκας Ν.², Κακλαμάνη Δ.² και Η. Ηλιόπουλος¹**¹Εργαστήριο Γενετικής, Γ.Π.Α; ²Σχολή ΗΜΜΥ, Ε.Μ.Π

Στην εργασία αυτή περιγράφεται η ανάπτυξη μιας διαδικτυακής εφαρμογής (<http://grid.aua.gr:8080/>) που πραγματεύεται την άμεση πρόβλεψη της αναδίπλωσης των πρωτεϊνών στην τρισδιάστατη δομή τους, με την ελεγχόμενη και συντονισμένη χρήση υπολογιστικών πόρων αξιοποιώντας τις υποδομές υπολογιστικών πλεγμάτων - Grid. Ο αλγόριθμος MIR με μόνη πληροφορία την αμινοξική ακολουθία μίας πρωτεΐνης, μπορεί να προβλέψει τα (υδρόφοβα κατά κανόνα) αμινοξέα που έχουν κρίσιμη σημασία για το σχηματισμό του πυρήνα της πρωτεϊνικής δομής. Τα συγκεκριμένα αμινοξέα ονομάζονται Ισχυρά Αλληλεπιδρώντα Αμινοξέα ή MIR (Mostly Interacting Residues). Η τεχνική αυτή μπορεί επίσης να αξιοποιηθεί για την πρόβλεψη της επίδρασης μεταλλάξεων στο σχηματισμό του δομικού πυρήνα των πρωτεϊνών, συμβάλλοντας στη μελέτη και κατανόηση των μηχανισμών της αναδίπλωσης. Η καταναεμημένη χρήση υπολογιστικής ισχύος σε Grid (Computational Grid) βοήθησε στην εφαρμογή του αλγορίθμου σε ένα αρκετά μεγάλο πλήθος αντιπροσωπευτικών πρωτεϊνικών δομών της Protein Data Bank (PDB). Πιο συγκεκριμένα στον εξυπηρετητή είναι ελεύθερα διαθέσιμη βάση δεδομένων με τις προβλέψεις του αλγορίθμου για περισσότερες από 6300 αντιπροσωπευτικές κατατεθειμένες πρωτεϊνικές δομές στη PDB. Επίσης ο χρήστης μπορεί να υποβάλει μια πρωτεϊνική ακολουθία για υπολογισμό τοπικά στον εξυπηρετητή και να ενημερωθεί σχετικά μετά την περάτωση της προσομοίωσης, ενώ ενημερώνεται και η βάση δεδομένων των αποτελεσμάτων. Επιπρόσθετα ως πλεγματική πύλη (grid portal) παρέχει σε πιστοποιημένους χρήστες μια φιλική και ασφαλή γραφική διεπαφή για την υποβολή εργασιών στο πλέγμα και συλλογή των αποτελεσμάτων του αλγορίθμου. Η δυνατότητα αυτή είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για την εφαρμογή του προγνωστικού αλγορίθμου είτε σε ακολουθίες μεγάλου μήκους είτε σε μεγάλο πλήθος πρωτεϊνικών ακολουθιών.

**mirGRID: A GRID PORTAL FOR THE PREDICTION OF THE CRITICAL
AMINO ACID POSITIONS, BASED ON THE MIR ALGORITHM**

**Atlamazoglou V.¹, Thireou T.¹, Foukarakis I.², Papandreou N.¹, Tselikas N.²,
Kaklamani D.² και E. Eliopoulos¹**

¹Laboratory of Genetics, A.U.A; ²E.C.E School, N.T.U.A

This work describes the development of a web-based application (<http://grid.aua.gr:8080/>) for the ab initio protein folding prediction, exploiting the Grid infrastructure. Using only the amino acid sequence, the MIR algorithm can predict the (mainly hydrophobic) critical for protein core formation, residues, called MIRs (Mostly Interacting Residues). This technique could be used for predicting the effect of specific mutations on the protein core formation and for studying the folding mechanisms. Porting the application to the Grid enabled the study of a large ensemble of representative protein structures from the Protein Data Bank (PDB). At the mirGRID web server there is a freely accessible database of the algorithm's predictions on more than 6300 protein structures, deposited in PDB. The user could also submit a protein sequence to be analyzed. The MIR algorithm is locally executed on the server side and upon completion, the results are stored in the database while the user is being notified. Additionally, users with valid Grid credentials are provided with a user-friendly interface that simplifies and automates Grid job submission of the algorithm, hiding the mechanisms involved in the execution on the Grid infrastructure. This is especially helpful for users that would like to apply the method to long protein sequences or to a large ensemble of protein sequences.

**ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ ΤΗΣ ΟΖΩΔΟΥΣ
ΣΚΛΗΡΥΝΣΗΣ****Αυγέρης Σ.^{1*}, Vrtel R.^{2*}, Αναστασίου Δ.¹, Παπαδοπούλου Π.¹, Vodicka R.²,
Αναστασιάδου Ε.³, Στραβοπόδης Δ.Ι.⁴, Βουτσινάς Γ.Ε.¹**

¹Εργ. Περιβαλλοντικής Μεταλλαξιγένεσης και Καρκινογένεσης, Ινστιτούτο Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», 15310 Αγία Παρασκευή Αττικής, E-mail: mvoutsin@bio.demokritos.gr

²Institute of Medical Genetics and Fetal Medicine, University Hospital Olomouc, I.P.Pavlova 6, 77521 Olomouc, Czech Republic, E-Mail: VrtelR@seznam.cz

³ Εργαστήριο Γενετικής και Γονιδιακής Θεραπείας, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών, Σωρανού Εφέσιου 4, 11527, Αθήνα, E-mail: anastasiadou@bioacademy.gr

⁴Τομέας Βιολογίας Κυττάρων και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 15784, Αθήνα, E-mail: dstravop@biol.uoa.gr

*Αυτοί οι συγγραφείς συνεισέφεραν ισότιμα στην εργασία

Η Οζώδης Σκλήρυνση (ΟΣ) είναι μια κληρονομική επικρατής αυτοσωμική νόσος. Έχει συχνότητα εμφάνισης 1/5.800 γεννήσεις και η διάγνωση της βασίζεται σε κλινικά ευρήματα. Η σωστή διάγνωση είναι σημαντική για τον εντοπισμό και τη συμπτωματική θεραπεία νευρολογικών, νεφρικών, καρδιακών, και ενίοτε πνευμονικών βλαβών, που αποτελούν τις κύριες αιτίες θανάτου των πασχόντων. Καθώς κανένα σύμπτωμα δεν είναι χαρακτηριστικό για την ασθένεια αυτή, συχνά η διάγνωση είναι αβέβαιη και χρονοβόρα. Τα γονίδια *TSC1* και *TSC2* είναι τα μόνα που έχουν συνδεθεί με την ΟΣ. Πρόκειται για δύο ογκοκατασταλτικά γονίδια που ενέχονται στη ρύθμιση της κυτταρικής ανάπτυξης και του πολλαπλασιασμού. Μεταλλάξεις στα γονίδια αυτά έχει αποδειχτεί πως είναι υπεύθυνες για την ανάπτυξη της ΟΣ. Το γεγονός αυτό κάνει ιδιαίτερα σημαντική την ανάπτυξη μιας μοριακής δοκιμής γενετικού ελέγχου, όχι μόνο για γρηγορότερη και ακριβέστερη διάγνωση αλλά και για γενετική συμβουλευτική και προγεννητικό έλεγχο. Η εργασία αυτή στοχεύει στην ανάπτυξη ενός πρωτοκόλλου μοριακής διάγνωσης για την ανίχνευση μεταλλάξεων στα γονίδια *TSC1* και *TSC2* σε Έλληνες και Τσέχους ασθενείς με ΟΣ. Οι ερευνητικές ομάδες από την Ελλάδα και την Τσεχία, σε συνεργασία με τις Εθνικές τους Εταιρείες για την ΟΣ, συλλέγουν δείγματα περιφερικού αίματος από τους ασθενείς με ΟΣ, ενώ η κάθε οικογένεια συμπληρώνει ένα ερωτηματολόγιο και υπογράφει τη σχετική δήλωση συγκατάθεσης. Μετά τον σχεδιασμό πρωτότυπων εκκινητών, η μεθοδολογία περιλαμβάνει πολλαπλασιασμό όλων των εξωνίων των γονιδίων *TSC1* και *TSC2* με PCR, καθαρισμό των προϊόντων της PCR, κυκλική αλληλούχιση, καθαρισμό των προϊόντων της αλληλούχισης και τελικά, διαχωρισμό των καθαρισμένων προϊόντων αλληλούχισης σε αυτόματο γενετικό αναλυτή. Η γνώση που προκύπτει από την εργασία αυτή αναμένεται να συνεισφέρει σημαντικά στην ταυτοποίηση ενδεχόμενων εστιών μεταλλάξεων στα γονίδια της ΟΣ και να παρέχει πληροφορίες σχετικά με τις σχέσεις γονοτύπου-φαινοτύπου, ενώ ταυτόχρονα αναπτύσσεται μια έγκυρη διαγνωστική μέθοδος με το ελάχιστο δυνατό κόστος για τους ασθενείς των δύο χωρών με ΟΣ.

Η εργασία αυτή χρηματοδοτήθηκε εν μέρει από την Ελληνική Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας (κωδικός έργου 187-γ, 2813/14-2-06)

DEVELOPMENT OF A PROTOCOL FOR MOLECULAR DIAGNOSIS OF TUBEROUS SCLEROSIS

**Avgeris S.^{1*}, Vrtel R.^{2*}, Anastasiou D.¹, Papadopoulou P.¹, Vodicka R.²,
Anastasiadou E.³, Stravopodis D.J.⁴, Voutsinas G.E.¹**

¹Lab. of Environmental Mutagenesis & Carcinogenesis, Institute of Biology, NCSR Demokritos,
15310 Aghia Paraskevi Attikis, Greece, E-mail: mvoutsin@bio.demokritos.gr

²Institute of Medical Genetics and Fetal Medicine, University Hospital Olomouc, I.P.Pavlova 6,
77521 Olomouc, Czech Republic, E-Mail: VrtelR@seznam.cz

³Department of Genetics and Gene Therapy, Biomedical Research Foundation, Academy of Athens, 4
Soranou Ephessiou, 11527, Athens, Greece, E-mail: anastasiadou@bioacademy.gr

⁴Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimio-
polis, Zografou 15784, Athens, Greece, E-mail: dstravop@biol.uoa.gr

**These authors have contributed equally to this work*

Tuberous sclerosis (TSC) is an inherited autosomal dominant disorder with an incidence of 1/5.800 births. Diagnosis of the disease is based on clinical findings. Accurate diagnosis is essential in order to detect and treat symptomatic neurological, renal, cardiac, and sometimes, pulmonary lesions, as they are the main causes of death. Since no single feature is unique to the condition, often diagnosis may come after much delay and uncertainty. Genes *TSC1* and *TSC2* were linked to TSC. Both are tumor suppressors, involved in the negative regulation of cell growth and proliferation. Mutations in these two genes were shown to be responsible for the development of TSC. This makes the development of a molecular genetic test for the disease, which will screen for *TSC1* and *TSC2* mutations, of great importance, not only for fast and accurate diagnosis but also for genetic counselling and prenatal diagnosis. This work is focusing on the development of a molecular genetic test for the detection of *TSC1* and *TSC2* mutations in Greek and Czech patients with TSC. The teams from Greece and Czech Republic, in collaboration with their National Associations for Tuberous Sclerosis, are collecting whole blood samples from TSC patients, while each TSC family is filling a questionnaire and signing an informed consent. After the design of original genomic primers, the methodology involves PCR amplification of all the exons of genes *TSC1* and *TSC2*, purification of the PCR products, cycle sequencing, purification of the sequencing products, and finally, analysis of the purified sequencing products in an automated sequencer. The knowledge being acquired from this work is expected to contribute significantly to the identification of possible mutational hotspots in the TSC genes and provide information on genotype-phenotype correlations, while at the same time, a valid molecular diagnostic method at a minimum cost for TSC patients in the two countries is being developed.

This work was partly supported by the Greek General Secretariat of Research and Technology (project code 187-γ, 2813/14-2-06)

**ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΒΑΚΤΗΡΙΟΥ ΙΚΑΝΟΥ
ΝΑ ΑΝΑΓΕΙ ΤΟ Cr(VI) ΣΕ Cr(III)****Βαβουλίδου Δ., Ζιούτα Α., Κοντάνα Α., Παντζαρτζή Χ., Παπαδημητρίου Χ.*,
Ζδράγκας Α.†, Σκούρας Ζ., Σαμαράς Π.‡ & Γιαγκου Μ.***Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης & Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ.**# Τμήμα Τεχνολογίας Αντιρύπανσης ΤΕΙ Δυτικής Μακεδονίας*** Εργ. Περιβαλλοντικών & Ενεργειακών Διεργασιών, Τεχν. Πάρκο Θεσ/νίκης**+ Εθνικό. Ίδρυμα Αγροτικών & Γεωργικών Ερευνών, Θέρμη, Θεσσαλονίκη*

Η ευρεία βιομηχανική χρήση του χρωμίου το έχει κατατάξει ως σοβαρό ρυπαντή των φυσικών οικοσυστημάτων. Στην εργασία αυτή, έγινε απομόνωση μικροοργανισμών από την ενεργό ιλύ μονάδας επεξεργασίας αστικών λυμάτων στην οποία κατά καιρούς παρουσιάστηκαν αυξημένα επίπεδα Cr(VI). Για την απομόνωση ανθεκτικών στο χρώμιο βακτηρίων χρησιμοποιήθηκε εργαστηριακής κλίμακας βιοαντιδραστήρας ενεργού ιλύος, που τροφοδοτήθηκε με συνθετικό λύμα που περιείχε 50 mg/L Cr(VI). Έπειτα από 4 μήνες λειτουργίας, απομονώθηκε βακτηριακό στέλεχος (Σ3/Κ) ικανό να ανάγει το Cr(VI) σε Cr(III). Πρόκειται για στέλεχος κατά Gram-, οξειδάση+ και καταλάση+, μη παθογόνο και ευαίσθητο σε μεγάλο φάσμα αντιβιοτικών. Το Σ3/Κ παρουσιάζει μέγιστη ανάπτυξη παρουσία 125 mg/L Cr(VI) και MIC σε 500 mg/L Cr(VI). Έχει ως μέγιστο ανάπτυξης και αναγωγής του Cr(VI) την τιμή pH 8-10 ενώ ανέχεται μέχρι και pH 11. Τέλος, τα προϊόντα του Σ3/Κ δεν φαίνεται να επηρεάζουν την ικανότητα πολλαπλασιασμού των σπληνοκυττάρων του ποντικού σε μιτογόνα. Η εφαρμογή του συστήματος Biolog και του συστήματος ταξινόμησης με βάση το βακτηριακό 16S rRNA ταυτοποίησε το Σ3/Κ ως *Acinetobacter radioresistens*. Η ταυτοποίηση όμως αυτή αμφισβητείται, αφού δε συμφωνεί με σημαντικά βιοχημικά κριτήρια ταξινόμησης. Το Σ3/Κ μελετάται περαιτέρω αφού παρουσιάζει ενδιαφέρον ως πιθανό μέσο για τη διαχείριση και βιοαπορρύπανση λυμάτων επιβαρημένων με Cr(VI).

BIOCHEMICAL AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF A BACTERIUM CAPABLE OF REDUCING Cr(VI) TO Cr (III)

Vavoulidou D., Ziouta A., Kontana A., Pantzartzi C., Papadimitriou C.*, Zdragas A⁺, Scouras Z., Samaras P.[#] & Yiangou M.

Dept. of Genetics, Development & Molecular Biology, School of Biology, AUTH

#Dept. of Poll. Control Technol., Technological Educ. Inst. of West Macedonia

**Chem. Proc. Eng. Res. Inst. Centre Res. & Technology – Thessaloniki*

+National Agricultural Research Foundation, Inst. of Veterinary Res., Thessaloniki

The wide industrial use of chromium has classified it as a major polluting agent of the natural ecosystems. In this study, microorganisms were isolated from the activated sludge of a municipal wastewater treatment plant, in which are occasionally increased levels of Cr(VI) were detected. A batch reactor of activated sludge, supplied with synthetic wastewater that contained 50 mg/L Cr (VI), was used for isolation of chromium resistant bacteria. By months, a bacterial strain ($\Sigma 3/K$) able of reducing Cr (VI) to Cr (III) was isolated from batch reactor. $\Sigma 3/K$ strain is a Gram-, oxidize⁺ and catalase⁺, non pathogenic and antibiotic sensitive bacterium. Maximum growth of $\Sigma 3/K$ was observed in synthetic wastewater containing 125 mg/L Cr(VI) and MIC in 500 mg/L Cr(VI). In addition, this bacterium exhibits maximum growth and reduction of Cr (VI) with pH 8-10, while it is tolerate at pH 11. Furthermore, $\Sigma 3/K$ products do not appear to influence mouse splenocyte proliferation, induced by mitogens. Application of Biolog's system as well as 16S rRNA taxonomy identified $\Sigma 3/K$ strain as *Acinetobacter radioresistens*. However, this identification is disputed, due to the fact is opposite to certain biochemical tests. Finally, the research concerning $\Sigma 3/K$ should be continued, since this strain may potentially used for the biological treatment of wastewater containing Cr (VI).

**ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΚΟΙΝΩΝΙΚΗ ΘΕΣΗ: Η ΣΧΕΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΟΔΟΝΤΙΚΗΣ ΠΑ-
ΘΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΚΤΕΡΙΣΜΑΤΩΝ ΣΕ ΑΡΧΑΙΟΛΟΓΙΚΟΥΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ****Βάννα Β.Γ.,¹ Νικολάου Ε.,² Μανώλης Σ.Κ.³**¹*Institute of Archaeology, UCL, 31-34 Gordon Square, WC1H 0PY, London, UK**Email: v.vanna@ucl.ac.uk*²*Αρχαιολογικό Ινστιτούτο Θεσσαλικών Σπουδών, Βόλος, E-mail: elsanikolaou@yahoo.gr*³*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπων, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη 157 84 Αθήνα, E-mail: smanol@biol.uoa.gr*

Η τερηδόνα και η προθανάτια απώλεια δοντιών (AMTL) ερευνήθηκαν σε ένα ανθρώπινο οδοντικό δείγμα της Ελληνιστικής περιόδου που λήφθηκε από την περιοχή του βόρειου νεκροταφείου της αρχαίας Δημητριάδας στη Θεσσαλία. Αυτή η μελέτη στοχεύει στην αξιολόγηση της επίδρασης που είχε η κοινωνική θέση στην επικράτηση της στοματικής παθολογίας και βασίστηκε στην υπόθεση ότι οι ταφές με κτερίσματα ανήκαν σε μια ομάδα υψηλότερης κοινωνικο-οικονομικής θέσης (SES), ενώ οι ταφές που δεν περιείχαν κτερίσματα ανήκαν σε άτομα με χαμηλότερη κοινωνικο-οικονομική θέση. Αυτή η υπόθεση εξετάστηκε με τη σύγκριση των δύο ομάδων SES από την άποψη των ποσοστών επικράτησης της τερηδόνας και της δριμύτητας και της συχνότητας της AMTL. Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι υπάρχει μια ιδιαίτερα σημαντική σχέση μεταξύ τερηδόνας και παρουσίας/απουσίας κτερισμάτων. Συνολικά, η τερηδόνα εμφανίζεται πιο συχνά στην υψηλότερη ομάδα SES. Όμως, αυτή η παρατήρηση μπορεί να οδηγήσει σε λαθεμένα συμπεράσματα, αξιολογώντας το γεγονός ότι το ποσοστό των δοντιών που χάθηκαν πριν τον θάνατο, ήταν πολύ υψηλότερο στην ομάδα χαμηλού SES. Αυτό σημαίνει ότι μεγάλο μέρος των τερηδονι-σμένων και φθαρμένων δοντιών χάθηκε κι επομένως, δεν καταγράφηκε. Επιπλέον, καταγράφεται ότι η ομάδα χαμηλότερου SES επηρεάζεται συχνά από σοβαρής μορφής τερηδόνα που εκθέτει την πολφική κοιλότητα. Αυτό, μαζί με το γεγονός ότι η μειονεκτούσα ομάδα υπέστη μεγαλύτερη απώλεια δοντιών από την "ελίτ", προτείνει ότι, η στοματική υγεία της ομάδας με χαμηλό SES ήταν φτωχότερη από εκείνη των ατόμων με υψηλότερο SES. Τα ευρήματα μπορούν να ερμηνευθούν ως αποτέλεσμα της ανεπαρκούς στοματικής υγιεινής και μιας διατροφής που στηρίζεται περισσότερο στους υδατάνθρακες παρά στη ζωική πρωτεΐνη για την ομάδα με χαμηλό SES. Συμπερασματικά, η τερηδόνα και η AMTL διακρίνουν σαφώς την "ελίτ" από την ομάδα χαμηλού SES, κι επομένως γίνεται εμφανές ότι υπάρχει μια ισχυρή σχέση μεταξύ της οδοντικής φθοράς και των κοινωνικοοικονομικών παραγόντων.

BIOLOGICAL AND SOCIAL STATUS: THE RELATION BETWEEN DENTAL PALAEOPATHOLOGY AND GRAVE GOODS IN CEMETERY POPULATIONS

Vanna V.¹, Nikolaou E.², Manolis S.K.³

¹*Institute of Archaeology, University College London (UCL), 31-34 Gordon Square, WC1H 0PY,
London, UK, E-mail: v.vanna@ucl.ac.uk*

²*Archaeological Inst. of Thessalian Studies, Volos, Greece, E-mail: elsanikolaou@yahoo.gr*

³*Dept of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of
Athens, Panepistimiopolis 15784 Athens, Greece. E-mail: smanol@biol.uoa.gr*

Dental caries and antemortem tooth loss (AMTL) were investigated in a Hellenistic human dental sample obtained from the site of the North cemetery of the ancient town of Demetrias in Thessaly, Greece. This study aims at assessing the effect that social status had on the prevalence of oral pathology and was based on the hypothesis that burials with grave-goods belonged to a higher socio-economic status (SES) group, whereas burials that did not contain any grave-goods belonged to lower SES individuals. This hypothesis was tested by comparing the two SES groups in terms of dental caries prevalence and severity and frequency rates of AMTL. Statistical analysis showed that there was a highly significant relation between caries and presence / absence of grave-goods. Overall, carious lesions appear more frequently in the higher SES group. This however may be misleading considering the fact that the percentage of teeth lost antemortem was much higher in the disadvantaged group. This means that a large portion of those teeth were lost of severe carious decay and were, therefore, not present in the sample in order to be recorded as being carious. Moreover, the lower SES group is much more frequently affected by severe (gross) carious lesions exposing the pulp chamber. This, along with the fact that the disadvantaged group suffered more severe tooth loss than the "elite", suggests that, overall, the lower SES group's oral health was poorer than that of the higher SES individuals. The evidence is interpreted to be the result of deficient oral hygiene and a diet relying more on carbohydrates than animal protein for the disadvantaged group. In conclusion, dental caries and AMTL clearly distinguishes the "elite" group from the lower SES group and it therefore becomes evident that there is a strong relationship between dental decay and socio-economic factors.

ΣΥΜΒΙΩΤΙΚΑ ΤΡΙΓΩΝΑ ΣΤΟ ΑΙΓΑΙΟ: ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**Βαφειάδου Α.-Μ., Αντωνιάδου Χ., Βουλτσιάδου Ε., Κουρεπίνη Μ., Χιντήρογλου Χ.**

Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α. Π. Θ., Θεσ/νίκη 54 124
E-mail: avafeiad@bio.auth.gr

Οι συμβιωτικές σχέσεις μεταξύ των θαλάσσιων ανεμώνων (Actiniaria, Anthozoa) και των ανόμουρων (Anomura, Decapoda) προϋποθέτουν τη διαθεσιμότητα άδειων κελυφών γαστεροπόδων (Gastropoda, Mollusca) για την ανάπτυξη τους. Οι τριμερείς αυτές συμβιώσεις, που χαρακτηρίστηκαν “οικολογικά τρίγωνα” από τους Ross & Sutton το 1963, είναι ελάχιστα μελετημένες στη Μεσόγειο. Η παρούσα έρευνα αποσκοπεί στην καταγραφή της ποιοτικής σύνθεσης των συγκεκριμένων συμβιωτικών τριγώνων του Αιγαίου από δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν στο πλαίσιο της μελέτης των απορριπτόμενων οργανισμών της παράκτιας αλιείας. Μέχρι σήμερα συλλέχθηκαν και μελετήθηκαν 136 δείγματα από το Αιγαίο, των οποίων η ποιοτική σύνθεση έδειξε τη συμμετοχή της ανεμώνης *Calliactis parasitica* που καταγράφηκε σε όλα, 4 ειδών ανόμουρων (*Dardanus calidus*, *D. arrosor*, *Paguristes eremita*, *Pagurus excavatus*) και 8 ειδών γαστεροπόδων (*Phalium granulatum*, *Tonna galea*, *Charonia tritonis variegata*, *Hexaplex trunculus*, *Bolinus brandaris*, *Galeodea echinophora*, *Bolma rugosa*, *Natica stercusmuscarum*). Επί του συνόλου των δειγμάτων κυριαρχεί η τριμερής συμβιωτική σχέση των ειδών *H. trunculus*-*P. excavatus*-*C. parasitica* με συχνότητα εμφάνισης 23%, ενώ ακολουθεί αυτή των *P. Granulatum* - *D. Calidus* - *C. parasitica* με 16%. Η σύγκριση των δειγμάτων σε σχέση με τη γεωγραφική τους εξάπλωση έδειξε διαφορές μεταξύ βόρειου και νότιου Αιγαίου, καθώς στην πρώτη περιοχή συμμετείχαν κυρίως τα είδη *P. eremita* και *P. excavatus*, ενώ στη δεύτερη τα *D. calidus* και *D. arrosor*. Οι διαφοροποιήσεις αυτές χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης, καθώς είναι δυνατόν να συμβάλουν στην ορθότερη οριοθέτηση των βιογεωγραφικών υποπεριοχών του Αιγαίου αλλά και της ευρύτερης Μεσογείου.

SYMBIOTIC TRIANGLES IN AEGEAN: PRELIMINARY RESULTS

Vafeiadou A.-M., Antoniadou C., Voultsiadou E., Kourepini M., Chintiroglou C.

Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University, Thessaloniki, Gr 54124
E-mail: avafeiad@bio.auth.gr

The development of symbiotic relations between sea anemones (Actiniaria, Anthozoa) and hermit crabs (Anomura, Decapoda) presuppose the availability of empty gastropod shells (Gastropoda, Mollusca). These tripartite symbioses were called "ecological triangles" by Ross and Sutton in 1963 and have been poorly studied in the Mediterranean Sea. The present study aims to assess the qualitative composition of the symbiotic triangles in the Aegean from samples collected from coastal fisheries discards. Overall, 136 samples were collected from the Aegean Sea. Their qualitative analysis showed that besides the sea anemone *Calliactis parasitica*, recorded in all samples, 4 hermit brachyuran species (*Dardanus calidus*, *D. arrosor*, *Paguristes eremita*, *Pagurus excavatus*) and 8 gastropod species (*Phalium granulatum*, *Tonna galea*, *Charonia tritonis variegata*, *Hexaplex trunculus*, *Bolinus brandaris*, *Galeodea echinophora*, *Bolma rugosa*, *Natica stercusmuscarum*) were identified. The symbiotic triangle formed by the species *H. trunculus*-*P. excavatus* - *C. parasitica* dominated (23%) followed by that of *P. granulatum* - *D. calidus* - *C. parasitica* (16%). A comparison of the qualitative composition of the samples with respect to their geographic distribution showed that in the northern Aegean the species *P. eremita* and *P. excavatus* were most frequently collected, while in the southern Aegean the species *D. calidus* and *D. arrosor*. These differences require further investigation, since they could contribute to a more clear delimitation of biogeographical sub-regions in the Aegean and the Mediterranean.

**ΑΛΛΟΜΕΤΡΙΑ ΣΥΜΒΙΩΤΙΚΩΝ ΤΡΙΓΩΝΩΝ ΤΟΥ ΑΙΓΑΙΟΥ:
ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ****Βαφειάδου Α.-Μ., Αντωνιάδου Χ, Χιντήρογλου Χ.***Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α. Π. Θ., Θεσ/νίκη 54 124 E-mail: avafeiad@bio.auth.gr*

Στο πλαίσιο της διερεύνησης της ποιοτικής και ποσοτικής συγκρότησης των συμβιωτικών σχέσεων γαστεροπόδων (Gastropoda, Mollusca) - ανόμουρων (Anomura, Decapoda) – ανεμώνων (Actiniaria, Anthozoa) του Αιγαίου, συλλέχθηκαν και αναλύθηκαν 148 δείγματα. Η παρούσα εργασία στοχεύει στη διερεύνηση της αλλομετρίας των συμβιωτικών σχέσεων των ειδών *Phalium granulatum* – *Dardanus calidus* - *Calliactis parasitica* (Ph-Dc-Cp) και των ειδών *Tonna galea* – *D. calidus* - *C. parasitica* (Tg-Dc-Cp) καθώς δεν υπάρχουν σχετικές πληροφορίες στη διεθνή βιβλιογραφία.. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκε βιομετρική μελέτη των γαστεροπόδων (ολικό βάρος και μέγιστο μήκος κελύφους) και τα δεδομένα που προέκυψαν συσχετίστηκαν με τον αριθμό των εγκαταστημένων σε αυτά ατόμων της ανεμώνης *C. parasitica* βάσει του μη παραμετρικού συντελεστή Spearman (r_s). Τα αποτελέσματα αναφορικά με το συμβιωτικό τρίγωνο Ph-Dc-Cp έδειξαν ότι τόσο το μήκος των γαστεροπόδων, όσο και το βάρος τους εμφανίζει θετική συσχέτιση με τον αριθμό των ανεμώνων ($r_s = 0,6$ $p=0,00$ και $r_s = 0,4$ $p=0,03$ αντίστοιχα). Αντίστοιχα αποτελέσματα προέκυψαν αναφορικά και με το συμβιωτικό τρίγωνο Tg-Dc-Cp ($r_s = 0,8$ $p=0,00$ και $r_s = 0,8$ $p=0,00$ για το μήκος και το βάρος του γαστεροπόδου αντίστοιχα). Συνεπώς και οι δύο βιομετρικές μεταβλητές των γαστεροπόδων που εξετάστηκαν μπορούν να θεωρηθούν ενδεικτικές της αφθονίας των ανεμώνων, γεγονός που συμφωνεί με αντίστοιχες αναφορές της διεθνούς βιβλιογραφίας. Φαίνεται λοιπόν ότι η διαθεσιμότητα μεγαλόσωμων νεκρών γαστεροπόδων ευνοεί την αφθονία της ανεμώνης *C. parasitica*, παρέχοντας της περισσότερες πιθανές θέσεις εγκατάστασης.

ALLOMETRY OF SYMBIOTIC TRIANGLES IN AEGEAN: PRELIMINARY RESULTS

Vafeiadou A.-M., Antoniadou C., Chintiroglou C.

*Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University, Thessaloniki, Gr 54124
Email: avafeiad@bio.auth.gr*

The symbiotic relations among gastropods (Gastropoda, Mollusca), hermit crabs (Anomura, Decapoda) and sea anemones (Actiniaria, Anthozoa) are currently under investigation in the Aegean, focusing to their qualitative and quantitative composition. Overall, 148 samples were collected and their analysis showed that the symbiotic triangle of the species *Phalium granulatum* – *Dardanus calidus* - *Calliactis parasitica* (Ph-Dc-Cp) and that of *Tonna galea* – *D. calidus* - *C. parasitica* (Tg-Dc-Cp) were very common. Taking into account the lack of information considering the above mentioned symbiotic triangles, the present study aims to investigate their allometry. Accordingly, two biometric parameters of the gastropods were estimated (total weight and maximum shell length) and related with the abundance of the sea anemone *C. parasitica*, using the non-parametric Spearman's correlation coefficient (r_s). Considering the symbiotic triangle Ph-Dc-Cp a positive correlation was observed between the abundance of the sea anemone and the shell length or weight ($r_s=0.6$ $p=0.00$ and $r_s=0.4$ $p=0.03$ respectively). Similar results arose also for the symbiotic triangle Tg-Dc-Cp ($r_s = 0.8$ $p=0.00$ and $r_s = 0.8$ $p=0.00$ for length and weight respectively). Consequently, both biometric parameters examined could be considered as indicative of the sea anemones' abundance, a fact that agrees with previous references. Therefore the availability of gastropod shells enhances the abundance of *C. parasitica*, providing substratum for the settlement of the anemone.

ΔΥΝΑΜΙΚΗ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΤΟΥ ΚΑΛΑΝΟΕΙΔΟΥΣ ΚΩΠΗΠΟΔΟΥ
*Calanipeda aquaedulcis***Βελεγράκη Α., Βερροϊόπουλος Γ.**

Τομέας Ζωολογίας και Θαλάσσιας Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη 15784, Αθήνα. E-mail:gverriop@biol.uoa.gr

Το Καλανοειδές Κωπήποδο *Calanipeda aquaedulcis* (Kritschagin 1873), είναι ευκαιριακό είδος με υψηλή κυριαρχία σε λιμνοθάλασσες. Παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τις υδατοκαλλιέργειες ως τροφή του γόνου των ψαριών. Σε συνθήκες εργαστηρίου εκτιμήθηκε σε ατομικές και μαζικές εκτροφές (>100 άτομα/10ml), η διάρκεια του βιολογικού κύκλου, η αναλογία αρσενικών και θηλυκών ατόμων, ο αριθμός των ωόσακων, των αυγών, η εκκολαψιμότητα, και η διάρκεια κάθε αναπτυξιακού σταδίου (ναύπλιοι και κωπηποδίτες). Η εκτροφή πραγματοποιήθηκε σε 18 °C, 15 ‰, συνεχή φωτισμό και χορηγήθηκε ως τροφή *Rodomonas salina* και *Isochrysis aff. galbana* σε πυκνότητες 10⁴ κύτταρα ανά ml. Η διάρκεια του βιολογικού κύκλου (από ναύπλιο I ως και κωπηποδίτη VI) είναι 77,5±35,5 ημέρες. Ο αριθμός των ωόσακων ανά θηλυκό άτομο είναι 5±3 και ο αριθμός των αυγών ανά ωόσακο είναι 13,5±5. Ο αριθμός των ναυπλίων που εκκολάπτεται ανά ωόσακο είναι 10,5±4. Ο χρόνος εκκόλαψης είναι 3±2 ημέρες. Η χρονική διάρκεια μεταξύ των οντογεννητικών σταδίων είναι: 5±2 ημέρες για τους ναύπλιους (I-III), 9±5 ημέρες για τους ναύπλιους (IV-VI), 4±1,5 ημέρες για τους κωπηποδίτες (I-IV), 1,5±1 ημέρες για τους κωπηποδίτες (V) και για τους κωπηποδίτες (VI) 58±26 ημέρες. Η αναλογία φύλων είναι 1♂/9♀.

POPULATION DYNAMICS OF THE CALANOID COPEPOD
Calanipeda aquaedulcis

Velegraki E., Verriopoulos G.

*Department of Zoology and Marine Biology, Natiolal and Kapodistrian University of Athens,
University Campus 15784, Athens. E-mail: gverriop@biol.uoa.gr*

The Calanoid Copepod *Calanipeda aquaedulcis* (Kritschagin 1873) is a circumstantial species that is highly predominant in lagoons. It is of particular importance for aquaculture as food for fishlings. The biological cycle, male/female ratio, number of egg sacs, eggs, incubation rate and the length of each development stage (nauplii and copepodites) were evaluated in individual and mass cultures (>100 individuals/10ml) under laboratory conditions. The culture was carried out at 18°C, 15‰, continuous light and the animals were fed with *Rodomonas salina* and *Isochrysis aff. Galbana* at densities of 10⁴ cells per ml respectively. The length of the biological cycle (from nauplius I to copepodite VI) is 77.5±35.5 days. The number of egg sacs per female is 5±3 and the number of eggs per egg sac is 10.5±4. Incubation time is 3±2 days. The time between ontogenic stages is: 5±2 days for nauplii (I-III), 9±5 days for nauplii (IV-VI), 4±1.5 days for copepodites (I-IV), 1.5±1 day for copepodites (V) and 58±26 for copepodites (VI). The sex ratio is 1♂/9♀.

**ΚΥΤΤΑΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΠΡΩΤΕΑΣΩΜΑΤΟΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ
ΩΟΓΕΝΕΣΕΣΗ ΣΤΗ *Drosophila melanogaster*****Βελέντζας Π.Δ.¹, Βελέντζας Α.Δ.¹, Μπάκου Β.Ε.², Ζέρβας Χ.³,
Παπασιδέρη Ι.Σ.¹, Στραβοπόδης Δ.Ι.¹, και Λ.Χ. Μαργαρίτης¹**

¹Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ,
Πανεπιστημιούπολις, Ζωγράφου 15784, Αθήνα. ²The Beatson Institute for Cancer Research,
Garscube Estate, Switchback Road, Bearsden, Glasgow, G61 1BD, U.K.

³Εργαστήριο Γενετικής, Ίδρυμα ΙατροΒιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών,
Σωρανού Εφεσίου 4, 11527, Αθήνα

Η παρούσα μελέτη αφορά στη σταδιοειδική ανίχνευση του πρωτεασώματος κατά τη διάρκεια της ωογένεσης στο Δίπτερο έντομο *Drosophila melanogaster*. Για το σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκε ανοσοιστοχημεία σε ωοθυλάκια όλων των αναπτυξιακών σταδίων, με χρήση των μονοκλωνικών αντισωμάτων mAb170 και mAb28, τα οποία εμφανίζουν ανοσοειδικότητα έναντι της πρωτεασωματικής υπομονάδας p54 (Rpn10/S5a). Διαπιστώθηκε ένα διαφοροποιημένο πρότυπο εντόπισης του πρωτεασώματος σε ωοθυλάκια διαφορετικών αναπτυξιακών σταδίων, υποδεικνύοντας έτσι την ενδεχόμενη σταδιοειδική ρύθμιση και λειτουργία του πρωτεασώματος κατά την ωογένεση του εντόμου *Drosophila melanogaster*. Προκειμένου να ερευνηθεί περαιτέρω η συμμετοχή του πρωτεασώματος στην εν λόγω αναπτυξιακή περίοδο, πραγματοποιήθηκε *in vitro* ανάπτυξη ωοθυλακίων, παρουσία των συνθετικών αναστολέων του πρωτεασώματος MG-132 και Bortezomib (PS-341/Velcade). Ακολούθως, μελετήθηκε η οργάνωση και δομική ακεραιότητα των κυτταρικών διαμερισμάτων των προσβεβλημένων ωοθυλακίων, μέσω διαφόρων τεχνικών, οι οποίες αποκάλυψαν, κυρίως, ένα απορυθμισμένο πρότυπο οργάνωσης του κυτταρικού σκελετού των τροφοκυττάρων. Παράλληλα, η κατασκευή διαγονι-διακών στελεχών εντόμων, βασισμένων στην τεχνολογία UAS/GAL4, μας επιτρέπει την ανίχνευση του *in vivo* ρόλου του πρωτεασώματος, μέσω της δημιουργίας ιστοειδικά ανεπαρκών συμπλόκων.

Το έργο συγχρηματοδοτείται κατά: 75% της Δημόσιας Δαπάνης από την Ευρωπαϊκή Ένωση – Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο, 25% της Δημόσιας Δαπάνης από το Ελληνικό Δημόσιο – Υπουργείο Ανάπτυξης – Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας, και από τον Ιδιωτικό Τομέα, στο πλαίσιο του Μέτρου 8.3 του Ε.Π. Ανταγωνιστικότητα – Γ Κοινωνικό Πλαίσιο Στήριξης.

**ILLUMINATING THE CELLULAR ROLE OF PROTEASOME DURING
OOGENESIS IN *Drosophila melanogaster***

**Velentzas P.D.¹, Velentzas A.D.¹, Bakou V.E.², Zervas C.³,
Papassideri I.S.¹, Stravopodis D.J.¹ and L.H. Margaritis¹**

¹Faculty of Biology, Department of Cell Biology and Biophysics, University of Athens,
Panepistimiopolis, 157 84 Zografou, Athens, Greece ²The Beatson Institute for Cancer Research,
Garscube Estate, Switchback Road, Bearsden, Glasgow, G61 1BD, U.K.
³Genetics Lab, Biomedical Research Foundation Academy of Athens, 4 Soranou Ephessiou, 115 27,
Athens, Greece

In the present study, we thoroughly examine the stage-specific localization profile of proteasome during oogenesis in *Drosophila melanogaster*. To this direction, we carried out immunolabeling reactions in egg chambers of all developmental stages, through the utilization of the monoclonal antibodies mAb170 and mAb28, which can specifically recognize the proteasome subunit p54 (Rpn10/S5a). Thereby, we clearly unveil a differential pattern of proteasome localization in ovarioles of different developmental stages, strongly implicating the potential stage-specific regulation and function of proteasome activity during *Drosophila melanogaster* oogenesis. In order to further illuminate the critical role of proteasome in the under study developmental course, a process of egg chamber *in vitro* development was implemented, testing the “bio-toxic” effects of the synthetic proteasome inhibitors MG-132 and Bortezomib (PS-341/Velcade). Subsequently, the organization and structural integrity of the three distinct cellular compartments in the drug-affected egg chambers were studied through various biological techniques (i.e. propidium iodide and phalloidin-rhodamine), revealing a cytoskeleton disorganized pattern in the nurse cell cluster. Moreover, the construction of *Drosophila melanogaster* double transgenic strains, as resulted through the adoption of the UAS/GAL4 expression system, allows us to undoubtedly unmask the *in vivo* biological role of proteasome, as it can be likely evinced through the generation of tissue-specific deficient complexes.

The present work is financially supported by: 75% Public Costs provided by European Commission – European Social Fund; 25% Public Costs provided by Hellenic State – Ministry of Development – General Secretariat of Research and Technology; Private Sector; according to the Action 8.3 of the European Program “Competitiveness” – 3rd European Commission Reliance Framework.

**ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΕΩΝ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ
ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΩΝΤΑΣ ΤΗ ΓΝΩΣΤΗ ΔΟΜΙΚΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΜΙΑΣ
ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΕΠΑΝΑΛΗΞΕΩΝ******Βλαχάκης Δ.¹, Σελλής Δ.¹, Τάρτας Α.¹, Νικολόπουλος Γ.¹, Οικονόμου Ι.² & Μ. Βλάση^{1*}**¹Ινστιτούτο Βιολογίας, ²Ινστιτούτο Φυσικοχημείας, ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», 15310 Αγ.Παρασκευή Αττικής *E-mail: meta@bio.demokritos.gr

Το επαναλαμβανόμενο πρότυπο αμινοξικής αλληλουχίας γνωστό με το όνομα tetratricopeptide repeat (TPR) διαμεσολαβεί αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-πρωτεΐνης. Η πρωτεΐνη Ssn6, η οποία περιέχει δέκα TPRs, αλληλεπιδρά με την πρωτεΐνη Tup1 και το σύμπλοκο που σχηματίζεται καταστέλλει την έκφραση διαφόρων γονιδίων του *S. cerevisiae* μέσω αλληλεπιδράσεων με ειδικές για κάθε γονίδιο, πρωτεΐνες-καταστολείς. Σε προηγούμενη εργασία μας είχαμε κατασκευάσει ένα μοντέλο της τρισδιάστατης δομής των TPRs1-3 της Ssn6 που εμπλέκονται στην αλληλεπίδραση με την Tup1. Το μοντέλο δομής σε συνδυασμό με πειράματα μεταλλαξιγένεσης υπέδειξε ότι η δομική ακεραιότητα του TPR1 της Ssn6 είναι σημαντική για την αλληλεπίδρασή της με την Tup1 (Gounalaki et al 2000, FEBS Lett 4, 37-41). Εντούτοις, πρόσφατα δεδομένα του εργαστηρίου μας που προέκυψαν με συνδυασμό βιοχημικής ανάλυσης και φασματοσκοπίας κυκλικού διχρωϊσμού, έδειξαν ότι απουσία της Tup1, το TPR1 είναι μερικώς αδιαμόρφωτο και ότι ο σχηματισμός του Ssn6-Tup1 συμπλόκου συνοδεύεται από δομικές αλλαγές του τύπου coil-to-helix (Palaiomylioti, Tartas et al 2008, Proteins 70(1), 72-82). Στην παρούσα εργασία εφαρμόζουμε προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής στο μοντέλο δομής της περιοχής TPR1-3 παρουσία διαλύματος και συγκρίνουμε τις προσομοιώσεις με τα πειραματικά μας δεδομένα προκειμένου να αξιολογήσουμε την αξιοπιστία των προσομοιώσεων με βάση τη γνωστή δομική συμπεριφορά της περιοχής αυτής της Ssn6. Οι προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής (ΜΔ) έγιναν με χρήση του εμπορικού πακέτου MOE (CCG, Canada) και ενός πακέτου προγραμμάτων που αναπτύξαμε στο εργαστήριο και το οποίο ακολουθεί την αρχιτεκτονική του προγράμματος Gromacs (Van Der Spoel et 2005 J Comput Chem 26(16), 1701-18). Επιπλέον, εκτός από τα γνωστά μοντέλα νερού εφαρμόσαμε - μέσω του λογισμικού που αναπτύξαμε- και ένα τροποποιημένο spc μοντέλο (Boulougouris et al. 1998, J. Phys. Chem. B 102, 1029-1035). Οι αναλύσεις των προσομοιώσεων ΜΔ και η παρακολούθηση των αλλαγών δευτεροταγούς δομής κατά τις προσομοιώσεις έγινε με χρήση ενός επιπλέον πακέτου λογισμικού που αναπτύξαμε στο εργαστήριο. Σύγκριση των αποτελεσμάτων των ΜΔ προσομοιώσεων με τα πειραματικά δεδομένα έδειξε ότι η επιλογή των παραμέτρων ΜΔ προσομοιώσεων πρωτεϊνών στο διάλυμα είναι καθοριστική για την εγκυρότητα των προσομοιώσεων.

** Η εργασία αυτή χρηματοδοτείται από το ΕΚΕΦΕ «Δ» στα πλαίσια του προγράμματος Δημόερενα-05. Ο Δ.Β. χρηματοδοτείται μέσω του μεταδιδακτορικού προγράμματος ΕΚΕΦΕ «Δ».

**EVALUATION OF MOLECULAR DYNAMICS SIMULATIONS USING THE
KNOWN STRUCTURAL BEHAVIOUR OF A REPEAT CONTAINING PROTEIN****

Vlachakis D.¹, Sellis D.¹, Tartas A.¹, Nikolopoulos G.¹, Economou I² & M. Vlassi^{1*}

¹Institute of Biology, ²Institute of Physical Chemistry, NCSR "Demokritos", 15310 Ag. Paraskevi,
GREECE *E-mail: meta@bio.demokritos.gr

The recurrent 34-amino-acid sequence motif, known as tetratricopeptide repeats (TPR) mediates protein interactions. The ten TPR-containing protein Ssn6 associates with the Tup1 protein and the complex represses the transcription of various genes in *S. cerevisiae* vinteractions with pathway-specific repressor proteins. We have previously constructed a 3D-model of TPRs1-3 of Ssn6 that are responsible for Tup1 binding. The model in conjunction with mutagenesis work suggested that the structural integrity of TPR1 is essential for the Ssn6-Tup1 interaction (Gounalaki *et al* 2000, *FEBS Lett* 4, 37-41). However, our recent biochemical data combined with CD spectroscopy indicated that in the absence of Tup1, TPR1 is partially unfolded and that a conformational change (coil-to-helix) accompanies the Ssn6-Tup1 complex formation (Palaiomytilou, Tartas *et al* 2008, *Proteins* 70(1), 72-82). In this work, we use various native molecular dynamics (MD) simulations in solution on the TPR1-3 model and compare their results with our experimental data in order to evaluate various molecular dynamics schemes based on its known structural behaviour. MD simulations were carried out using the MOE package (CCG, Canada) and a suite of programs we developed that benefits from the program Gromacs (Van Der Spoel *et al* 2005 *J Comput Chem* 26(16), 1701-18). In addition, apart from known water models, a modified spc water model (Boulougouris *et al.* 1998, *J. Phs. Chem. B* 102, 1029-1035) was also applied. MD trajectories analyses and monitoring of the secondary structure changes during the simulations were performed using another in-house developed software package. Comparison of the MD results with our experimental data indicated that the choice of suitable MD parameters is crucial for the reliability of the simulations.

* This work is supported by a grant from NCSR "Demokritos" (Demoerevna-05). D.V acknowledges the post-graduate program of NCSR "Demokritos"

**ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΤΗΣ ΔΥΝΗΤΙΚΗΣ ΒΛΑΣΤΗΣΗΣ ΣΤΗΝ ΛΕΚΑΝΗ
ΦΛΩΡΙΝΑΣ-ΠΤΟΛΕΜΑΪΔΑΣ ΚΟΖΑΝΗΣ, ΜΕ ΒΑΣΗ ΜΟΝΑΔΕΣ ΤΟΠΙΟΥ****Βλαχοδήμος Κ.¹, Σκεπετάρη Μ.², Βασιλόπουλος Γ.², Τσιριπίδης Ι.², Νάκου
Α.³ Παπαδημητρίου Κ.³, Διαμαντόπουλος Ι.¹**¹Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης
541 24 Θεσσαλονίκη, E-mail: kvlachod@bio.auth.gr, jdiamant@bio.auth.gr,²Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης
541 24 Θεσσαλονίκη, E-mail: mskepeta@bio.auth.gr, tsiripid@bio.auth.gr³Τμήμα Αγρονόμων Τοπογράφων Μηχανικών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης
541 24 Θεσσαλονίκη, E-mail: pakiatm@tee.gr

Στη Λεκάνη Φλώρινας-Κοζάνης με βάση το γεωλογικό υπόστρωμα και το κλίμα προσδιορίστηκαν μονάδες τοπίου, με σκοπό την μελέτη της δυνητικής βλάστησης στην περιοχή μελέτης. Μια βασική προϋπόθεση για την κατασκευή χαρτών δυνητικής βλάστησης, είναι να υπάρχει μια αρχική εντύπωση για την φυσική ή περίπου φυσική βλάστηση της περιοχής μελέτης. Για τον σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες βλάστησης, με την μέθοδο Braun-Blanquet, σε 11 αντιπροσωπευτικά σημεία της περιοχής. Συνολικά στην περιοχή αναγνωρίστηκαν 200 taxa. Για το σύνολο της περιοχής αλλά και για κάθε μονάδα τοπίου ξεχωριστά, έγινε χλωριδική ανάλυση. Από τα δεδομένα αυτά δημιουργήθηκαν διαγράμματα όπου παρουσιάζονται τα ποσοστά των οικογενειών, των βιολογικών μορφών, των μορφών ανάπτυξης και οι χωρολογικές ενότητες της περιοχής. Για τον έλεγχο της κλιματικής ομοιογένειας της περιοχής έγινε στατιστική ανάλυση στο πακέτο Statistica 7. Χρησιμοποιήθηκαν στοιχεία από επτά μετεωρολογικούς σταθμούς της περιοχής, που αφορούν την μέση θερμοκρασία και τον μέσο όγκο κατακρημνισμάτων ανά μήνα. Στην περιοχή υπάρχουν δώδεκα τύποι γεωλογικού υποστρώματος. Οι παραπάνω χωρίζονται σε τέσσερις κατηγορίες με βάση το χρόνο σχηματισμού τους και τον τύπο των πετρωμάτων. Σε συνδυασμό με τρεις υψομετρικές ζώνες (<650m, 650-1050m, >1050m) καθορίζονται δώδεκα μονάδες τοπίου. Με την χρήση των συντελεστών ομοιότητας Jaccard και Sorensen έγινε σύγκριση της χλωριδικής σύνθεσης των παραπάνω περιοχών. Από τη σύγκριση προέκυψε ότι οι περιοχές διαφοροποιούνται σημαντικά. Με βάση όλα τα παραπάνω στοιχεία καταλήγουμε στην παρουσία πέντε κατηγοριών δυνητικής βλάστησης. Αυτές χαρακτηρίζονται από τυπική μεσογειακή βλάστηση, από δάσος με διάφορα είδη φυλλοβόλου δρυός, μικτό δάσος με δρυς και κέδρους, δάσος οξυάς κι υδρόβια παραλίμνια βλάστηση.

**APPROACH TO THE POTENTIAL VEGETATION OF THE FLORINA
_PTOLEMAIS_KOZANI BASIN BASED ON LANDSCAPE UNITS**

**Vlachodimos K.¹, Skepetari M.², Vasilopoulos G.², Tsiripidis I.², Nakou A.³,
Papadimitriou K.³, Diamantopoulos I.¹**

¹*Department of Ecology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki
541 24 Thessaloniki, E-mail: kolachod@bio.auth.gr , jdiamant@bio.auth.gr ,*

²*Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki
541 24 Thessaloniki, E-mail: mskepeta@bio.auth.gr , tsiripid@bio.auth.gr*

³*Department of Rural and Surveying Engineering, Aristotle University of Thessaloniki
541 24 Thessaloniki, E-mail: pakiatm@tee.gr*

Based on the geological substrate and the climate of each site, landscape units were defined in the Florina-Ptolemais-Kozani basin, in order to examine the potential vegetation of the study area. A basic precondition for the creation of potential vegetation maps is the existence of an initial impression of the natural or actual real vegetation of the study area. In order to achieve this impression, vegetation sampling was performed according the Braun-Blanquet method at 11 typical sites of the study area. A total of 200 taxa was identified. For the whole area and for each landscape unit separately vegetation analysis was performed. Results are presented in charts including the percentages of the families, the biological and growth forms identified, and the spatial units are presented in the study. Data from seven different meteorological stations was analyzed with the use of Statistica 7 in order to study the homogeneity of the climate of the area. The data included mean temperature and mean volume of precipitation per month. The study area includes twelve types of geological substrates. They combine four different categories based on geological age and the type of the rocks. In comparison with three different elevation zones (< 650m, 650-1050m, >1050m) twelve landscape units were identified. With the use of the Jaccard and Sorensen coefficients of similarity, comparison of the vegetation synthesis of the above areas was performed. The results show that the vegetation between landscape units vary significantly. We conclude that our study area includes five types of potential vegetation: Mediterranean sclerophyllous vegetation, deciduous oak forest, mixed deciduous oak-juniper forest, beach forest and border lake vegetation.

**ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΑΛΛΑΓΩΝ ΣΕ
ΣΠΟΡΑΔΙΚΑ ΒΑΣΙΚΟΚΥΤΤΑΡΙΚΑ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΑ ΔΕΡΜΑΤΟΣ****Βλάχου Χ., Σταματέλλη Α., Σαέττα Α., Γκολετσοπούλου Ε., Αρώνη Κ.,
Παπασιδέρη Ι.Σ., Πατσούρης Ε.**

*1^ο Τμήμα Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Μικράς Ασίας 75, Γουδί, Τ.Κ. 115 27, Αθήνα, Ελλάδα E-mail: christinevlachou@gmail.com*

Το βασικοκυτταρικό καρκίνωμα (BCC) είναι η πιο συνηθισμένη νεοπλασία του δέρματος (75% των μη-μελανοκυτταρικών δερματικών καρκίνων). Η απορύθμιση του μονοπατιού μεταγωγής σήματος RAS/RAF/MEK/ERK εμπλέκεται στην καρκινογένεση πολλών οργάνων. Μεταλλάξεις στο γονίδιο B-Raf έχουν ανιχνευθεί στα μελανώματα σε υψηλά ποσοστά. Στόχος αυτής της μελέτης ήταν να αναζητηθούν οι μεταλλάξεις του γονιδίου B-Raf και να ερευνηθεί ο συσχετισμός τους με την παρουσία μικροδορυφορικής αστάθειας (MSI), τις κλινικο-παθολογο-ανατομικές παραμέτρους των όγκων και την έκφραση των πρωτεϊνών p53 και hMLH1. Μελετήθηκαν 83 δείγματα από ασθενείς με BCC για μεταλλάξεις στο εξόνιο 15 του γονιδίου B-Raf. Χρησιμοποιήθηκαν οι μέθοδοι: αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR), πολυμορφισμών διαμόρφωσης μονόκλωνου DNA (SSCP) και αλληλούχισης (sequencing). Η υπερμεθυλίωση του υποκινητή των γονιδίων RASSF1 και hMLH1 μελετήθηκε με ειδική για μεθυλίωση αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (MSP). Για την ανίχνευση της μικροδορυφορικής αστάθειας χρησιμοποιήθηκαν οι μονονουκλεο-τιδικοί μικροδορυφορικοί δείκτες BAT-25 και BAT-26. Η έκφραση των πρωτεϊνών p53 και hMLH1 καταδείχθηκε με ανοσοϊστοχημεία. Στο εξόνιο 15 του γονιδίου B-Raf ανιχνεύθηκαν δύο αντικαταστάσεις βάσεων, μια σιωπηλή μεταλλαγή C1790T (L597L) και μια μεταστροφή T σε A που οδηγεί σε αντικατάσταση φαινυλαλανίνης από ισολευκίνη στο κωδικόνιο 610, F610I. Η υπερμεθυλίωση των υποκινητών των γονιδίων RASSF1 και hMLH1 ανιχνεύθηκε σε 30% και 0% των περιπτώσεων αντίστοιχα. Στα δείγματα με υπερμεθυλίωση του RASSF1 δεν παρατηρήθηκαν μεταλλάξεις στο B-Raf. Μικροδορυφορική αστάθεια ανιχνεύθηκε σε ποσοστό 5%. Υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53 παρατηρήθηκε στο 57% των περιπτώσεων. Δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των μεταλλαγών του B-Raf, της MSI, της υπερμεθυλίωσης των RASSF1 και hMLH1, της έκφρασης των p53 και hMLH1 και των κλινικοπαθολογοανατομικών χαρακτηριστικών των όγκων. Η υψηλή συχνότητα υπερμεθυλίωσης του υποκινητή του RASSF1 υποδεικνύει τη πιθανή σημασία του γονιδίου για την καρκινογένεση του BCC.

ANALYSIS OF GENETIC AND EPIGENETIC ALTERATIONS IN SPORADIC BASAL CELL CARCINOMAS

**Vlachou C., Stamatelli A., Saetta A., Gkoletsopoulou E., Aroni K.,
Papasideri I.S., Patsouris E.**

*Department of Pathology, Medical School, The National and Kapodistrian University of Athens, 75
Mikras Asias Street, Goudi, GR-115 27 Athens, Greece. E-mail: christinevlachou@gmail.com*

Basal Cell Carcinoma (BCC) is the most common skin neoplasm accounting for the 75% of all non-melanoma skin tumors. Genes related to the Ras/Raf signalling pathway have been implicated in the pathogenesis of skin cancer. B-Raf mutations are commonly detected in melanomas. In order to investigate the involvement of RAS/RAF/MEK/ERK signalling cascade, we searched for alterations in B-Raf and RASSF1A genes in microsatellite instability (MSI) proficient and deficient sporadic BCCs. Furthermore we investigated hMLH1 methylation. Results were correlated with the clinicopathological parameters of the patients, hMLH1 and p53 protein expression. 83 BCC specimens were screened for B-Raf mutations by single-stranded conformation polymorphisms (SSCP) and DNA sequencing. The RASSF1A and hMLH1 promoter hypermethylation was analyzed by Methylation Specific PCR (MSP). The MSI status was investigated using the mononucleotide microsatellite markers BAT25 and BAT26. p53 and hMLH1 protein expression was investigated by immunohistochemistry. Analysis of the B-raf gene showed mutations in two cases: a silent one C1790T (L597) and a T to A transversion leading to a F610I change. None of the studied BCC carried the most frequent mutation T1799A (V600E). Methylation of RASSF1A and hMLH1 was present in 30% and 0% of the cases respectively. None of the RASSF1A methylated BCCs exhibited B-Raf mutations. MSI was detected in 5% of the cases. p53 accumulation was present in 57% of the samples studied. No correlation could be determined between B-Raf and RASSF1A alterations, MSI status, the clinicopathological features and p53 or hMLH1 protein expression. Furthermore, no association could be found between MSI and hMLH1 promoter hypermethylation. Basal Cell Carcinomas with or without MSI, rarely harbour B-Raf mutations. The high frequency of RASSF1A methylation mutations may suggest a significant role of this gene in the tumorigenesis of BCC.

**ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ
ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΤΑ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΑ****Βόντας Γ.^{1*}, Ροδιτάκης Ε.², Νίκου Δ.^{1,3}, Μώρου Ε.^{1,3}, Ηλίας Α.¹, Καναβάκη Ο.¹,
και Α. Τσαγκαράκου²**¹ Εργ. Γεωργ. Φαρμακολογίας, Γεωπονικό Παν/μιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, Αθήνα 11855^{*}vontas@aua.gr ² Εργαστήριο Εντομολογίας και Γ. Ζωολογίας, Ινστιτούτο Προστασίας
Φυτών Ηρακλείου, ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε. ³Vector Control Group, Liverpool School of Tropical Medicine, UK

Η ανθεκτικότητα στα εντομοκτόνα είναι ένα από τα σοβαρότερα προβλήματα στην προσπάθεια ελέγχου των επιβλαβών εντόμων με τη χρήση εντομοκτόνων. Η ανάλυση και ο χαρακτηρισμός μηχανισμών σε μοριακό επίπεδο δημιουργεί εργαλεία που συμβάλουν στην πρόληψη και στην αντιμετώπιση του φαινομένου. Η γνώση της μοριακής βάσης και των χαρακτηριστικών της (επίπεδα, εύρος, σταθερότητα), και η εφαρμογή σύγχρονων διαγνωστικών μεθόδων που επιτρέπουν την ανίχνευση και παρακολούθησή (monitoring) της ανθεκτικότητας με ταχύτητα και ασφάλεια, διευκολύνει τη βέλτιστη διαχείριση των δραστικών ουσιών στα προγράμματα καταπολέμησης. Στα τρέχοντα ενδιαφέροντά μας συμπεριλαμβάνονται, (α) Η ανθεκτικότητα του δάκου της ελιάς *Bactrocera oleae* σε εγκεκριμένα σκευάσματα που χρησιμοποιούνται για την καταπολέμησή του. Έχουμε χαρακτηρήσει τις μεταλλάξεις ανθεκτικότητας I214V και G488S στο γονίδιο της ακετυλχολινεστεράσης, καθώς και μελετήσαμε τη γεωγραφική κατανομή και εξελικτική ιστορία των ανθεκτικών αλληλομόρφων. Επίσης, με χρήση μακρο και μικρο-συστοιχιών που περιλαμβάνουν ένα μεγάλο αριθμό γονιδίων αποξικοποίησης (P450s, COEs, GSTs), και κλασικές μοριακές μεθόδους (κλωνοποίηση υπομονάδων γονιδίων, στόχων) αναλύουμε μηχανισμούς ανθεκτικότητας στο *Spinosa* και στα Πυρεθρινοειδή. (β) Η ανθεκτικότητα του αλευρώδη *Bemisia tabaci* στα νεονικοτινοειδή εντομοκτόνα. Βρήκαμε ότι η ανθεκτικότητα πληθυσμών *B. tabaci* από θερμοκηπιακές καλλιέργειες της Κρήτης στο imidacloprid σχετίζεται με την αυξημένη έκφραση της P450 οξειδάσης CYP6M1. Χρησιμοποιώντας πεπτιδικά αντισώματα κατασκευάζουμε διαγνωστικά εργαλεία για την παρακολούθηση της ανθεκτικότητας στον αγρό. Επίσης, με βάση τη δομή της πρωτεΐνης και σε συνεργασία με εμπορικούς φορείς, σχεδιάζονται βοηθητικές ουσίες (add-ons) και τροποποιημένα νεονικοτινοειδή, για την αντιμετώπιση της ανθεκτικότητας. (γ) Η διερεύνηση των επιπέδων και των μηχανισμών ανθεκτικότητας του *Tetranymphus urticae* στο bifenthrin. Χαρακτηρίσαμε την ανθεκτικότητα (>5000x) σε πληθυσμούς από τη Κρήτη, κλωνοποιήσαμε μέρος του στόχου των πυρεθρινοειδών και αξιολογούμε πολυμορφισμό μεταξύ ανθεκτικών και ευαίσθητων εντόμων, (δ) Η ανθεκτικότητα κουνουπιών *Anopheles sp* και *Aedes sp* σε διάφορα εντομοκτόνα που χρησιμοποιούνται για την καταπολέμησή τους. Συμμετέχοντας σε ένα από τα μεγαλύτερα προγράμματα στον κόσμο για την καταπολέμηση της ελονοσίας, αναλύουμε την ανθεκτικότητα με χρήση μικροσυστοιχιών μεγάλης κλίμακας, και απλοποιούμε τα ευρήματα της ανάλυσης σε εύχρηστα διαγνωστικά, για τη διαπίστωση μεταλλαγών ανθεκτικότητας, είδους κουνουπιού και παρουσίας παρασίτων σε κουνούπια που συλλέγονται στο πεδίο.

MOLECULAR ANALYSIS AND DIAGNOSIS OF INSECTICIDE RESISTANCE

**Vontas J.^{1*}, Roditakis E., Nikou D.^{1,3}, Morou E.^{1,3}, Ilias A.¹, Kanavaki O.¹,
and A. Tsagkarakou²**

¹Lab Pesticide Science, Agricultural Univ. of Athens, Iera Odos 75, Athens 11855 *vontas@aua.gr

²Lab Entomology and Agricultural Zoology, Plant Protection Instit. Heraklion (N.AG.RE.F.)

³Vector Control Group, Liverpool School of Tropical Medicine, Liverpool, UK

Insecticide resistance is an increasing problem in many insects. Molecular techniques have recently allowed us to dissect many of these mechanisms at the DNA level, aiming the development of diagnostic tools to monitor resistance in the field, as well as explore novel control strategies. Our current research interests include, (a) Characterization of insecticide resistance in the olive fruit fly *Bactrocera oleae*. We have characterized the I214V and G488S resistance mutations in the *Ace2* gene (OP target) and investigate geographical distribution and evolution of the resistant alleles. Using microarrays with a large number of spotted detoxification enzyme probes and classical molecular techniques, we currently characterize Pyrethroid and Spinosad resistance mechanisms, (b) Molecular characterization of a P450-based imidacloprid (neonicotinoid) resistance mechanism in the whitefly *Bemisia tabaci*. We have identified a cytochrome P450 (CYP6M1) that is highly overexpressed in resistant insects and is strongly associated with resistance phenotype, and currently develop peptide antibody based diagnostics for resistance monitoring, (c) Investigation of bifenthrin resistance mechanisms in the mite *Tetranychus urticae*. We have characterized resistance in a highly resistant population (>5000x) isolated from Crete, cloned a large part of the target gene (sodium channel), and currently evaluate polymorphism between resistant and susceptible mites, (d) Analysis of insecticide resistance in mosquito species using large and small scale microarrays. We participate in one of the biggest research programs, to analyze resistance mechanisms in malaria vectors aiming to develop practical diagnostic tools (including resistance, species ID and vectored pathogen molecular markers), for improving effectiveness of vector control interventions in the field.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΘΑΛΑΣΣΙΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ ΤΟΥ ΚΟΛΠΟΥ ΤΟΥ ΛΑΓΑΝΑ ΣΤΗ ΖΑΚΥΝΘΟ****Βυθούλκα Μ.Ι., Λυμπεροπούλου Δ.Σ., Καραγκούνη Α.Δ.***Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, Ομάδα Μικροβιολογίας,
15781 Αθήνα. E-mail: akar@biol.uoa.gr*

Ο κόλπος του Λαγανά βρίσκεται στη Νότια πλευρά της Ζακύνθου και έχει μήκος περίπου 5 Km. Η μελέτη της μικροβιακής ποικιλότητας του θαλάσσιου περιβάλλοντος του κόλπου του Λαγανά παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, λόγω της μεγάλης επισκεψιμότητας κατά τους θερινούς μήνες, ενώ επιπλέον περιλαμβάνει τις σημαντικότερες παραλίες ωτοκίας της θαλάσσιας χελώνας *Caretta caretta* σε όλη τη Μεσόγειο. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η εκτίμηση της καλλιεργήσιμης μικροβιακής ποικιλότητας του κόλπου, καθώς και η ανίχνευση δυνητικά παθογόνων βακτηρίων, όπως *E. coli*, *Enterococcus* sp., *Pseudomonas* sp., *Salmonella* sp. και *Clostridium perfringens*, τα οποία σχετίζονται με μολύνσεις προερχόμενες από ύδατα κολύμβησης. Η *E. coli* και το γένος *Enterococcus* sp. αποτελούν μικροοργανισμούς δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης υδάτων και ως εκ τούτου χρησιμοποιούνται ευρέως για την εκτίμηση του μικροβιακού φορτίου σε αυτό. Επιπλέον, οι εντερόκοκκοι φαίνεται να συσχετίζονται καλύτερα με συμβάντα γαστροεντερικών ασθενειών σε νερά αναψυχής (π.χ. πισίνες, νερό κολύμβησης) και έχει προταθεί ότι αποτελούν καλύτερους δείκτες στο νερό. Πραγματοποιήθηκαν δυο δειγματοληψίες (φθινόπωρο- καλοκαίρι) σε 7 αντιπροσωπευτικές θέσεις. Η ποσοτική εκτίμηση και η απομόνωση των μικροοργανισμών έγινε με καλλιέργειες σε ευρέως φάσματος και εκλεκτικά θρεπτικά υποστρώματα. Η ταξινόμηση των μικροβιακών στελεχών έγινε βάσει των διαφορετικών προτύπων που έδωσαν στις αντιδράσεις REP- και ERIC-PCR, ενώ η ταυτοποίηση τους έγινε με χρήση εξειδικευμένων εκκινητικών μορίων για κάθε γένος-ομάδα, σε συνδυασμό με τη χρήση βιοχημικών δοκιμών. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα ύδατα κολύμβησης στον κόλπο παρουσιάζουν εξαιρετικά χαμηλά επίπεδα μικροβιακού φορτίου και κατ' επέκταση μόλυνσης, ακόμη και σε περιοχές υψηλής τουριστικής κίνησης.

**STUDY OF THE MICROBIAL DIVERSITY OF THE SEA HABITAT OF
LAGANAS GULF IN ZAKYNTHOS**

Vythoulka M.I., Lympelopoulou D.S., Karagouni A.D.

*University of Athens, Faculty of Biology, Dept. of Botany, Microbiology group, 15781 Athens, Greece.
E-mail: akar@biol.uoa.gr*

Laganas Gulf is located in the south coast of Zakynthos and has a size of about 5 Km in length. The study of the microbial diversity of the sea habitat of Laganas gulf is of a particular scientific interest, because it possesses the most significant shores for the egg laying of sea turtles *Caretta caretta* in the whole of Mediterranean Sea. At the same time, high visiting frequency from tourists in summer months create a remarkable crossing point where human intervention may harm natural and fragile ecosystems. The aim of this study was the detection of the culturable microbial diversity of the gulf, as well as the detection of facultative pathogens, such as *E. coli*, *Enterococcus* sp., *Pseudomonas* sp., *Salmonella* sp. and *Clostridium perfringens*, which relate to gastrointestinal illnesses from recreational waters. *E. coli* and *Enterococcus* sp. are the most common indicator organisms of the faecal contamination in water, while the latter has been proved to correlate better to gastrointestinal illnesses from recreational waters. Two samplings were performed, one in autumn and one in summer, at seven representative sampling sites. The numbers of bacteria were estimated on general purpose and selective media. All isolates were distinguished according to different fingerprints retrieved in REP- and ERIC-PCR, while their identification was achieved with the use of group specific primers and on the basis of their biochemical profile. According to the results, the heterotrophic microbial population, as well as the population of the potentially pathogenic bacteria and the indicator microorganisms showed that recreational waters exhibit very low contamination levels if any, as far as the microbial load is concerned.

**ΓΙΓΑΝΤΟΜΑΧΙΑΣ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΕΙΣ:
ΠΡΟΑΓΓΕΛΟΙ ΤΗΣ ΣΧΕΣΗΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥ-ΦΥΣΗΣ**

Βώκου Δ. *

*Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54124 Θεσσαλονίκη,
E-Mail: vokou@bio.auth.gr*

Επιχειρείται μια ανάγνωση του μύθου της γιγαντομαχίας με βάση τις απεικονίσεις της στη ζωφόρο του Βωμού της Περγάμου, στο Βερολίνο. Οποιαδήποτε μυθική (και όχι μόνο) νίκη υποδηλώνει το τέλος μιας εποχής και την αρχή μιας άλλης. Η απεικόνιση της γιγαντομαχίας, κυρίως του θριάμβου της Αθηνάς έναντι του γίγαντα Αλκυονέα, μοιάζει να δηλώνει με σαφήνεια τα χαρακτηριστικά εκείνων των δυνάμεων που κέρδισαν τη μάχη και καθόρισαν τις εξελίξεις. Εξετάζεται η σχέση αυτών των χαρακτηριστικών με το βηματισμό της ανθρωπότητας, από το μακρινό παρελθόν μέχρι σήμερα, αλλά και εάν αφήνουν περιθώρια αισιοδοξίας για τη σχέση του ανθρώπου με τη φύση και για το μέλλον του πλανήτη.

** Προσκεκλημένη ομιλήτρια*

**DEPICTING OF THE BATTLE OF GIANTS:
PREVIEW OF MAN'S RELATIONSHIP WITH NATURE**

Vokou D. *

*Department of Ecology, School of Biology, Aristotle University, 54124 Thessaloniki,
E-Mail: vokou@bio.auth.gr*

We attempt a reading of the struggle of the Olympian Gods and the Giants, as depicted on the frieze of the Altar of Zeus in Pergamon, hosted now in the Pergamon Museum in Berlin. Any mythical victory represents the end of an era and the beginning of another. The depiction of the victory of the Olympian Gods, and particularly of that of Athena's triumph over the giant Alcyoneus, seems to point to the features characterizing those powers that won the battle and determined the course of events. We examine the relationship of these features with the progress of humankind, from the very early days till today. We also see some optimistic signs for the relationship between man and nature and for the future of our planet.

** Invited speaker*

ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ ΣΤΗΝ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΙΑΤΡΙΚΗ**Γαλάρης Δ. ***

*Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων Ιατρική Σχολή, Ιωάννινα.
Email: dgalaris@cc.uoi.gr*

Ελεύθερες ρίζες καλούνται μόρια ή άτομα που έχουν ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο σε μια από τις εξωτερικές τους στοιβάδες. Η ιδιότητα αυτή προσδίδει στις συγκεκριμένες χημικές ενώσεις εξαιρετικά υψηλή οξειδωτική ικανότητα, με αποτέλεσμα, όταν αυτές σχηματίζονται στα ενδοκυττάρια, να προκαλούν αλυσιδωτές αντιδράσεις οξείδωσης όλων των βασικών συστατικών του κυττάρου (DNA, πρωτεΐνες, λιπίδια και υδατάνθρακες). Το παράδοξο είναι ότι το οξυγόνο που αποτελεί την πηγή της ζωής είναι ταυτόχρονα και η βασικότερη πηγή δημιουργίας ελευθέρων ριζών στους αερόβιους οργανισμούς. Σαν αποτέλεσμα, ελεύθερες ρίζες που προέρχονται από το οξυγόνο έχει προταθεί ότι παίζουν αποφασιστικό ρόλο στους μοριακούς μηχανισμούς μιας πληθώρας παθολογικών καταστάσεων σε ανθρώπους, ζώα, και φυτά. Η διαλεύκανση όμως των μοριακών αυτών μηχανισμών που θα διευκόλυνε τον σχεδιασμό προστατευτικών παρεμβάσεων παραμένει ακόμα εν πολλοίς ανεκπλήρωτος στόχος. Στην παρουσίαση αυτή θα γίνει μία προσπάθεια καταγραφής των γνωστών μηχανισμών δημιουργίας ελευθέρων ριζών στα βιολογικά συστήματα καθώς και οι γενικές αρχές των μηχανισμών δράσης αυτών των ενώσεων. Ιδιαίτερη έμφαση θα δοθεί στον ρόλο που διαδραματίζουν οι ελεύθερες ρίζες σε φυσιολογικές διαδικασίες, όπως στην ενδοκυττάρια μεταγωγή σημάτων. Τέλος, θα παρουσιασθούν πειραματικά δεδομένα της ερευνητικής μας ομάδας που υποστηρίζουν τον αποφασιστικό ρόλο που διαδραματίζει η παρουσία ελευθέρων ιόντων σιδήρου σε όλους τους μηχανισμούς στους οποίους ενέχεται το οξειδωτικό στρες.

* Προσκεκλημένος ομιλητής

FREE RADICALS IN BIOLOGY AND MEDICINE

Galaris D. *

*Laboratory of Biological Chemistry, University of Ioannina Medical School,
45110 Ioannina, Greece Email: dgalaris@cc.uoi.gr*

Free radicals are atoms or molecules that contain at least one unpaired electron in one of their outer orbitals. This property makes them usually extremely reactive, and when generated inside the cells are able to initiate chain-reactions that may lead to oxidative modification of all main cellular components (DNA, proteins, lipids, and hydrocarbons). It is a paradox that oxygen, which is inevitable for life, represents also the main source for the generation of free radicals in aerobic organisms. Consequently, it has been proposed that such oxygen-derived free radicals play crucial roles in a great number of pathological conditions in humans, animals, and plants. However, the exact molecular mechanisms by which free radicals and oxidative stress contribute to the development of the above pathological conditions remain elusive and further investigations are needed for their elucidation. In this presentation, an attempt will be made to summarize the mechanisms of free radical formation in biological systems as well as to describe the general principles of their actions. Special emphasis will be paid on the role of oxygen-derived free radicals in physiological processes, like intracellular cell signaling. Finally, experimental data derived from our research group that support the importance of the participation of iron ions in all molecular mechanisms that are mediated by free radicals and oxidative stress will be presented.

** Invited speaker*

**Η ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ PPAR β/δ
ΑΝΑΣΤΕΛΛΕΙ ΤΗΝ ΕΠΑΓΟΜΕΝΗ ΑΠΟ ΤΗ ΦΑΙΝΥΛΕΦΡΙΝΗ
ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ ΤΩΝ MAPK ΚΑΙ Akt ΚΑΙ ΕΜΠΟΔΙΖΕΙ ΤΗΝ
ΥΠΕΡΤΡΟΦΙΑ ΤΩΝ ΚΑΡΔΙΟΜΥΟΚΥΤΤΑΡΩΝ**

Γαλάτου Ε., Τάρα Κ., Λάζου Α.

*Τμήμα Βιολογίας, Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο
Θεσσαλονίκης 54124 Θεσσαλονίκη, e-mail: efgala@bio.auth.gr*

Ο υποδοχέας που ενεργοποιείται από τους πολλαπλασιαστές των υπεροξειδιοσωμάτων β/δ (PPAR β/δ) αποτελεί ένα μεταγραφικό παράγοντα ο οποίος ανήκει στην υπεροικογένεια των πυρηνικών υποδοχέων και διαδραματίζει κυρίαρχο ρόλο στη ρύθμιση του μεταβολισμού λιπιδίων στην καρδιά. Η ενεργοποίηση του PPAR β/δ σχετίζεται επίσης με αναστολή της αύξησης καθώς και με αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Παρόλα αυτά δεν έχει διευκρινιστεί ακόμη ο ρόλος του στην υπερτροφία των καρδιομυοκυττάρων. Η υπερτροφία των καρδιομυοκυττάρων αποτελεί μία απόκριση της καρδιάς σε ένα ευρύ φάσμα εξωτερικών ερεθισμάτων, όπως η αρτηριακή υπέρταση, το έμφραγμα μυοκαρδίου και η υπερτροφική καρδιομυοπάθεια. Παρόλο που η διαδικασία αυτή είναι αρχικά αντισταθμιστική, η παράτασή της συνήθως οδηγεί σε καρδιακή ανεπάρκεια, αρρυθμία και ξαφνικό θάνατο. Καρδιομυοκύτταρα ενήλικου αρουραίου καλλιεργήθηκαν παρουσία της φαινυλεφρίνης, ενός υπερτροφικού αγωνιστή και/ή του GW0742, ενός εξειδικευμένου συνθετικού συνδέτη του PPARβ/δ. Το μέγεθος των κυττάρων μετρήθηκε ως δείκτης της υπερτροφίας. Η ενεργοποίηση των κινασών προσδιορίστηκε με ανοσοεντόπιση και η έκφραση του PPAR β/δ με RT-PCR. Η έκθεση των καρδιομυοκυττάρων στον GW0742 ανέστειλε την επαγόμενη από τη φαινυλεφρίνη φωσφορυλίωση των ERK1/2, της MSK1 και της Akt. Επιπρόσθετα, ο GW0742 ανέστειλε την επαγόμενη από φαινυλεφρίνη αύξηση του μεγέθους των καρδιομυοκυττάρων. Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν ότι η ενεργοποίηση του PPARβ/δ παρεμβαίνει στα σηματοδοτικά μονοπάτια των MAPK και Akt, γεγονός το οποίο συνεισφέρει πιθανώς στην αναστολή της υπερτροφικής αύξησης των καρδιομυοκυττάρων.

**ACTIVATION OF NUCLEAR RECEPTOR β/δ (PPAR β/δ) INHIBITS
PHENYLEPHRINE-INDUCED MAPK AND Akt SIGNALLING AND
PREVENTS CARDIAC HYPERTROPHY**

Galatou E., Tara K., Lazou A.

*School of Biology, Laboratory Of Animal Physiology, Aristotle University of Thessaloniki,
Thessaloniki 54124 email: elefgala@bio.auth.gr*

Peroxisome proliferator-activated receptor β/δ (PPAR β/δ) is a transcription factor that belongs to the superfamily of nuclear receptors and plays a prominent role in the regulation of cardiac lipid metabolism. Activation of PPAR β/δ has been also associated with inhibition of growth and inflammatory response. However the role of PPAR β/δ in cardiac hypertrophy is not yet known. Cardiac hypertrophy is a response of the heart to a wide range of extrinsic stimuli, such as arterial hypertension, myocardial infarction and hypertrophic cardiomyopathy. Although this process is initially compensatory for an increase workload, its prolongation frequently results in congestive heart failure, arrhythmia and sudden death. Adult rat cardiac myocytes were cultured in the presence of the hypertrophic agonist phenylephrine (PE) and/or GW0742, a specific synthetic ligand of PPAR β/δ . Cell size was measured as an index of hypertrophy. Activation of kinases was determined by immunoblotting and expression of PPAR β/δ was determined by RT-PCR. Treatment of cardiac myocytes with GW0742 inhibited the PE-induced phosphorylation of ERK1/2, MSK1 and Akt. In addition, GW0742 inhibited the PE-induced increase in cell size. The results suggest that activation of PPAR β/δ interferes with the signalling pathways of MAPK and Akt and this may contribute to the inhibition of cardiac hypertrophic growth.

**ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΒΛΑΧΩΝ ΤΗΣ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ
ΜΙΚΡΟΔΟΥΡΥΦΟΡΙΚΩΝ DNA ΔΕΙΚΤΩΝ****Γαργάνη Σ.¹, Ρούσκας Κ.¹, Γερμενής Α.², Τριανταφυλλίδης Κ.¹, Κουβάτση Α.¹**

¹ Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας Α.Π.Θ
E-mail: akouvat@bio.auth.gr

² Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας

Η διερεύνηση της καταγωγής των Βλάχων αποτελεί περίπλοκο πρόβλημα εξαιτίας της έλλειψης ιστορικών μαρτυριών ικανών να προσδιορίσουν την προέλευσή τους. Οι πληθυσμοί των Βλάχων είναι εγκατεστημένοι σε διάφορες περιοχές των Βαλκανίων, όπως στην Ελλάδα, στην Αλβανία, στην Πρώην Γιουγκοσλαβική Δημοκρατία της Μακεδονίας, στη Σερβία, στη Βουλγαρία και στη Ρουμανία, ωστόσο οι θεωρίες που έχουν διατυπωθεί δεν αποσαφηνίζουν πλήρως την καταγωγή τους. Στη παρούσα μελέτη αναλύθηκαν 64 μη συγγενικά άτομα βλάχικης καταγωγής που διαμένουν στη Θεσσαλία για 12 μικροδουροφυρικούς δείκτες, STRs (D2S1328, D3S1358, D5S818, D8S1179, D9S926, D11S2010, D13S317, D16S310, D18S848, TPO, vWF, THO1). Η ταυτοποίηση των δεικτών έγινε με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης και ηλεκτροφόρησης σε πηκτή πολυακρυλαμίδης. Για τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκαν τα στατιστικά πακέτα PowerStat, Genepop, GenAlex, Cervus και Phylip, με σκοπό την ανάλυση του συγκεκριμένου δείγματος των Βλάχων. Τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με ανάλογα από τον ελληνικό πληθυσμό, αλλά και άλλους. Ο πληθυσμός των Βλάχων της Θεσσαλίας βρέθηκε σε ισορροπία Hardy-Weinberg για όλους τους γενετικούς δείκτες, μετά από τη διόρθωση Bonferonni. Η σύγκριση της γενετικής σύστασης των Βλάχων με εκείνη των πληθυσμιακών ομάδων της Κεντρικής Μακεδονίας, Ανατολικής Μακεδονίας, Θεσσαλίας και Ηπείρου αποκάλυψε στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση. Παράλληλα, από τη σύγκριση με άλλους πληθυσμούς των Βλάχων των Βαλκανίων προέκυψε πως οι πληθυσμοί των Βλάχων διαφέρουν γενετικά μεταξύ τους, αλλά και από τους γειτονικούς τους πληθυσμούς. Ωστόσο, η γενετική τους σύσταση δείχνει ότι ανήκουν στους πληθυσμούς των Βαλκανίων.

GENETIC ANALYSIS OF THE BLACHS IN THESSALY BY USING MICROSATELLITE MARKERS

Gargani S.¹, Rouskas K.¹, Germenis A.², Triantaphyllidis C.¹, Kouvatsi A.¹

¹*Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle
University of Thessaloniki, E-mail: akouvats@bio.auth.gr*

²*School of Medicine, University of Thessaly, University Hospital of Larissa*

The origin of the Blachs seems to be a complicate issue due to inadequate historical data. Most Blachs live in Greece, while others inhabit Albania, FYROM, Serbia, Bulgaria and Romania, even though the origin of these populations is still unclear. We analyzed 64 unrelated Greek Blachs individuals living in Thessaly for 12 microsatellite markers, STRs (D2S1328, D3S1358, D5S818, D8S1179, D9S926, D11S2010, D13S317, D16S310, D18S848, TPO, vWF, THO1). The analysis was based on polymerase chain reaction and polyacrylamide gel electrophoresis detection method. Statistical analysis was performed by using appropriate statistical packages (PowerStats, Genepop, GenAlex and Cervus) in order to analyze the certain Blachs population and compare it with other Greek and foreign populations. Our population was found to be in Hardy-Weinberg equilibrium for all markers, after Bonferonni correction. The comparison of the Blachs population group with population groups from Central and Eastern Macedonia, Epirus and Thessaly revealed a statistically significant difference in allelic frequencies. Moreover, there was a significant differentiation among the Blachs populations of the Balkans and also between them and the adjacent populations, even though their genetic composition suggests that they are Balkans.

**ΣΠΕΡΜΑΤΙΚΟΣ ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΜΟΣ ΣΤΟ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙ *Helix aspersa*:
ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΠΟΛΛΑΠΛΗΣ ΠΑΤΡΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΗ
ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ: ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ****Γαρεφαλάκη Μ.-Ε.¹, Τριανταφυλλίδης Α.², Αμπατζόπουλος Θ.Ι.², Στάικου Α.¹**¹ Τομέας Ζωολογίας, E-mail: astaikou@bio.auth.gr, mgarefal@bio.auth.gr² Τομέας Γενετικής Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας,E-mail: atriant@bio.auth.gr, abatzop@bio.auth.gr

Τμήμα Βιολογίας Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη

Το είδος *Helix aspersa* ανήκει στα χερσαία πνευμονοφόρα γαστερόποδα και είναι ταυτόχρονα ερμαφρόδιτο και υποχρεωτικά ετερογονιμο-ποιούμενο είδος. Η συμπεριφορά αναπαραγωγής του χαρακτηρίζεται από πολλαπλές συζεύξεις με διαφορετικά άτομα κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου, αποθήκευση του αλλοσπέρματος και γονιμοποίηση των ωαρίων μετά τη σύζευξη. Η συμπεριφορά αυτή επιτρέπει τη δράση του σπερματικού ανταγωνισμού ο οποίος οδηγεί σε πολλαπλή πατρότητα των απογόνων. Στην παρούσα εργασία επιλέχθηκαν ωοαποθέσεις που προέχονται από συζεύξεις με τρεις διαφορετικούς συντρόφους. Για καθεμία από αυτές καταγράφηκαν όλα τα χαρακτηριστικά της αναπαραγωγικής συμπεριφοράς, όπως η διάρκεια, η σειρά σύζευξης και τα χρονικά διαστήματα μεταξύ των διαδοχικών συζεύξεων. Η ταυτοποίηση της πατρότητας έγινε με τη χρήση μικροδορυφορικών δεικτών DNA και, συγκεκριμένα, με τρεις γονιδιακούς τόπους (Ha6, Ha7 και Ha8) που έχουν σχεδιαστεί για το είδος *Helix aspersa*. Η γενοτύπηση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε σε ημιαντόματο αναλυτή Li-COR®, ενώ η ταυτοποίηση της πατρότητας έγινε με τη χρήση του προγράμματος Cervus 3.0. Με βάση τα μέχρι τώρα αποτελέσματα φαίνεται ότι η δράση του σπερματικού ανταγωνισμού αντικατοπτρίζεται στα διαφορετικά ποσοστά πατρότητας του κάθε «δότη» σπέρματος, υποδηλώνοντας τη μη τυχαία γονιμοποίηση των ωαρίων. Στοιχεία της αναπαραγωγικής συμπεριφοράς και/ή της μορφομετρίας του αναπαραγωγικού συστήματος είναι πιθανό να επηρεάζουν την πατρότητα των απογόνων του *Helix aspersa*.

**SPERM COMPETITION IN *Helix aspersa*: MULTIPLE PATERNITY
INFERENCE AND EFFECT OF REPRODUCTIVE BEHAVIOR–PRELIMINARY
RESULTS**

Garefalaki M.-E.¹, Triantafyllidis A.², Abatzopoulos T.I.², Staikou A.¹

¹*Department of Zoology, E-mail: astaikou@bio.auth.gr, mgarefal@bio.auth.gr*

²*Dept of Genetics, Development & Molecular Biology,*

E-mail: atriant@bio.auth.gr, abatzop@bio.auth.gr

School of Biology Aristotle University Thessaloniki, 54124 Thessaloniki

Helix aspersa is a terrestrial pulmonate gastropod. Like other Pulmonata it is a simultaneously hermaphroditic and obligatory outcrossing species. The reproductive behavior of this species includes multiple mating during the reproductive season, allosperm storage, and egg fertilization following the last mating. These characteristics of mating behavior allow for sperm competition to occur leading to offspring's multiple paternity. Ovipositions derived from mating with three different partners have been chosen for the present study. Data of the reproductive behavior including mating duration, mating order and intermating intervals have been recorded. Paternity inference was performed by using microsatellite DNA markers (Ha6, Ha7 και Ha8) that have been designed for this species. Sample genotyping was carried out by a semi-automated DNA Li-COR® analyzer, while assignment of paternity was performed by Cervus 3.0 software package. Based on our results, sperm competition is reflected in the differential paternity precedence among the "sperm donors" indicating that egg fertilization is not a stochastic procedure, while the reproductive behavior and/or the morphometry of the reproductive system may interfere in the determination of paternity in *Helix aspersa*.

**Η ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΠΕΠΤΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΑΣΩΝ ΣΕ ΝΗΣΤΕΙΑ ΚΥΜΑΙΝΟΜΕΝΗΣ
ΔΙΑΡΚΕΙΑΣ ΣΤΗΝ ΤΣΙΠΟΥΡΑ (*Sparus aurata* L.)****Γεωργίου Σ.¹, Ψόχιου Ε.¹, Παναγιωτάκη Π.², Μαμούρης Ζ.¹, Μούτου Κ.¹**¹Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πλούτωνος 26, 41221
Λάρισα, e-mail: sgewrgiou@gmail.com²Τμήμα Γεωπονίας, Ιχθυολογίας & Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας,
Οδός Φυτόκου, 38446 Βόλος

Τα ψάρια εμφανίζουν αντοχή σε στέρηση τροφής για μεγάλες περιόδους και έχουν την ικανότητα να αντισταθμίζουν την αύξησή τους με την επανέναρξη τροφοληψίας. Ο πεπτικός μηχανισμός διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στη δυναμική αύξησης και υπάρχουν ενδείξεις ότι η στέρηση τροφής μπορεί να επηρεάζει σημαντικά τις πεπτικές πρωτεάσες. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι ο προσδιορισμός της επίδρασης νηστείας κυμαινόμενης διάρκειας στην αύξηση αντιστάθμισης και τη δραστηριότητα των πεπτικών πρωτεασών στην τσιπούρα (*Sparus aurata*). Άτομα τσιπούρας μέσου βάρους 110g, διανεμήθηκαν τυχαία σε τέσσερις πειραματικές ομάδες, εις τριπλούν. Η Ομάδα Μ ήταν η ομάδα ελέγχου με συνεχή παροχή εμπορικής τροφής, και οι Ομάδες Α, Β & C, υπέστησαν στέρηση τροφής για μία, δύο και τρεις εβδομάδες αντίστοιχα. Μετά από κάθε περίοδο νηστείας, οι ομάδες επανήλθαν σε κανονική παροχή τροφής ως την ημέρα 56, που ήταν το τέλος του πειράματος. Το πείραμα εκτελέστηκε σε κλειστό κύκλωμα νερού και η μέση θερμοκρασία νερού ήταν 20°C. Οι δραστηριότητες των ολικών όξινων πρωτεασών, ολικών αλκαλικών πρωτεασών, της θρυψίνης και της χυμοθρυψίνης σε διάφορα σημεία κατά μήκος του πεπτικού σωλήνα προσδιορίστηκαν στο τέλος κάθε περιόδου νηστείας και στο τέλος του πειράματος. Επιπλέον, προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις πρωτεϊνών, RNA και DNA στο λευκό μυ. Κατά τη διάρκεια της νηστείας παρατηρήθηκε μείωση του σωματικού βάρους σε όλες τις πειραματικές ομάδες. Μέχρι το τέλος του πειράματος η Ομάδα Α είχε αντισταθμίσει πλήρως την έλλειψη τροφής και το μέσο σωματικό βάρος δε διέφερε στατιστικώς σημαντικά από αυτό της Ομάδας Μ. Αντιθέτως, οι Ομάδες Β και C, που υποβλήθηκαν σε μεγαλύτερες περιόδους νηστείας, είχαν στατιστικώς μικρότερο μέσο βάρος από την Ομάδα Μ. Οι πεπτικές πρωτεάσες που μελετήθηκαν δεν επηρεάστηκαν σημαντικά από τις εναλλαγές στην παροχή τροφής. Ωστόσο, η στέρηση τροφής για τρεις εβδομάδες οδήγησε σε σημαντική μείωση στις συγκεντρώσεις RNA και DNA, καθώς και στις αναλογίες RNA:DNA και Πρωτεΐνης:DNA, ένδειξη αυξημένης καταβολικής δραστηριότητας. Όλες οι παράμετροι του λευκού μυ είχαν ανακάμψει μέχρι το τέλος του πειράματος. Οι μεταβολικές και φυσιολογικές προσαρμογές των ψαριών στη στέρηση τροφής σε σχέση με την αύξηση αντιστάθμισης μπορούν να έχουν σημαντικές οικονομικές προεκτάσεις για την πρακτική εκτροφής.

**THE RESPONSE OF DIGESTIVE PROTEASES IN THE EURYHALINE SPARID
Sparus aurata FOLLOWING DIFFERENT STARVATION AND REFEEDING
PROTOCOLS**

Georgiou S.¹, Psohiou E.¹, Panagiotaki P.², Mamuris Z.¹, Moutou K.¹

¹ Department of Biochemistry & Biotechnology, University of Thessaly, 26 Ploutonos Street, 41221 Larissa, Greece. e-mail: sgewrgiou@gmail.com

² Department of Agriculture, Animal Production and Aquatic Environment, University of Thessaly, Fytokou Street, 38446 Nea Ionia, Volos, Greece.

Fish can tolerate food deprivation for relatively long periods and exhibit compensatory growth upon refeeding. Digestive capacity holds a central role in growth potential and there is evidence that feed restriction may exert significant effects on digestive proteases. The aim of the present study was to determine the effect of different starvation and refeeding protocols on compensatory growth and digestive protease activities in *Sparus aurata*. Gilthead sea bream (110g mean BW) were randomly divided in four experimental groups, in triplicate; Group M was the control group, continuously supplied with food; Groups A, B & C, underwent one, two and three weeks starvation, respectively. Each starvation period was followed by refeeding up to day 56, when the experiment was terminated. Fish were held in a closed circulation system and average water temperature was 20°C. Total acid proteases, total alkaline proteases, trypsin and chymotrypsin activities along the digestive tract were assessed at the end of each starvation period and at the end of the experiment. In addition, RNA & DNA concentrations were estimated in white muscle. A reduction in mean body weight was observed during the starvation period in all groups. By the end of the experiment, group A had fully compensated for the lack of food, while longer fasting periods had as a result significantly lower mean body weight. Digestive proteases studied were not significantly affected by starvation or refeeding. However, food deprivation for three weeks led to significantly lower RNA, DNA contents as well as RNA:DNA and Protein:DNA ratios, indicative of increased catabolic activity. All indices had recovered by the end of the experiment. Fish metabolic adaptation to food deprivation and its relation to catch-up growth may have important economic ramifications for the aquaculture practice.

**ΔΕΣΜΕΥΣΗ ΠΟΥΡΙΝΩΝ ΣΤΟ ΜΟΤΙΒΟ «ΥΠΟΓΡΑΦΗ» ΤΩΝ ΜΕΤΑΦΟΡΕΩΝ
ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΚΩΝ ΒΑΣΕΩΝ –ΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ (NAT/NCS2)****Γεωργοπούλου Α., Μερμελέκας Γ., και Ε. Φριλίγγος***Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων Ιατρική Σχολή, Ιωάννινα 45110*

Το μοτίβο-«υπογραφή» της οικογένειας μεταφορέων νουκλεοτιδικών βάσεων – ασκορβικού (NAT) είναι ένα συντηρημένο μοτίβο αλληλουχίας που έχει υποτεθεί από προηγούμενες μελέτες ότι ενέχεται στην εξειδίκευση επιλογής υποστρώματος (πουρινών). Για να αναλύσουμε τον ρόλο της αλληλουχίας αυτής, χρησιμοποιούμε την τεχνολογία της μεταλλαξιγένεσης κυστεϊνικής σάρωσης (Cys-scanning mutagenesis) στον μεταφορέα YgfO, ειδικό συμμεταφορέα ξανθίνης:H⁺ της *E. coli* K-12. Πειράματα ακυλίωσης από ειδικά SH-αντιδραστήρια (NEM, MTSES) σε μεμβρανικά κυστίδια έδειξαν ότι όλα τα κατάλοιπα του μοτίβου-«υπογραφή» και της γειτονικής περιοχής αλληλουχίας (323-339) είναι προσβάσιμα στο NEM ενώ τόσο η ευαισθησία στην αναστολή ενεργότητας από το NEM όσο και η προσβασιμότητα στο υδρόφιλο, μη διαπερατό στη μεμβράνη, MTSES ακολουθεί ένα χαρακτηριστικό πρότυπο: όλες οι θέσεις της αλληλουχίας 323-329 είναι προσβάσιμες και ευαίσθητες σε αναστολή ενεργότητας, ενώ οι θέσεις της αλληλουχίας 329-339 είναι εναλλασσόμενα προσβάσιμες/ευαίσθητες σε αναστολή ή μη, εμφανίζοντας περιοδικότητα α-έλικας. Ως προς την περιοχή α-έλικας 329-339, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι οι «εκτεθειμένες» θέσεις (I329, T332, G333, S336, V339) περιεγγράφουν εν μέρει την δίοδο μεταφοράς υποστρώματος: η σύνδεση του NEM στις θέσεις αυτές παρεμποδίζει την αλλαγή διαμόρφωσης που επάγει φυσιολογικά η δέσμευση υποστρώματος και διακόπτει την συνέχεια του καταλυτικού κύκλου (turnover). Σημειακή μεταλλαξιγένεση στις θέσεις αυτές δείχνει επίσης ότι επηρεάζεται η αναγνώριση συγκεκριμένων αναλόγων πουρινών, σε πειράματα συναγωνιστικής αναστολής, υποδεικνύοντας ότι η «εκτεθειμένη» πλευρά αυτής της α-έλικας αποτελεί διαμορφωτική συνέχεια του κέντρου δέσμευσης. Ως προς την περιοχή 324-327, που αποτελεί και τον «πυρήνα» των πιο συντηρημένων καταλοίπων της αλληλουχίας του μοτίβου-«υπογραφή», φαίνεται ότι περιλαμβάνει δύο αναντικατάστατα κατάλοιπα αμινοξέων, Q324 και N325, τα οποία συμμετέχουν άμεσα στο κέντρο δέσμευσης ή στην βελτιστοποίηση της αλληλεπίδρασης υποστρώματος-μεταφορέα, καθώς η μεν N325C προστατεύεται από ακυλίωση παρουσία υποστρώματος (ξανθίνης), οι δε αντικαταστάσεις της Q324 (ακόμη και στα συγγενή N ή E) εμφανίζουν αδυναμία δέσμευσης της ξανθίνης ή αναλόγων ξανθίνης με υψηλή συγγένεια.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτείται από το πρόγραμμα Διακρατικών Συνεργασιών μεταξύ Ελλάδος και χωρών εκτός Ευρώπης «NONEU-05» της Ελληνικής Γενικής Γραμματείας Έρευνας και Τεχνολογίας (Γ.Γ.Ε.Τ.)

PURINE BINDING AT THE NUCLEOBASE-ASCORBATE TRANSPORTER SIGNATURE MOTIF

Georgopoulou E., Mermelekas G., and S. Frillingos

Lab. of Biological Chemistry, University of Ioannina Medical School, Ioannina 45110

The nucleobase-ascorbate transporter (NAT) signature motif is a conserved sequence motif of the ubiquitous NAT/NCS2 family, implicated from previous studies in defining purine substrate selectivity. To dissect structure-function relationships in the NAT signature motif, we use Cys-scanning mutagenesis of YgfO, the xanthine permease of *E. coli*, followed by site-directed alkylation and extensive functional analysis of selected mutants. Sulfhydryl alkylation analysis of a series of single-Cys mutants in this region (323-339), using an engineered carboxyl-terminal His₁₀ tag and Ni²⁺-IDA affinity chromatography in right-side out membrane vesicles, reveals that all motif positions are accessible to *N*-ethylmaleimide (NEM), while both sensitivity to inactivation by NEM and accessibility to solvent, as evidenced by site-directed alkylation assay with the hydrophilic, membrane-impermeant MTSES, follow a pattern of consecutively high exposure/sensitivity for residues 323-329 and alpha-helical periodicity for residues 329-339. The solvent-exposed, NEM-sensitive face of helix 329-339 indicates positions lining the purine translocation pathway where the maleimidyl adduct can cause severe blocking effects refracting turnover. Site-directed replacements at this face of residues (T332N, G333R, S336N, V339A) yields targeted alterations of the purine recognition specificity, as shown from competitive inhibition assays. On the other hand, the "core" motif region (324-327) is characterized by more stringent effects of site-directed replacements, including the irreplaceable, invariably conserved in purine NAT transporters, Q324 and N325. Active transport kinetics, competitive inhibition assays and site-directed alkylation in the presence or absence of substrate (xanthine) or analogues (2-thioxanthine) converge to the conclusion that these residues are close or at the periphery of the purine binding site and essential for optimal binding affinity.

This research is funded by the Greek Secretariat for Research and Technology (GSRT), program NONEU-05.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΙΝΤΕΓΚΡΙΝΗΣ ανβ3 ΥΠΟ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΥΝΘΕΤΙΚΩΝ
ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ RGD ΣΕ ΠΡΩΤΟΓΕΝΕΙΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΚΥΤ-
ΤΑΡΩΝ ΜΑΣΤΟΥ****Γεωργούλης Α.¹, Χαβάκη Σ.¹, Δρόσος Γ.², Γούτας Ν.³, Αλεπόρου-Μαρίνου Β.²,
Αρβανίτης Λ.Δ.⁴, Κίττας Χ.¹, Κουλούκουσα Μ.¹, Μαρίνος Ε.¹**¹Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιατρική Σχολή, Εργαστήριο Ιστολογίας και Εμβρυολογίας,²Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας,³Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιατρική Σχολή, Εργαστήριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας,⁴Τμήμα Ανατομίας, Ιστολογίας και Εμβρυολογίας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου
Θεσσαλίας, Λάρισα

Οι ιντεγκρίνες είναι ετεροδιμερείς διαμεμβρανικές πρωτεΐνες της πλασματικής μεμβράνης. Το εξωκυττάριο τμήμα τους συνδέεται με πρωτεΐνες της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας (ΕΘΟ), ενώ το ενδοκυττάριο συνδέεται μέσω πρωτεϊνικών συνδέσμων με τον κυτταροσκελετό της ακτίνης διαδραματίζοντας κεντρικό ρόλο στην κυτταρική προσκόλληση και μετανάστευση. Η αυξημένη έκφραση της ανβ3 έχει συσχετιστεί με κακοήθεια καρκινικών κυττάρων μαστού, καθώς επίσης και με αυξημένη μεταστατικότητα των κυττάρων αυτών στους λεμφαδένες. Οι τελευταίοι είναι πλούσιοι σε βιτρονεκτίνη, πρωτεΐνη της ΕΘΟ, που παίζει ρόλο συνδέτη για την ανβ3 αναγνωρίζοντας το τριπεπτίδιο RGD (-Arg-Gly-Asp-) ως θέση πρόσδεσης. Το επιστημονικό ενδιαφέρον έχει εστιαστεί στην ανβ3, χρησιμοποιώντας ειδικά αντισώματα, καθώς και πεπτίδια που περιέχουν την αλληλουχία RGD με σκοπό την αναστολή της λειτουργίας της, ώστε να αναπτυχθεί ένα πειραματικό μοντέλο μελέτης θεραπευτικών εργαλείων στον καρκίνο. Στη παρούσα εργασία γίνεται μελέτη της επίδρασης του συνθετικού ευθύγραμμου εξαπεπτιδίου GRGDSP σε πρωτογενή καλλιέργεια καρκινικών κυττάρων μαστού και συγκριτικά σε καλλιέργεια καρκινικής σειράς MDA-MB-231 στο ανάστροφο και σαρωτικό μικροσκόπιο. Τα αποτελέσματα, μετά την επώαση 2 hr με το RGD, δείχνουν στις πρωτογενείς καλλιέργειες συρρίκνωση των πιο απομακρυσμένων κυττάρων από το ιστοτεμάχιο, ενώ μετά από 4 hr τα κύτταρα επανακτούν την αρχική τους μορφολογία. Ανάλογη επίδραση των RGD παρατηρήθηκε στη πλειοψηφία των κυττάρων της σειράς MDA-MB-231. Συμπερασματικά, η πρωτογενής καλλιέργεια καρκινικών κυττάρων μαστού αποτελεί αξιόπιστο μοντέλο μελέτης της αναστολής της λειτουργίας της ιντεγκρίνης ανβ3 και κατ' επέκταση του μεταστατικού δυναμικού των καρκινικών κυττάρων μαστού.

**STUDY OF INTEGRIN $\alpha v \beta 3$ UNDER THE EFFECT OF SYNTHETIC RGD
PEPTIDES ON BREAST CANCER PRIMARY CELL CULTURES**

**Georgoulis A.¹, Havaki S.¹, Drosos Y.², Goutas N.³, Aleporou-Marinou V.²,
Arvanitis I.D.⁴, Kittas C.¹, Kouloukousa M.¹, Marinou E.¹**

¹Lab of Histology and Embryology, Medical School, University of Athens, Greece, ²Dept. of Genetics and Biotechnology, School of Biology, University of Athens, Greece, ³Lab of Forensic Medicine and Toxicology, Medical School, University of Athens, Greece, ⁴Dept. of Anatomy and Pathology, Medical School, University of Thessaly, Larissa, Greece

Integrins are heterodimeric transmembrane receptors of cytoplasmic membrane. The extracellular part mediates interaction with the extracellular matrix (ECM) whereas the intracellular is connected via a large multi-protein complex to the actin cytoskeleton and plays important role in cell adhesion and migration. Increased expression of $\alpha v \beta 3$ has been correlated to breast cancer malignancies and increased metastasis to lymph nodes. Integrin $\alpha v \beta 3$ exhibits binding specificities to peptide sequences encoding an RGD (-Arg-Gly-Asp-) structural motif. ECM proteins such as vitronectin, -which is abundant in lymph nodes- possess similar sequences. Recent research has been focused on $\alpha v \beta 3$ employing specific antibodies as well as short RGD-containing peptide sequences, and used to demonstrate therapeutic utility in blocking the function of this receptor in *in vitro* models. In the present work, the effect of the synthetic linear hexapeptide GRGDSP on breast cancer primary cell cultures has been studied comparatively to the effect on breast cancer cell line MDA-MB-231 by means of light and Scanning Electron Microscopy (SEM). The results show that when the primary culture cells are incubated for 2 h with RGD, the more distant to the biopsy cells shrink, abolish their processes and becoming rounded but, after 4 h they recover their original morphology. Similar effect is observed in the MDA-MB-231 cell line but in this case most of the cells in all areas of the monolayer become rounded. In conclusion, primary breast cancer cells cultures can be employed as a reliable model for the study of integrin $\alpha v \beta 3$ activation/inactivation status and consequently of the metastatic potential of breast cancer cells.

**ΕΝΑΣ ΝΕΟΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΣ ΡΥΘΜΙΣΤΗΣ ΤΗΣ *DROSOPHILA*
MELANOGASTER. ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΤΟΥ ΣΕ ΚΥΡΙΑ
ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΑ ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΗΣ ΜΥΓΑΣ**

Γιαννιός Π.¹, Δελιδάκης Χρ.², Γιαννόπουλος Γ.³ και Τσιτήλου Σ.¹

¹Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιοχημείας & Μοριακής Βιολογίας, Πανεπιστημιούπολη
Ζωγράφου 15784, Αθήνα. e mail: pangiannios@biol.uoa.gr, tsitilou@biol.uoa.gr

²IMBB, Ίδρυμα Έρευνας και Τεχνολογίας, Βασιλικά Βουτών 71110, Ηράκλειο
e mail: delidaki@imbb.forth.gr

³ Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, 26500, Ρίο,
Πάτρα e mail: yannop@upatras.gr

Το γονίδιο CG12701 (*Drosophila* genome database) κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη 1596aa, με δομή παρόμοια με εκείνη μεταγραφικών παραγόντων με δακτύλους ψευδαργύρου. Η μετάλλαξη του CG12701 παρουσιάζει θανατογόνο φαινότυπο, ενώ οι αρσενικοί ημιζυγώτες που διαφεύγουν το θάνατο παρουσιάζουν ανωμαλίες σε διάφορες δομές του σώματος της *Drosophila*. Τα μετάγραφα και η πρωτεΐνη του γονιδίου εμφανίζονται σε όλα τα αναπτυξιακά στάδια της μύγας. Πειράματα ανοσοϊστοχημείας μετά από εκτοπική έκφραση και απώλειας λειτουργικότητας του γονιδίου, δείχνουν αλλαγή στα πρότυπα έκφρασης πρωτεϊνικών μορίων όπως τα *wingless* και *engrailed*, με κεντρικό ρόλο σε κύρια σηματοδοτικά μονοπάτια κατά την ανάπτυξη. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν συμμετοχή του γονιδίου CG12701, που εμφανίζει πλειοτροπική δράση, σε περισσότερα του ενός σηματοδοτικά μονοπάτια και πιθανό ρόλο του κατά τις διαδικασίες της κυτταρικής διαίρεσης.

**A NOVEL TRANSCRIPTIONAL FACTOR OF *DROSOPHILA*
MELANOGASTER. IMPLICATIONS FOR INVOLVEMENT IN MAJOR
SIGNALING PATHWAYS DURING DEVELOPMENT OF THE FLY**

Giannios P.¹, Delidakis C.², Yannopoulos G.³, and S.G. Tsililou¹

¹. *University of Athens, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Panepistimiopolis
Zografou, 15784, Athens email: pangiannios@biol.uoa.gr, tsililou@biol.uoa.gr*

². *Institute of Molecular Biology and Biotechnology, Foundation for Research and Technology,
Vassilika Vouton, 71110 Heraklion, email: delidaki@imbb.forth.gr*

³. *Division of Genetics, Cell and Developmental Biology, Department of Biology, University of
Patras, 26500, Rio Patras, email: yannop@upatras.gr*

The gene *CG12701*, (*Drosophila* Genome Database) codes for a protein of 1596aa. The structure of the protein is similar to transcription factors belonging to the Zn finger family. The mutation of *CG12701* exhibits a lethal phenotype. It is a leaky mutation and the male escapers show abnormalities in several structures of the *Drosophila* body. The transcripts and protein of *CG12701* are present in all the developmental stages of the fly. Loss and gain of function studies show disruption of the expression patterns of proteins such as wingless, engrailed and other key molecules of major signaling pathways. We show that the pleiotropic defects of gene *CG12701* are caused by its involvement in more than one signaling pathways. The above results also suggest a possible role in cell division.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΑΓΡΙΑΣ
ΠΕΣΤΡΟΦΑΣ ΤΟΥ Ν. ΦΛΩΡΙΝΑΣ (ΣΥΣΤΗΜΑ ΑΞΙΟΥ) ΚΑΙ ΤΗΣ
ΕΠΙΠΤΩΣΗΣ ΤΩΝ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΩΝ**

**Γιάντσης Ι.¹, Γεωργιάδης Α.¹, Στουμπούδη Μ.², Καλογιάννη Ε.², Κούτσικος
Ν.², Αποστολίδης Α.Π.¹**

¹Εργαστήριο Ιχθυοκομίας & Αλιείας, Τομέας Ζωικής Παραγωγής, Γεωπονική Σχολή,
Α.Π.Θ. E-Mail: apaposto@agro.auth.gr

²Ελληνικό Κέντρο Θαλασσιών Ερευνών, Ινστιτούτο Εσωτερικών Υδάτων, Τ.Θ. 190 13,
Ανάβυσσος. E-Mail: mstoum@ath.hcmr.gr

Σκοπός της εργασίας αυτής ήταν η μελέτη της γενετικής δομής των άγριων πληθυσμών πέστροφας που απαντώνται στους ορεινούς παραπόταμους του π. Αξιού στο Ν. Φλώρινας, καθώς και η διερεύνηση της πιθανής εγκατάστασης και εξάπλωσης στα ποτάμια αυτά ιχθυδίων πέστροφας που προέρχονται από το σύστημα του Αχελώου (από εμπλουτισμούς). Με βάση παλαιότερες μορφολογικές μελέτες, οι πληθυσμοί πέστροφας του συστήματος του Αξιού θεωρείται ότι ανήκουν σε μία διαφορετική ταξινομική μονάδα, το *Salmo pelagonicus* Karaman, 1938. Δείγματα πέστροφας ελήφθησαν από διαφορετικές τοποθεσίες κατά μήκος των παραποτάμων κατά τα έτη 2007-2008. Επιπλέον στις αναλύσεις συμπεριλήφθηκαν και άτομα πέστροφας που συλλέχθηκαν σε παλαιότερες δειγματοληψίες, τόσο από ορισμένα από τα ποτάμια αυτά όσο και από το σύστημα του Αχελώου. Η ανάλυση των δειγμάτων έγινε με τη βοήθεια της PCR-RFLP μεθοδολογίας με την οποία εξετάστηκε ο πολυμορφισμός που εμφανίζουν δύο τμήματα του mtDNA της πέστροφας. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ανάλυσης, σε ορισμένα από τα δείγματα που εξετάστηκαν βρέθηκαν άτομα που προέρχονται από το σύστημα του Αχελώου. Εντούτοις η γενετική διεύθυνση των εισαχθέντων ατόμων στους τοπικούς πληθυσμούς, διέφερε σημαντικά μεταξύ των δειγμάτων. Επιπλέον, τα αποτελέσματα αποκάλυψαν την έντονη γενετική διαφοροποίηση του πληθυσμού από την περιοχή της Δροσοπηγής. Τα αποτελέσματα καταδεικνύουν την ανάγκη άμεσης εφαρμογής κατάλληλων διαχειριστικών μέτρων, έτσι ώστε να εξασφαλιστεί η μακρόχρονη προστασία και διατήρηση των τοπικών πληθυσμών άγριας πέστροφας.

**GENETIC VARIATION AMONG NATIVE TROUT POPULATIONS FROM
FLORINA (AXIOS SYSTEM) AND THE IMPACT OF STOCKING**

**Giantsis I.¹, Georgiades A.¹, Stoumboudi M.², Kalogianni E.², Koutsikos N.²,
Apostolidis A.P.¹**

¹*Lab of Ichthyology & Fisheries, Department of Animal Production, Faculty of Agriculture, Aristotle
University of Thessaloniki.*

²*Hellenic Centre for Marine Research, Institute of Inland Waters,
P.O. Box 712, 19 013 Anavyssos.*

The present study was carried out to characterize the genetic structure of trout populations from the mountainous tributaries of the Axios River in the Prefecture of Florina and to assess the spread of non native strains that originated from Acheloos River, into the gene pools of native trout. Based on earlier morphological studies it is believed that the area is inhabited by a distinct taxon, *Salmo pelagonicus* Karaman, 1938. Samples were taken from different locations along the tributaries during 2007-2008. Moreover, for the purposes of analyses, samples that were taken from previous years from some of these locations, as well as a sample from Acheloos, were used. The samples were analysed using the PCR-RFLP technique performed on two adjacent mitochondrial DNA segments. The results revealed the presence, in some of the tributaries examined, of individuals that most probably originated from the stocking activities (i.e. from the Acheloos River). However, the introgression between native and stocked individuals differed between the various localities. In addition, the results revealed a high genetic differentiation of one population (Drosopigi) in comparison with the rest of the populations. Our research suggests that appropriate management and conservation strategies should be developed urgently in order to protect the sub-specific biodiversity and to ensure the welfare of the local native trout populations.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΜΕ ΣΗΣΑΜΙ ΣΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ
ΟΙΣΤΡΟΓΟΝΙΚΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ERα, ERβ ΣΤΟΝ ΠΡΟΣΤΑΤΗ ΚΑΙ ΤΟ
ΠΑΧΥ ΕΝΤΕΡΟ ΑΡΟΥΡΑΙΩΝ**

Γκιαουρίδου Α., Αναγνώστης Α., Παπαδόπουλος Α.Ι.

*Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών
Επιστημών, Α.Π.Θ.,*

Μελετήθηκε η επίδραση της διατροφής με σησάμι στους οιστρογονικούς υποδοχείς σε ιστούς του προστάτη και του παχέος εντέρου σε αρουραίους Wister. Χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της ανοσοαποτύπωσης (Western-blotting) σε ιστούς από δύο ομάδες πειραματοζώων ηλικίας 8 – 10 εβδομάδων, α) την ομάδα των μαρτύρων (control) και β) την ομάδα των πειραματοζώων στα οποία χορηγήθηκε τροφή εμπλουτισμένη σε σησάμι (treatment). Διαπιστώθηκε πως η χορήγηση σησαμιού σε πειραματοζώα για χρονικό διάστημα 8 εβδομάδων και σε ποσότητα που αντιστοιχεί στο 30% της ποσότητας της τροφής που προσλαμβάνουν, προκαλεί αύξηση της έκφρασης του οιστρογονικού υποδοχέα τύπου ERβ και στους δύο προαναφερθέντες ιστούς. Με προσδιορισμό της πυκνότητας των ζωνών των πρωτεϊνών που αντιστοιχούν στον υποδοχέα ERβ με βάση τη μεθοδολογία Western Blotting, σχεδόν διπλασιάστηκε η επί τοις εκατό αναλογία των πυκνοτήτων (175%) στον προστάτη. Παρόμοια είναι αντίστοιχη εκτίμηση της συγκεκριμένης τιμής στο παχύ έντερο (242%). Όσον αφορά τον οιστρογονικό υποδοχέα τύπου ERα παρατηρήθηκε αύξηση της έκφρασης της ισομορφής των 46 kDa του ERα στους ιστούς του παχέος εντέρου. Τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν ευεργετικό ρόλο της διατροφής με σησάμι, εφόσον παρατηρείται σαφής μείωση του λόγου ERα/ERβ.

**EFFECT OF A RICH IN SESAME DIET UPON THE EXPRESSION OF ER α
AND ER β IN PROSTATE AND COLON OF WISTER RATS**

Giaouridou A., Anagnostis A., Papadopoulos A.I.

*Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Faculty of Sciences,
ARISTOTLE UNIVERSITY OF THESSALONIKH*

In the present work it was studied by means of Western blotting the effect of sesame consumption upon the estrogen receptors in prostate and colon of 8-10 weeks old Wister rats. The experimental animals were divided into two groups: 1. the control group supplied with standard rat chow and 2. the experimental(treated) group supplied with standard rat chow enriched with 30% sesame. It was found that treatment with sesame for a time interval of 8 wks causes increase of expression of ER β in both of the studied tissues. By measuring the density and the area of the zones corresponding to ER β in the Western blotting method by means of software GelPro, it was observed that the certain area was almost duplicated (observed increase by 175%) in prostate. Similar are the results in colon where the observed increase was by 242%. As far as ER α is concerned, an important observation is the fact that the isoform of ER α with molecular weight 46kd was increased in both tissues. Our results indicate a rather beneficial role of sesame consumption since it decreases the ratio of ER α /ER β .

**Ο ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΤΟΥ COOMASSIE BRILLIANT BLUE G-250
ΣΤΙΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ: ΜΙΑ ΥΔΡΟΦΟΒΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ
ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΕ ΕΠΙΠΕΔΟ ng****Γκρίντζαλης Κ.¹, Ζερβουδάκης Γ², Παπαποστόλου Ι.¹, Γεωργίου Χ.Δ.¹**

¹Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Γενετικής Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Πανεπιστήμιο Πατρών, Ελλάδα E-mail: kgkrintzalis@upatras.gr, papapost@upatras.gr, c.georgiou@upatras.gr

²Τμήμα Θερμοκηπιακών Καλλιεργειών & Ανθοκομίας, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Μεσολογγίου, Μεσολόγγι, Ελλάδα, E-mail: gzeru@upatras.gr

Διερευνήσαμε τον μηχανισμό σύνδεσης της χρωστικής Commassie Brilliant Blue G-250 (CBB G-250) με τις πρωτεΐνες. Σκοπός ήταν η ανάπτυξη μιας μεθόδου ποσοτικοποίησης των πρωτεϊνών με τη μέγιστη δυνατή ευαισθησία με βάση αυτή τη χρωστική, που ήδη χρησιμοποιείται από σύγχρονες σχετικές μεθόδους. Βρήκαμε ότι η κύρια ιοντική μορφή του CBB G-250 που συνδέεται με τις πρωτεΐνες είναι η ουδέτερη και όχι μόνο η ανιοντική (που πιστευόταν πριν), κι αυτό επιτυγχάνεται με ένα συνδυασμό υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων και ετεροπολικών δεσμών με βασικά αμινοξέα. Επί τη βάση αυτών των ευρημάτων αναπτύξαμε μια πολύ ευαίσθητη μέθοδο ποσοτικοποίησης των πρωτεϊνών (στο ng επίπεδο), χρησιμοποιώντας τα υδρόφοβα αντιδραστήρια θεικό αμμώνιο και τριχλωροακετικό οξύ σε συνθήκες pH που αυξάνουν την συγκέντρωση της ουδέτερης ιοντικής μορφής του CBB G-250 στο αντιδραστήριο της μεθόδου, έτσι ώστε να ενισχυθεί η σύνδεση περισσότερων μορίων CBB G-250 ανά μόριο πρωτεΐνης σε σύγκριση με τα ήδη χρησιμοποιούμενα αντιδραστήρια σε άλλες σχετικές μεθόδους.

**COOMASSIE BRILLIANT BLUE G-250 PROTEIN BINDING MECHANISM: A
HYDROPHOBIC ASSAY FOR PROTEINS IN ng QUANTITIES**

Grintzalis K.¹, Zervoudakis G.², Papapostolou I.¹, Georgiou C.D.¹

¹*Department of Biology, Section of Genetics, Cell Biology and Development, University of Patras,
Greece, Emails: kgkrintzalis@upatras.gr, papapost@upatras.gr, c.georgiou@upatras.gr*

²*Department of Greenhouse Crops and Floriculture, Technological Institute of Mesologgi, Mesologgi,
Greece, Email: gzerov@upatras.gr*

We investigated the mechanism of Coomassie Brilliant Blue G-250 (CBB G-250) binding to proteins in order to develop a protein assay with the maximum possible sensitivity. We found that the neutral ionic species of CBB G-250 binds to proteins by a combination of hydrophobic interactions and heteropolar bonding with basic amino acids. Based on these findings, we developed a very sensitive hydrophobic assay for proteins (at the ng level) because it uses the hydrophobic reagents ammonium sulfate (AS) and trichloroacetic acid (TCA) under pH conditions that increase neutral species concentration in the assay reagent in order to enhance the binding of more CBB dye molecules per protein molecule than in previous CBB-based assays.

**ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΟΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ ΣΤΟ ΕΘΝΙΚΟ ΠΑΡΚΟ Β ΠΙΝΔΟΥ: Η
ΣΚΑΛΑ ΤΟΥ ΒΡΑΔΕΤΟΥ****Γούλα Κ., Χανλίδου Έ.**

*Εργαστήριο Συστηματικής Βοτανικής και Φυτογεωγραφίας, Τμήμα Βιολογίας,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54124 Θεσσαλονίκη, E-mail: chanlidu@bio.auth.gr*

Η παρούσα εργασία αποτελεί μέρος μιας ευρύτερης προσπάθειας για την καταγραφή και ανάδειξη της βιοποικιλότητας στο Εθνικό Πάρκο Βόρειας Πίνδου, με στόχο την προστασία της. Αντικείμενο της εργασίας είναι η χλωρίδα ενός μονοπατιού, της λιθόκτιστης Σκάλας του Βραδέτου, το οποίο βρίσκεται στον ορεινό όγκο της Τύμφης, εντός ορίων του Εθνικού Πάρκου Β Πίνδου και του Τόπου Κοινοτικής Σημασίας «Κεντρικό Τμήμα Ζαγορίου» (GR2130004) του δικτύου NATURA 2000. Στη Σκάλα του Βραδέτου καταγράφηκαν και χαρτογραφήθηκαν 273 taxa, από τα οποία 55 αναφέρονται για πρώτη φορά στην ευρύτερη περιοχή του όρους Τύμφη. Από τη χωρολογική ανάλυση που πραγματοποιήθηκε στο σύνολο των taxa που βρέθηκαν στην Σκάλα του Βραδέτου προέκυψε ότι επικρατέστερα είναι τα taxa μεσογειακής (39%) και ευρασιατικής (32%) προέλευσης. Τα βαλκανικά ενδημικά συμμετέχουν με ποσοστό 14%. Ανάμεσά τους βρίσκονται ορισμένα με πολύ περιορισμένη εξάπλωση στη Βαλκανική χερσόνησο. Τα ελληνικά ενδημικά που βρέθηκαν στη Σκάλα είναι 4 (1%), δύο από τα οποία αποτελούν νέες αναφορές για το όρος Τύμφη. Συνολικά εντοπίστηκαν 47 taxa (17% του συνόλου) που προστατεύονται από τη νομοθεσία σε εθνικό, ευρωπαϊκό ή παγκόσμιο επίπεδο ή περιλαμβάνονται σε διεθνείς καταλόγους προστατευόμενων ειδών, δηλαδή περιλαμβάνονται: i) στο Παράρτημα I της Σύμβασης της Βέρνης (1 taxon, το *Ophrys cornuta* Steven), ii) στο Προεδρικό Διάταγμα 67/1981 (14 taxa), iii) στα Παραρτήματα της Συνθήκης CITES (6 taxa), iv) στον κόκκινο κατάλογο απειλούμενων ειδών της IUCN (7 taxa), και v) στον παγκόσμιο κατάλογο φυτικών ειδών που χρήζουν προστασίας του UNEP-WCMC (32 taxa)

**ASSESSMENT OF BIODIVERSITY IN NATIONAL PARK OF N PINDOS:
SKALA OF VRADETO**

Goula K., Hanlidou E.

*Laboratory of Systematic Botany and Phytogeography, School of Biology, Aristotle University, 54214
Thessaloniki, E-mail: chanlidu@bio.auth.gr*

The present study is part of a research that deals with the conservation of biodiversity in the National Park of Northern Pindos. An assessment of the plant diversity is carried out in a path, the stone built stairway called Skala of Vradeto, situated on Mt Timfi, within the National Park of N Pindos and the site of the NATURA 2000 network GR2130004. A total number of 273 plant taxa were found and mapped. Among them 55 taxa represent new records for the flora of Mt Timfi. A chorological analysis of these taxa shows that the Mediterranean (39%) and Eurasiatic (32%) elements are dominant. The percentage of the Balkan endemics is 14%. Among them are included taxa with very limited distribution in the Balkan Peninsula. The Greek endemics found in the Skala are 4 (1%) and two of them represent new records to the flora of Mt Timfi. A total number of 47 taxa (17%) found in the area are of conservation interest, i.e. they are included in: i) Annex I of the Bern Convention (1 taxon: *Ophrys cornuta* Steven), ii) Presidential Decree of the Hellenic Republic 67/1981 (14 taxa), iii) CITES Appendices (6 taxa), iv) IUCN list of threatened plants (7 taxa), and v) UNEP-WCMC species database (32 taxa).

**ΧΩΡΙΚΗ ΜΕΤΑΒΛΗΤΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΦΑΙΟΦΥΚΟΥΣ *CYSTOSEIRA*
CRINITOPHYLLA ΣΕ ΔΙΑΒΑΘΜΙΣΗ ΥΔΡΟΔΥΝΑΜΙΣΜΟΥ ΚΑΙ
ΑΝΘΡΩΠΟΓΕΝΟΥΣ ΠΙΕΣΗΣ****Γούναρης Σ., Ορφανίδης Σ.¹**

¹Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας (ΕΘΙΑΓΕ), Ινστιτούτο Αλιευτικής Έρευνας (ΙΝΑΛΕ),
64007 Νέα Πέραμος, Καβάλα Email: sorfanid@inale.gr

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η χωρική μεταβλητότητα μορφολογικών (μήκος και περιφέρεια αξόνων και θαλλών), δομικών (πυκνότητα αξόνων και θαλλών) και λειτουργικών (ξηρό και νωπό βάρος θαλλών) χαρακτηριστικών δύο λιβαδιών του φαιοφύκου *Cystoseira crinitophylla* Ercogonici που αναπτύσσονται στις βραχώδεις ακτές του Κόλπου Καβάλας (Ορμοί Ελευθερών - Παληού, ακτές Εγνατίας οδού). Πρόκειται για ένα από τα σημαντικότερα από οικολογικής άποψης μακροφύκη της περιοχής. Στόχος ήταν η κατανόηση των επιπτώσεων του υδροδυναμισμού και της ανθρωπογενούς πίεσης στο πρότυπο ανάπτυξης τους είδους. Ακολουθήθηκε η μέθοδος της τυχαίας ιεραρχικής δειγματοληψίας σε τρεις χωρικές κλίμακες: λιβάδι (10's Km), σταθμός (km), περιοχή (100's m). Στατιστικά σημαντική διακύμανση ($p < 0,05$) του μήκους των θαλλών και των αξόνων μετρήθηκε στην κλίμακα της περιοχής και δείχνει ότι οι παράμετροι αυτοί επηρεάζονται από τοπικής κλίμακας οικολογικές διαδικασίες, όπως είναι ο διαειδικός ανταγωνισμός, ο επανεποικισμός μετά από διαταραχή και η ετερογένεια του υποστρώματος. Στατιστικά σημαντική διακύμανση του ξηρού και νωπού βάρους των θαλλών μετρήθηκε στην κλίμακα του σταθμού. Ο συνδυασμός υπήνεμου περιβάλλοντος με μέτρια λίπανση από ανθρωπογενείς πηγές ρύπανσης φαίνεται να ευνοεί τη θρέψη τους. Στατιστικά σημαντική διακύμανση της πυκνότητας των θαλλών μετρήθηκε στην κλίμακα του σταθμού. Φαίνεται ότι υπάρχει μεγαλύτερη πυκνότητα λιβαδιού με μικρότερα άτομα σε εκτεθειμένους σταθμούς, ίσως για λόγους καλύτερης προστασίας. Αντίθετα, σε προστατευμένους σταθμούς αναπτύσσονται λιγότεροι αλλά μεγαλύτεροι θαλλοί για να μην υπάρχει αυτοσκίαση (self-shading).

**SPATIAL VARIABILITY OF BROWN ALGA *CYTOSEIRA CRINITOPHYLLA*
ACROSS A HYDRODYNAMIC AND ANTHROPOGENIC STRESS GRADIENT**

Gounaris S., Orfanidis S.¹

¹National Agricultural Research Foundation (N.AG.RE.F.), Fisheries Research Institute (F.R.I.), 640
07 Nea Peramos, Kavala

In the present work the spatial variability of morphological (axis and thallus length and circumference), structural (axis and thallus density) and functional (dry and wet thallus weight) characteristics of the brown alga *Cystoseira crinitophylla* Ercegovic was studied in two meadows in the rocky coasts of Kavala Gulf, North Aegean, Greece (Eleftheron and Palio bays, coasts of Egnatia road). *C. crinitophylla* is one of the most important algae of the area, from an ecological point of view. The objective was the understanding the effect of hydrodynamic and anthropogenic stress gradient in the growth model for the species. The method of random hierarchical sampling was followed in three spatial scales: meadow (10's Km), site (Km), area (100's m). Statistically important fluctuation ($p < 0.05$) was found for thallus and axis length, in the scale of area, showing that these parameters are being influent by local ecological processes, such as inter species competition, resettlement after a disturbance and substrate heterogeneity. Statistically important fluctuation of dry and wet thallus weight was indicated in the scale of site. The combination of lee environment with moderate anthropogenic pollution (mainly from fertilizers) seems to favour growth. Statistically important fluctuation of thallus density was found in the scale of site. It seems that in exposed sites the species is met in higher densities and smaller size in order to withstand the high hydrodynamism. On the contrary, in well-protected sites, less but bigger thallus can be found in order to avoid self shading.

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΦΥΛΟΥ ΜΕ ΔΙΑΧΩΡΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕΤΡΙΚΩΝ ΚΡΑΝΙΑΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΤΗΣ «ATHENS COLLECTION»**Γουρνά Ε., Μπαλανίκα Α., Τρυφωνίδη Ι., Πάφος Κ., Γεννηματά Β.¹, & Σ.Κ. Μανώλης**

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 15784 Αθήνα E-mail: smanol@biol.uoa.gr
¹Ιατρικό Τμήμα, Σχολή Επιστημών Υγείας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Μικράς Ασίας 76 Γουδί, Αθήνα*

Παραδοσιακά, για τον προσδιορισμό του φύλου από τα σκελετικά υπολείμματα χρησιμοποιούνται μη-μετρικά και μετρικά δεδομένα που ακολουθούνται από μονο- και πολυμεταβλητές στατιστικές αναλύσεις. Μεγάλο τμήμα της ανθρωπολογικής βιβλιογραφίας, αναφέρει ότι το φύλο ενός σκελετού είναι δυνατό να καθοριστεί από διαφορετικά σκελετικά στοιχεία. Η ακρίβεια του προσδιορισμού του φύλου ποικίλλει αρκετά μεταξύ των διαφορετικών οστών καθώς επίσης και μεταξύ πληθυσμών. Για τον προσδιορισμό του φύλου από το κρανίο, οι Giles & Elliot χρησιμοποίησαν κρανιακές μετρήσεις σημειώνοντας «επιλέχθηκαν από την άποψη της ευκολίας λήψης και το πιθανό δυναμικό στο φυλετικό διαχωρισμό (1963, σελ. 56). Αυτές οι παραδοσιακές μετρήσεις έχουν χρησιμοποιηθεί σε μία σειρά διαχωριστικών συναρτήσεων που παρέχουν μια αναμενόμενη ακρίβεια της τάξης του 82–89%. Η παρούσα μελέτη αξιολογεί το φυλετικό διμορφισμό στις διαμέτρους των σύγχρονων ελληνικών κρανίων. Τα βιομετρικά δεδομένα λήφθηκαν από 203 κρανία (111 αρσενικά και 92 θηλυκά) γνωστού φύλου και ηλικίας θανάτου της Σύγχρονης Σκελετικής Συλλογής Αναφοράς, του Τομέα Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου (ΕΚΠΑ). Συνολικά αναλύθηκαν 11 κρανιακές μεταβλητές με Διαχωριστική Ανάλυση του στατιστικού πακέτου SPSS-12. Χρησιμοποιώντας 11 κρανιακές μετρήσεις και σταδιακές διαχωριστικές μεθόδους (stepwise) επιλέχθηκαν δύο μεταβλητές (διαζυγματικό πλάτος, ύψος κρανίου), αλλά η σωστή ταξινόμηση είναι σχετικά χαμηλή, μόνο 74.9%. Στη δεύτερη ανάλυση που χρησιμοποιήθηκαν όλες οι κρανιακές μεταβλητές τα αποτελέσματα ταξινόμησης είναι καλύτερα (σχεδόν 81,0%). Γενικά, φαίνεται ότι τα πλάτη απεικονίζουν καλύτερα τις διαφορές μεταξύ αρρένων και θηλέων. Η ακρίβεια της σωστής ταξινόμησης του δείγματος ήταν ελαφρώς χαμηλότερη από εκείνες άλλων πληθυσμών. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης επίσης προτείνουν ότι ο φυλετικός διμορφισμός στα ελληνικά κρανία έχει μειωθεί μια παρατήρηση που είχε διερευνηθεί και παρουσιαστεί στο προηγούμενο συνέδριο.

**SEX DETERMINATION BY DISCRIMINANT ANALYSIS OF BIO-
METRIC CRANIAL DATA FROM THE «ATHENS COLLECTION»**

Gourna E.¹, Balanika A.¹, Tryfonidi J., Pafos K., Gennimata V.², & S.K. Manolis¹

¹Dept of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis 15784 Athens, Greece, Email: smanol@biol.uoa.gr

²Medical School, National & Kapodistrian University of Athens, Mikras Asias 76, Goudi, Athens, Greece

Traditionally, sex determination from human skeletal remains has been made using non-metrical and metrical data, followed by uni- and multivariate statistical analyses. The large amount of physical and forensic anthropological literature available, demonstrates that it is possible to determine sex of a human skeleton from a number of different skeletal elements. The accuracy of those sex determinations varies considerably between different osteological elements, and also between different human populations. For sex determination of sex from the human skull, Giles & Elliot used linear cranial measurements that “were chosen from the point of view of their ease in taking and potential sex discrimination power” (1963, p. 56). Those measurements have been used in a series of discriminant functions providing an expected accuracy of sex determination of 82–89%. The present study evaluates sexual dimorphism in modern Greek cranial dimensions. The craniometric data were obtained from 203 skeletons (111 males and 92 females) of known sex and age at death from the Modern Human Skeletal Reference Collection (Athens Collection), housed at the Dept of Animal & Human Physiology (National & Kapodistrian University of Athens). A total of 11 cranial variables were subjected to SPSS-12 discriminant function analysis. Using 11 cranial measurements, two variables (bizygomatic breadth, basion-bregma height) were selected by stepwise discriminant methods, but the correct classification is relatively low, only 74.9%. In the second analysis using all cranial variables the classification results are better (almost 81.0%). Generally, it seems that breadths are better reflected differences between sexes. The accuracy of correct classification from the sample was slightly lower than those of other populations. The results of this study also suggested that sexual dimorphism in Greek crania have decreased.

**ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΕΔΑΦΙΚΩΝ ΑΣΠΟΝΔΥΛΩΝ
ΚΑΤΑ ΜΗΚΟΣ ΜΙΑΣ ΥΨΟΜΕΤΡΙΚΗΣ ΔΙΑΒΑΘΜΙΣΗΣ ΤΟΥ ΕΘΝΙΚΟΥ
ΔΡΥΜΟΥ ΠΑΡΝΗΘΑΣ (ΑΤΤΙΚΗ)****Γραμμένου Μ., Ραδέα Κ., Αριανούτσου Μ.**

Τομέας Οικολογίας και Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη 157 84 Αθήνα E-mail: marianou@biol.uoa.gr

Τα εδαφικά ασπόνδυλα διαδραματίζουν ζωτικής σημασίας ρόλο στα χειρσαία οικοσυστήματα, τόσο διαμέσου της συμμετοχής τους στην αποικοδόμηση του νεκρού οργανικού υλικού, και κατ' επέκταση στη διαδικασία ανακύκλωσης θρεπτικών, όσο και διαμέσου της βελτίωσης των συνθηκών του μικροπεριβάλλοντος του εδάφους λόγω της κινητικής τους δραστηριότητας. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση της κινητικής δραστηριότητας των ασπονδύλων στην επιφάνεια του οργανικού ορίζοντα κατά τη διάρκεια της υγρής περιόδου του έτους, σε τρία οικοσυστήματα που αποτελούν μια υψομετρική διαβάθμιση στο όρος Πάρνηθα του ομώνυμου Εθνικού Δρυμού. Για τη συγκεκριμένη μελέτη επιλέχθηκε ένα δάσος *Abies cephalonica* (υψόμετρο 1220-1240m), ένα μικτό δάσος που αποτελείται τόσο από *Abies cephalonica* όσο και από *Pinus halepensis* (οικότονος, υψόμετρο 1025m) και ένα δάσος *Pinus halepensis* (υψόμετρο 620-640m). Οι δειγματοληψίες διήρκεσαν 6 μήνες, από τον Νοέμβριο 2006 έως τον Ιούνιο 2007. Για τον προσδιορισμό της κινητικότητας των εδαφικών ασπονδύλων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των παγίδων εδάφους (pitfall traps), η οποία χρησιμοποιείται ευρύτατα για το σκοπό αυτό. Η ημιποσοτική αυτή μέθοδος συλλογής προσφέρει το πλεονέκτημα ότι εκτός της κινητικότητας προσδιορίζεται και ως ένα βαθμό η αφθονία των διαφόρων taxa. Μεγαλύτερη αφθονία σε taxa ασπονδύλων παρουσιάζει ο οικότονος με 39 taxa ενώ ακολουθεί το δάσος *Pinus halepensis* με 36 taxa και τέλος το δάσος *Abies cephalonica* με 33 taxa. Στο δάσος *Abies cephalonica* έντονη κινητική δραστηριότητα παρουσιάζουν τα Κολεόπτερα, τα Ημίπτερα, τα Υμενόπτερα και τέλος τα Δίπτερα. Στον οικότονο έντονη κινητικότητα παρουσιάζουν εκτός από τα Δίπτερα, τα Ημίπτερα, τα Υμενόπτερα και οι Αράχνες, ενώ στο δάσος *Pinus halepensis* κυριαρχούν τα Θυσανόπτερα, τα Δίπτερα, τα Υμενόπτερα και τα Φαλάγγια. Μέγιστη κινητική δραστηριότητα παρατηρείται για τα περισσότερα taxa στην περίοδο Μαΐου-Ιουνίου τόσο στον οικότονο όσο και στο δάσος *Abies cephalonica* ενώ στο δάσος *Pinus halepensis* μέγιστη κινητικότητα παρατηρείται τους χειμερινούς μήνες. Έγινε διερεύνηση των περιβαλλοντικών παραμέτρων, οι οποίες επηρεάζουν πιθανόν την αφθονία και την κινητική δραστηριότητα των μακρο-αρθρο-πόδων του εδάφους στους τρεις τύπους οικοσυστημάτων με το πρόγραμμα CANOCO και διαπιστώθηκε ότι οι σημαντικότερες είναι η εποχή, ο αριθμός και η κάλυψη των ποωδών ειδών.

LOCOMOTORY ACTIVITY OF SOIL INVERTEBRATES ON AN ALTITUDINAL GRADIENT OF PARNITHA NATIONAL PARK (ATTICA)

Grammenou M., Radea C., Arianoutsou M.

¹*Department of Ecology & Systematics, Faculty of Biology, School of Sciences, University of Athens
Panepistimiopolis 157 84 Athens. E-mail: marianou@biol.uoa.gr*

Soil invertebrate fauna plays a vital role in terrestrial ecosystems, not only through its participation in the decomposition process of dead organic matter, and thus the recycling of nutrients, but also through the amelioration of the microenvironmental conditions of soil by means of their locomotory activity. The aim of this study was the investigation of the locomotory activity of invertebrates on the soil surface during the wet season of the year, in three ecosystems which comprise an altitudinal gradient of Mount Parnitha. For the specific study the following types of forests were selected: an *Abies cephalonica* forest (altitude 1220m-1240m), a mixed forest consisting of *Abies cephalonica* and *Pinus halepensis* (ecotone, altitude 1025m) and a *Pinus halepensis* forest (altitude 620m-640m). The sampling campaign started in November 2006 and continued until June 2007, for a total duration of six months. In order to quantify the locomotory activity of soil invertebrate fauna, the widely used method of "pitfall traps" was applied. This semi-quantitative collection method has the advantage of measuring both the locomotory activity as well as the relative abundance of the various taxa. The greatest abundance in invertebrate taxa was found in ecotone, (39 taxa), followed by the *Pinus halepensis* forest and *Abies cephalonica* forest (36 and 33 taxa respectively). In the *Abies cephalonica* forest intense locomotory activity was carried out by Coleoptera, Hemiptera, Hymenoptera and Diptera. In the ecotone, intense locomotory activity was displayed by Diptera, Hemiptera, Hymenoptera but also Araneae. Finally, in the *Pinus halepensis* forest, the dominant taxa were Thysanoptera, Diptera, Hymenoptera and Phalangida. Maximal locomotory activity was observed for the majority of taxa during the period of May-June both in ecotone and the *Abies cephalonica* forest, whereas in the *Pinus halepensis* forest during the winter months. Finally, the environmental variables which influence the abundance and locomotory activity of macroarthropods of the soil in the three ecosystem types were introduced to the CANOCO multivariate analysis software and the conclusive results suggested that the most influential variables were season of the year, number and cover of herbaceous species growing in the areas studied.

**ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΑΡΧΕΓΟΝΩΝ ΠΟΛΥΔΥΝΑΜΩΝ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ
ΚΥΤΤΑΡΩΝ (HSC) ΑΠΟ ΟΜΦΑΛΟΠΛΑΚΟΥΝΤΙΑΚΟ ΑΙΜΑ (ΟΠΑ)**

**Γρίβας Δ., Κούβαρη Ε., Καραλή Κ., Τριμανδήλη Μ., Δινέρη Θ., Θειακός Α.,
Ταμπάκη Ε., Μιχαλόπουλος Ε., Ντάκου-Ζαμπάρα Κ., Χατζησταματίου
Θ., Παπασάββας Α., Σταυροπούλου-Γκικόκα Α.**

*Ελληνική Τράπεζα Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών,
Ακαδημία Αθηνών, Σωρανού Εφεσίου 4, 11527, Αθήνα, Ελλάδα*

Η Ελληνική Τράπεζα Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος λειτουργεί από το 2004, στο διάστημα αυτό έχουν επεξεργαστεί και καταψυχθεί περισσότερες από 500 μονάδες ΟΠΑ. Ο σκοπός της επεξεργασίας είναι η απομόνωση των αρχέγονων αιμοποιητικών στελεχειαίων κυττάρων (Hematopoietic Stem Cells, HSC) με δείκτες επιφανείας CD34⁺ και CD133⁺, τα οποία χρησιμοποιούνται για αλλογενή και αυτόλογη μεταμόσχευση σε ασθενείς που πάσχουν από κακοήθειες του αίματος και αιμοσφαιρινοπάθειες. Η διαδικασία ξεκινάει με τη συλλογή του ΟΠΑ μετά τον τοκετό. Προκειμένου μία μονάδα να επεξεργαστεί πρέπει να πληρεί αυστηρά κριτήρια όπως αυτά περιγράφονται από το Προεδρικό Διάταγμα 26ΦΕΚ51 και τα διεθνή standard Fact-NetCord. Βασική αρχή της απομόνωσης είναι η συλλογή του κλάσματος των εμπύρηνων κυττάρων (TNC) στο οποίο εντοπίζονται τα HSC. Η επεξεργασία γίνεται με τη χειροκίνητη μέθοδο Rubinstein και με τη χρήση του αυτόματου διαχωριστή κυττάρων (SEPAX). Και με τις δύο μεθόδους επεξεργασίας το αίμα διαχωρίζεται σε τρία κλάσμα (πλάσμα, ερυθρά αιμοσφαίρια και HSC). Το κλάσμα των HSC, που συλλέγεται στο Baffy Coat (BC), ύστερα από την προσθήκη κρυσταλλοπροστατικού (DMSO) με κλασματική κατάψυξη, αποθηκεύεται στους -140°C. Για κάθε μονάδα ΟΠΑ γίνεται προσδιορισμός των Ag ιστοσυμβατότητας (HLA) της μητέρας και του νεογνού. Τα στοιχεία των μονάδων που κρίνονται κατάλληλα για αλλογενή χρήση δίνονται στη διεθνή βάση δεδομένων για το ΟΠΑ (NetCord). Παράλληλα ο ακριβής αριθμός των HSC προσδιορίζεται με κυτταρομετρία ροής (FACS). Από το σύνολο των μονάδων που επεξεργάστηκαν από την αρχή της λειτουργίας της τράπεζας προκύπτει: 2,25 TNC/ml BC, 0,16 CD34⁺/ml BC, 0,13 CD133⁺/ml BC, 0,13 HSC/TNC και μέση τιμή ανάκτησης ίση με 75,5%. Στους άμεσους στόχους της τράπεζας είναι η αύξηση του αριθμού των μονάδων που καταψύχονται και η παράλληλη ανάπτυξη τράπεζας μεσεγχυματικών στελεχειαίων κυττάρων (mesenchymal stem cell, MSC) από τον ομφάλιο λώρο.

**ISOLATION OF HEMATOPOIETIC STEM CELLS (HSCs) FROM
UMBILICAL CORD BLOOD (UCBs)**

**Grivas D., Kouvari E., Karali K., Trimandili M., Dineri T., Thiakos A., Tampaki E.,
Michalopoulos E., Ntakou-Zamplara K. Z., Chatzistamatiou T., Papassavas A.,
Stavropoulos-Giokas C**

*Hellenic Cord Blood Bank, Institute for Biomedical research of the Academy of Athens, Soranou
Efesiou 4, 11527, Athens, Greece*

Hellenic Cord Blood Bank was established in 2004 and in this interval has processed and cryopreserved more than 500 cord blood Units (CBUs). The aim of the process is the isolation of the HSCs using hematopoietic surface markers specific for CD34⁺ and CD133⁺ for the future allogeneic or autologous use to patients suffering from cancers of the blood such as leukemia and lymphoma or hereditary blood disorders. Fresh umbilical cord blood was collected immediately after birth. All the units were processed under strict criteria as these are described by the Presidential Decree 26FEK51 and international standards Fact-NetCord. The governing idea of the protocol is the depletion of red cells and plasma and the collection of total nucleated cells (TNCs) using the Rubinstein manual method and the Sepax automated method. In both methods the blood was separated in three fractions (plasma, red cells-RBS, and HSC). The fraction of HSC -collected in the Baffy Coat (BC)- adding DMSO was eventually cryopreserved to -140°C. Each unit of UCB was determined for the Ag histocompatibility complex (HLA) of the mother and the neonate. Approved units for allogeneic use were recorded to the National data base for the UCB (Net-Cord). The exact number of the HSC was determined with flow cytometry. Results: All processed human cord blood units were shown to have an average number of: 2,25 TNC.ml⁻¹BC, 0,16 CD34⁺.ml⁻¹BC, 0,13 CD133⁺.ml⁻¹BC and an average recovery of up to 75,5%. Future objectives of the bank will be an increase of the number of the units that will be cryopreserved and the establishment of the mesenchymal stem cell (MSC) bank isolated from umbilical cord.

ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΛΕΙΜΩΝΩΝ ΤΟΥ ΘΑΛΑΣΣΙΟΥ ΦΑΝΕΡΟΓΑΜΟΥ *POSIDONIA OCEANICA* (L.) DELILE ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΩΝ ΠΑΞΩΝ (ΙΟΝΙΟ ΠΕΛΑΓΟΣ)**Δακουράς Χ.¹, Τσιρίκα Α.², Σκούφας Γ.¹**¹Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης, Τμήμα Τεχνολογίας Αλιείας
και Υδατοκαλλιεργειών, Ν. Μιλτιάδη 1, Νέα Μουδανιά 63200, Ελλάδα,E-mail: skoufas@aquateithe.gr²Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Γεωπονική Σχολή, Εργαστήριο Εφαρμοσμένης
Εδαφολογίας, Θεσσαλονίκη 54124, Ελλάδα, E-mail: atsirika@agro.auth.gr

Οι θαλάσσιοι λειμώνες του ενδημικού είδους *Posidonia oceanica* (L.) Delile χαρακτηρίζονται ως οικοσυστήματα 'κλειδιά' για τη λεκάνη της Μεσογείου. Η μεγάλη φυλλική επιφάνεια σε συνδυασμό με την ανάπτυξη πλαγιότροπων και ορθότροπων ριζωμάτων, δημιουργεί ποικίλα ενδιατήματα για πολλά φύκη, ασπόνδυλα και σπονδυλωτά. Ελάχιστες είναι οι πληροφορίες που αφορούν στους λειμώνες *P. oceanica* από τις Ελληνικές ακτές και ειδικότερα από το Ιόνιο Πέλαγος. Κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης, έγινε μια εκτίμηση της κατάστασης των λειμώνων *P. oceanica* σε έξι σταθμούς της περιοχής των Παξών. Η επιλογή των υπό μελέτη σταθμών βασίστηκε σε κριτήρια όπως είναι οι συνθήκες υδροδυναμισμού, το υπόστρωμα, η ρύπανση, η καταστροφή των βιοτόπων, κ.ά. Η συλλογή των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με αυτόνομη κατάδυση, σε βάθη 5m - 8m, τον Αύγουστο του 2007. Η πυκνότητα του λειμώνα μετρήθηκε στο πεδίο και συλλέχθηκαν φυτά για την εξέταση ή/και τον υπολογισμό: του αριθμού των φύλλων ανά δεσμίδα, του αριθμού και των διαστάσεων των ενηλίκων, ενδιάμεσων και νεαρών φύλλων, της φυλλικής επιφάνειας και του Δείκτη Φυλλικής Επιφάνειας (Leaf Area Index, m²/m²). Λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας, οι περιβαλλοντικές παράμετροι όπως ο υδροδυναμισμός, η παρουσία/απουσία του κατάλληλου υποστρώματος, καθώς και οι ανθρωπογενείς πιέσεις όπως η ρύπανση, οι τουριστικές δραστηριότητες και η αγκυροβολία παίζουν καθοριστικό ρόλο στην πυκνότητα, τη δομή και την κατάσταση των λειμώνων του *P. oceanica* γενικότερα.

**ESTIMATION OF *POSIDONIA OCEANICA* (L.) DELILE MEADOWS IN PAXI
REGION (IONIAN SEA)**

Dakouras C.¹, Tsirika A.², Skoufas G.¹

¹*Alexander Technological Educational Institute of Thessaloniki, Department of Fisheries and
Aquaculture Technology, N. Miltiadi 1, Nea Moudania 63200, Greece,
E-mail: skoufas@aqua.teithe.gr*

²*Aristotle University of Thessaloniki, Faculty of Agronomy, Lab of Applied Soil Science, Thessaloniki
54124, Greece, E-mail: atsirika@agro.auth.gr*

Meadows of the endemic Mediterranean species *Posidonia oceanica* (L.) Delile are characterized as 'key' ecosystems for the Mediterranean basin. The important surface of leaves as well as the expansion with vertical and horizontal rhizomes creates numerous habitats for a variety of algae, invertebrates and vertebrates. Limited information is available on *P. oceanica* meadows from Greece and even less concerning the Greek Islands of the Ionian Sea. During the current survey, an estimation of *P. oceanica* meadows' status was conducted at six marine areas in Paxi region (Ionian Sea). The selection of the studied sites was based on various criteria such as hydrodynamic conditions, substrate, pollution, biotope's destruction, etc. Samples were collected using SCUBA diving, at depths of 5m – 8m during August 2007. Meadow's density was measured *in situ* and shoots were collected for the examination and/or calculation of: number of leaves per shoot, number and dimensions of adult, intermediate and juvenile leaves, leaf surface per shoot and Leaf Area Index (m²/m²). Taking into consideration the results of the present study, environmental parameters such as hydrodynamic conditions, presence/absence of the appropriate substrate, as well as anthropogenic pressures like pollution, tourist activities and anchoring, play an essential role in *P. oceanica* meadows' density, structure and status, in general.

**ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΔΙΘΥΡΟΥ
CALLISTA CHIONE ΣΤΟ ΘΕΡΜΑΪΚΟ ΚΟΛΠΟ**

Δαμιανίδης Π., Καραχλέ Π.Κ., Χιντήρογλου Χ.

Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τ.Θ.
134, 54124 Θεσσαλονίκη.

E-mail: damian@bio.auth.gr, pkarachl@bio.auth.gr και chintigl@bio.auth.gr

Στα πιο σημαντικά εδώδιμα δίθυρα που αλιεύονται για εμπορικούς σκοπούς τόσο στη Μεσόγειο όσο και στις Ελληνικές θάλασσες, συγκαταλέγεται και η γυαλιστερή [*Callista chione* (Linnaeus, 1758)]. Οι πληροφορίες σχετικά με την παρουσία του είδους στις ελληνικές θάλασσες είναι εξαιρετικά περιορισμένες και αφορούν στην αύξηση, αναπαραγωγή και δυναμική του πληθυσμού του είδους στον Ευβοϊκό Κόλπο (Metaxatos, 2004). Στην παρούσα έρευνα πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες, στα πλαίσια ερευνητικού προγράμματος που εντάσσεται στο ΕΠΑΛ 2000-2006, από επαγγελματίες αλιείς (δύτες με συνεχή παροχή αέρα), που δραστηριοποιούνται στην ευρύτερη περιοχή του Θερμαϊκού Κόλπου. Συνολικά λήφθηκαν 2 δείγματα, ένα από την περιοχή του Σάνη, Χαλκιδική, και ένα από την ευρύτερη θαλάσσια περιοχή του Πλαταμώνα Πιερίας. Οι σχέσεις ανάμεσα στο μήκος (L), ύψος (H) και πλάτος οστράκου (Wd) με το βάρος (W), όπως υπολογίστηκαν με βάση τα προκαταρκτικά δεδομένα ήταν:

$$W=0,0004 L^{2,8479}, N=175, R^2=0,98, SE(b)=0,031, p<0,01$$

$$W=0,0007 H^{2,9086}, N=175, R^2=0,99, SE(b)=0,027, p<0,01$$

$$W=0,0042 Wd^{2,8228}, N=175, R^2=0,99, SE(b)=0,023, p<0,01$$

Ακόμα, παρουσιάζονται προκαταρκτικά αποτελέσματα που αφορούν στις: (α) κατά μήκος, ύψος και πλάτος οστράκου, και κατά βάρος συνθέσεις, (β) σχέσεις μεταξύ μήκους, ύψους και πλάτους οστράκου με το ολικό βάρος, ανά σταθμό δειγματοληψίας χωριστά. Επιπρόσθετα, γίνονται συγκρίσεις τόσο ανάμεσα στους δύο σταθμούς, όσο και με προϋπάρχουσες πληροφορίες.

PRELIMINARY RESULTS ON THE BIOLOGY OF *CALLISTA CHIONE*, FROM THERMAIKOS GULF

Damianidis P., Karachle P.K., Chintiroglou C.

Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Box 134, 54124 Thessaloniki, Greece.

E-mail: damian@bio.auth.gr, pkarachl@bio.auth.gr, and chintigl@bio.auth.gr

Among the most important edible bivalves that are being commercial exploited, in the Mediterranean and from the Greek Seas, is smooth callista [*Callista chione* (Linnaeus, 1758)]. The only existing information regarding species' biology (i.e. growth, reproduction and population dynamics) is that from Metaxatos (2004) from Evvoikos Gulf. In the present study, samplings were conducted, in the framework of a research project (Operational Programme for Fisheries Sector 2000-2006), from professional fishers (divers with constant air supply), that fish in the area of Thermaikos Gulf. Overall, 2 samples were taken, one from Sani Beach, Chalkidiki Peninsula, and one from the waters off Platamonas, Pieria. The relationships between shell length (L), height (H) and width (Wd) with weight (W), as estimated from preliminary data, were the following:

$$W=0.0004 L^{2.879}, N=175, R^2=0.98, SE(b)=0.031, p<0.01$$

$$W=0.0007 H^{2.9086}, N=175, R^2=0.99, SE(b)=0.027, p<0.01$$

$$W=0.0042 Wd^{2.8228}, N=175, R^2=0.99, SE(b)=0.023, p<0.01$$

Here, we also present preliminary results regarding: (a) shell length, height and width, and weight frequency distributions, and (b) relationships between shell length, height and width, and total weight, per sampling station. Additionally, comparisons between the two stations and with previously reported information are being made.

**ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΔΙΘΥΡΟΥ
VENUS VERRUCOSA ΣΤΟ ΘΕΡΜΑΪΚΟ ΚΟΛΠΟ**

Δαμιανίδης Π., Καραχλέ Π.Κ, Χιντήρογλου Χ.

*Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τ.Θ.
134, 54124 Θεσσαλονίκη.*

E-mail: damian@bio.auth.gr, pkarachl@bio.auth.gr και chintigl@bio.auth.gr

Το κυδώνι (*Venus verrucosa* Linnaeus, 1758) είναι ένα από τα πιο σημαντικά, από εμπορικής άποψης, εδώδιμα δίθυρα. Παρά τη μεγάλη εμπορική σημασία του, οι πληροφορίες σχετικά με τη βιολογία του, είναι λίγες και διάσπαρτες και αφορούν κυρίως στην αναπαραγωγή του, ενώ για την αύξησή του υπάρχουν στοιχεία από τη Νότια Αδριατική και το Αιγαίο. Οι δειγματοληψίες του είδους στο Θερμαϊκό Κόλπο πραγματοποιήθηκαν σε εποχιακή βάση (άνοιξη 2007-χειμώνας 2008), από επαγγελματίες αλιείς (δύτες με συνεχή παροχή αέρα) της περιοχής, και μέσα στα πλαίσια ερευνητικού προγράμματος που εντάσσεται στο ΕΠΑΛ 2000-2006. Συνολικά λήφθηκαν 28 δείγματα, από 4 διαφορετικούς σταθμούς δειγματοληψίας. Η επιλογή των σταθμών αυτών έγινε με βάση την αφθονία του είδους, αλλά και την αντιπροσωπευτικότητά τους υπό το πρίσμα της αλιευτικής πίεσης που δέχονται από τους επαγγελματίες αλιείς. Οι σχέσεις ανάμεσα στο μήκος (L), ύψος (H) και πλάτος οστράκου (Wd) με το βάρος (W), όπως υπολογίστηκαν με βάση τα προκαταρκτικά δεδομένα ήταν:

$$W=0,0004 L^{2,964}, N=4850, R^2=0,95, SE(b)=0,010, p<0,01$$

$$W=0,0005 H^{2,9782}, N=4850, R^2=0,96, SE(b)=0,009, p<0,01$$

$$W=0,0037 Wd^{2,7272}, N=4850, R^2=0,95, SE(b)=0,009, p<0,01$$

Επιπρόσθετα, παρουσιάζονται προκαταρκτικά αποτελέσματα που αφορούν στις: (α) κατά μήκος, ύψος και πλάτος οστράκου, και κατά βάρος συνθέσεις, (β) σχέσεις μεταξύ μήκους, ύψους και πλάτους οστράκου με το ολικό βάρος. Όλα τα παραπάνω δίνονται ανά σταθμό δειγματοληψίας και ανά εποχή, και συγκρίνονται με προϋπάρχουσες πληροφορίες.

**PRELIMINARY RESULTS ON THE BIOLOGY OF *VENUS VERRUCOSA*,
FROM THERMAIKOS GULF**

Damianidis P., Karachle P.K., Chintiroglou C.

*Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Box 134, 54124
Thessaloniki, Greece.*

E-mail: damian@bio.auth.gr, pkarachl@bio.auth.gr, and chintigl@bio.auth.gr

Warty venus (*Venus verrucosa* Linnaeus, 1758) is one of the most commercially important edible bivalves. Despite this fact, information regarding the biology of the species is few and scattered, and concerns mainly its reproduction. Additionally, there exist some information on its growth from South Adriatic and the Aegean Seas. Samplings were conducted, in the framework of a research project (Operational Programme for Fisheries Sector 2000-2006), on a seasonal basis (spring 2007-winter 2008), from professional fishermen (divers with constant air supply), that fish in the area of Thermaikos Gulf. Overall, 28 samples were taken, from 4 different sampling stations. The latter were chosen based on species' abundance and the level of fishing pressure employed by the local fishermen on the population. The relationships between shell length (L), height (H) and width (Wd) with weight (W), as estimated from preliminary data, were the following:

$$W=0.0004 L^{2.964}, N=4850, R^2=0.95, SE(b)=0.010, p<0.01$$

$$W=0.0005 H^{2.9782}, N=4850, R^2=0.96, SE(b)=0.009, p<0.01$$

$$W=0.0037 Wd^{2.7272}, N=4850, R^2=0.95, SE(b)=0.009, p<0.01$$

Additionally, we present preliminary results regarding: (a) shell length, height and width, and weight frequency distributions, and (b) relationships between shell length, height and width, and total weight. All the above are given per sampling station and per season, and are being compared with previously reported information.

Η ΕΛΛΕΙΜΜΑΤΙΚΗ ΣΤΟ ΚΑΡΒΟΞΥΤΕΛΙΚΟ ΑΚΡΟ ΑΠΟΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΗ Ε4 ΕΠΑΓΕΙ ΤΗΝ ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΤΟΥ ΑΜΥΛΟΕΙΔΟΥΣ ΠΕΠΤΙΔΙΟΥ (Αβ) ΑΠΟ ΝΕΥΡΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Δάφνης Ι.¹, Στρατικός Ε.², Τζίνια Α.¹, Τσιλιμπάρη Ε.¹ και Α. Χρόνη¹

¹ Ινστιτούτο Βιολογίας, Εθνικό Κέντρο Έρευνας Φυσικών Επιστημών «Δημόκριτος»,
Αγία Παρασκευή, 15310 Αθήνα, Emails: john_dafnis@yahoo.gr, atzin@bio.demokritos.gr
effie@bio.demokritos.gr, achroni@bio.demokritos.gr

² Εργαστήριο Πρωτεϊνικής Χημείας, ΙΡΡΠ, Εθνικό Κέντρο Έρευνας Φυσικών Επιστημών
«Δημόκριτος», Αγία Παρασκευή, 15310 Αθήνα, Email: stratos@rrp.demokritos.gr

Η απολιποπρωτεΐνη Ε (αποΕ), μία κύρια πρωτεΐνη μεταφοράς λιπιδίων 299 αμινοξέων, έχει τρεις κοινές ισομορφές (αποΕ2, αποΕ3, αποΕ4) στους ανθρώπους. Η αποΕ4 είναι ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου της νευροεκφυλιστικής νόσου του Alzheimer (AD), που χαρακτηρίζεται από υπερπαραγωγή και συσσωμάτωση αμυλοειδούς πεπτιδίου β (Αβ) στον εγκέφαλο. Μελετήσαμε την επίδραση δύο ελλειμματικών στο καρβοξυ-τελικό άκρο μορφών της αποΕ4 (αποΕ4[Δ(166-299)] και αποΕ4[Δ(186-299)]), που δημιουργούνται με πρωτεόλυση στους εγκεφάλους ασθενών με AD, στη θραύση της πρόδρομης αμυλοειδούς πρωτεΐνης (APP) και στα επίπεδα του Αβ σε κύτταρα νευροβλαστώματος ανθρώπου SK-N-SH που υπερεκφράζουν παροδικά την APP695 ανθρώπου. Η ελεύθερη λιπιδίων αποΕ4[Δ(166-299)] μείωσε την παραγωγή του Αβ40 σε σύγκριση με την αγρίου τύπου αποΕ4 και την αποΕ4[Δ(186-299)], ενώ δεν επηρέασε τα επίπεδα της sAPPα. Επώαση των κυττάρων με εξωγενές Αβ40 παρουσία αγρίου τύπου ή ελλειμματικών αποΕ4 έδειξε ότι η αποΕ4[Δ(166-299)] οδηγεί σε μεγάλη μείωση των εξωκυτταρικών επιπέδων του Αβ40 σε σύγκριση με την αγρίου τύπου αποΕ4 και την αποΕ4[Δ(186-299)]. Ανάλυση SK-N-SH κυττάρων με συνεστιακή μικροσκοπία σάρωσης laser έδειξε ισχυρό σήμα ανοσοφθορισμού για το ενδοκυτταρικό Αβ στα κύτταρα που είχαν επωαστεί με εξωγενές Αβ40 και αποΕ4[Δ(166-299)], υποδεικνύοντας ότι αυτή η ελλειμματική στο καρβοξυ-τελικό άκρο αποΕ4 προάγει την πρόσληψη του Αβ40 από νευρικά κύτταρα. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι οι πιθανές αλληλεπιδράσεις της αμινο-τελικής περιοχής 1-165 της αποΕ4 με το Αβ μπορεί να επηρεάζουν τα εξωκυτταρικά και ενδοκυτταρικά επίπεδα του Αβ και να εμπλέκονται στους μηχανισμούς παθογένεσης της AD.

CARBOXY-TERMINAL TRUNCATED APOLIPOPROTEIN E4 PROMOTES THE AMYLOID PEPTIDE BETA (A β) UPTAKE FROM NEURONAL CELLS

Dafnis J.¹, Stratikos E.², Tzinia A.¹, Tsilibary E.C.¹, and A. Chroni¹

¹ Institute of Biology, National Center for Scientific Research "Demokritos", Agia Paraskevi, 15310 Athens, Emails: john_dafnis@yahoo.gr, atzin@bio.demokritos.gr, effie@bio.demokritos.gr, achroni@bio.demokritos.gr

² Protein Chemistry Laboratory, IRRP, National Center for Scientific Research "Demokritos", Agia Paraskevi, 15310 Athens, Email: stratos@rrp.demokritos.gr

Apolipoprotein E (apoE), a major lipid transport protein of 299-aa, has three common isoforms (apoE2, apoE3, apoE4) in humans. ApoE4 is a major risk factor for Alzheimer's disease (AD), a neurodegenerative disorder characterized by overproduction and aggregation of amyloid peptide beta (A β) in brain. We examined the effect of two carboxy-terminal truncated apoE4 forms, apoE4[Δ (166-299)] and apoE4[Δ (186-299)], which are generated by proteolysis in brains of AD patients, on amyloid precursor protein (APP) processing and A β levels in human neuroblastoma SK-N-SH cells transiently transfected with human APP695. Lipid-free apoE4[Δ (166-299)] led to reduced A β 40 levels as compared to WT apoE4 or apoE4[Δ (186-299)]. All apoE4 forms had no effect on sAPP α levels. Incubation of cells with exogenously added A β 40 in the presence of WT or truncated apoE4 forms showed that apoE4[Δ (166-299)] stimulates greatly the reduction of extracellular A β 40 levels as compared to WT apoE4 or apoE4[Δ (186-299)]. Fluorescence confocal laser scanning microscopy analysis of SK-N-SH cells treated with A β 40 in the presence of WT or truncated apoE4 forms showed a strong intracellular A β immunostaining of the cells that were incubated with apoE4[Δ (166-299)], indicating that this apoE4 form promotes the uptake of A β 40 from neuronal cells. Our findings suggest that potential interactions of amino-terminal region 1-165 of apoE4 with A β may affect the extracellular and intracellular A β levels and may influence the pathogenetic mechanisms that lead to AD.

**ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ ΤΟΥ ΣΥΝΔΡΟΜΟΥ SMITH-LEMLI-OPITZ ΚΑΙ ΣΥΝΕΧΕΙΣ
ΑΥΤΟΜΑΤΕΣ ΑΠΟΒΟΛΕΣ**

**Δημητριάδου Ε.¹, Λάλου Η.¹, Καλανταρίδου Σ.², Παύλου Μ.², Witsch-
Baumgartner M.³, Σύρρου Μ.¹**

¹Μονάδα Γενετικής, Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, ²Τομέας Μαιευτικής & Γυναικολογίας,
Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45500 Ιωάννινα, Ελλάδα

³Department for Medical Genetics, Molecular & Clinical Pharmacology, A-6020 Innsbruck, Austria

Οι Συνεχείς Αυτόματες Αποβολές (ΣΑΑ) (>3 ή >2 διαδοχικές αποβολές πριν από τις 20 εβδομάδες κύησης) συμβαίνουν στο 1-3% των γυναικών. Περισσότερο από το 40% των ΣΑΑ είναι άγνωστης αιτιολογίας και θεωρείται ότι έχουν γενετική βάση. Το σύνδρομο Smith-Lemli-Opitz (SLOS, MIM270400) είναι μία αυτοσωμική υπολειπόμενη διαταραχή της βιοσύνθεσης της χοληστερόλης που προκαλείται από μεταλλάξεις στο γονίδιο DHCR7. Η συχνότητα εμφάνισης του SLOS κυμαίνεται μεταξύ 1:15000 and 1:60000 στους Ευρωπαϊκούς πληθυσμούς και ο φαινότυπος ποικίλει από ήπια δυσλειτουργία μέχρι βαρύ σύνδρομο με δυσμορφικά χαρακτηριστικά που οδηγεί σε θάνατο. Η ασυμφωνία μεταξύ της αναμενόμενης και παρατηρούμενης συχνότητας των μεταλλάξεων του SLOS που έχει παρατηρηθεί μπορεί να οφείλεται μερικώς στην αποβολή κατά το πρώτο τρίμηνο προσβεβλημένων εμβρύων που φέρουν μεταλλάξεις που οδηγούν σε βαρύτερο φαινότυπο. Σκοπός: 1. Σύγκριση της συχνότητας εμφάνισης των κοινών μεταλλάξεων του SLOS σε Ελληνίδες με ΣΑΑ και σε ένα δείγμα ελέγχου. 2. Συσχέτιση των κοινών μεταλλάξεων του SLOS με τις ΣΑΑ ώστε να καταλήξουμε αν ο έλεγχος των κοινών μεταλλάξεων του SLOS σε ζευγάρια με >2 ΣΑΑ θα πρέπει να προστεθεί στη διερεύνηση των ΣΑΑ. Μελετήθηκαν 124 γυναίκες ηλικίας <41 ετών με >2 διαδοχικές αποβολές του πρώτου τριμήνου και 80 υγιείς γυναίκες με αποδεδειγμένη γονιμότητα ως ομάδα ελέγχου για τις τρεις συχνότερες στον Ελληνικό πληθυσμό μεταλλάξεις του γονιδίου DHCR7 (IVS8-1G>C, p.Trp151X and p.Thr93Met) με ειδική για το κάθε αλληλόμορφο PCR. Δύο από τις 124 γυναίκες με ΣΑΑ άγνωστης αιτιολογίας βρέθηκαν ετερόζυγες για τη μετάλλαξη IVS8-1G>C, ενώ δε βρέθηκαν φορείς στην ομάδα ελέγχου.

SMITH-LEMLI-OPITZ SYNDROME MUTATIONS IN RECURRENT MISCARRIAGE

Dimitriadou E.¹, Lalou I.¹, Kalantaridou S.², Pavlou M.², Witsch-Baumgartner M.³, Syrrou M.¹

¹Genetics Unit, Department of General Biology, ²Department of Obstetrics and Gynaecology, Medical School, University of Ioannina, 45500 Ioannina, Greece

³Department for Medical Genetics, Molecular and Clinical Pharmacology, A-6020 Innsbruck, Austria

Recurrent miscarriage (RM) (>3 or >2 consecutive pregnancy losses before 20 weeks of gestation) affects 1-3% of all women. More than 40% of RM are of unknown etiology and assumed to be genetic in origin. Smith-Lemli-Opitz Syndrome (SLOS, MIM270400) is an autosomal recessive disorder of cholesterol biosynthesis caused by mutations in the DHCR7 gene. The prevalence of SLOS ranges between 1:15000 and 1:60000 in European populations. The SLOS phenotypic spectrum is very broad, ranging from a mild disorder with behavioral and learning problems to a lethal malformation syndrome. There is a discrepancy between expected and observed incidence of SLOS mutations that might be in part explained by first trimester miscarriages of affected fetuses that carry mutation leading to heavy phenotype. Aim: 1.To compare the prevalence of common SLOS mutations in Greek women with unexplained RM and in a control group. 2. To correlate common SLOS mutations with RM in order to conclude if screening for common SLOS mutations in couples with >2 spontaneous miscarriages should be added in the evaluation of RM. Study group: 124 women aged <41 years, with >2 consecutive first trimester miscarriages. Controls: 75 healthy age-matched women, with proven fertility. The three most common for the Greek population mutations of the DHCR7 gene (IVS8-1G>C, p.Trp151X and p.Thr93Met) were studied using allele-specific PCR. Two out of 124 women with unexplained RM were heterozygous for null IVS8-1G>C mutation. No carriers were found among the control group.

**ΕΝΔΙΑΜΕΣΟ ΕΛΛΕΙΜΜΑ 1q25.1-q31.3 ΣΕ ΑΓΟΡΙ ΜΕ ΕΝΤΟΝΑ
ΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ**

Δημητριάδου Ε.¹, Λάλου Η.¹, Θεοδωροπούλου Κ.², Vermeesch J.³, Σύργου Μ.¹

¹Μονάδα Κυτταρογενετικής, Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο
Ιωαννίνων, 451 10 Ιωάννινα, Ελλάδα

²Παιδιατρική Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων «Χατζηκώστα», 450 01 Ιωάννινα.

³Center for Human Genetics, University Hospital Leuven, B-3000 Leuven, Belgium

Παρουσιάζεται αγόρι 12 ετών με μέτρια νοητική υστέρηση, μαθησιακές και γλωσσικές διαταραχές, υπολειπόμενη σωματική ανάπτυξη, μικροκεφαλία, μεγάλου βαθμού μυωπία, πολλαπλά δυσμορφικά χαρακτηριστικά (κυρίως ανωμαλίες προσώπου και άκρων) καθώς και ανεπάρκεια αυξητικής ορμόνης. Η κυτταρογενετική ανάλυση με συμβατικές τεχνικές (ζώνωση GTG) μετά από καλλιέργεια λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος κατέδειξε την ύπαρξη ενός ενδιάμεσου ελλείμματος του μακρού βραχίονα του χρωμοσώματος 1 (1q). Ανάλυση με μοριακή κυτταρογενετική και συγκεκριμένα με μικροσυστοιχία CGH (BAC 1 Mb) επιβεβαίωσε το εύρημα και έδειξε την ύπαρξη ελλείμματος μεγέθους 21 Mb. Οι κλώνοι που βρίσκονται στα δύο άκρα του ελλείμματος είναι οι RP11-552K17 και RP3-433G19. Έτσι, ο καρύοτυπος είναι arr cgh 1q25.1-q31.3 (RP5-1045J21->RP11-435N12)x1. Έχουν παλαιότερα αναφερθεί δύο ασθενείς με έλλειμμα της περιοχής 1q25-q31 και παρόμοια κλινική εικόνα κι ένας ασθενής με ηπιότερο φαινότυπο. Είναι η πρώτη φορά που χρησιμοποιείται ανάλυση με μικροσυστοιχία CGH για τον λεπτομερέστερο προσδιορισμό των σημείων θραύσης σε ασθενή με έλλειμμα της περιοχής 1q25-q31 και γίνεται προσπάθεια συσχετισμού των φαινοτυπικών χαρακτηριστικών με το μοριακό εύρημα.

INTERSTITIAL 1q25.1-q31.3 DELETION IN A BOY WITH SEVERE PHENOTYPIC MANIFESTATIONS

Dimitriadou E.¹, Lalou I.¹, Theodoropoulou K.², Vermeesch J.³, Syrrou M.¹

¹*Cytogenetics Unit, Department of General Biology, Medical School, University of Ioannina, 451 10 Ioannina, Greece.* ²*Hospital of Ioannina "Hatzikosta", 450 01 Ioannina, Greece*
³*Center for Human Genetics, University Hospital Leuven, B-3000 Leuven, Belgium*

We describe a 12-year old boy with moderate mental retardation, learning and language difficulties, growth retardation, microcephaly, severe myopia, several dysmorphic features (including facial and limb anomalies) as well as growth hormone deficiency. The chromosome analysis of peripheral blood lymphocytes by conventional cytogenetic techniques (GTG banding) demonstrated an interstitial deletion in the long arm of chromosome 1 (1q). Molecular karyotyping using array CGH analysis (BAC 1 Mb) confirmed the finding and showed the presence of a 21 Mb sized deletion. The deletion flanking clones are RP11-552K17 and RP3-433G19. Hence, the karyotype is arr cgh 1q25.1-q31.3 (RP5-1045J21->RP11-435N12)x1. There have previously been reported two patients with 1q25-q31 deletion and similar clinical manifestations as well as one patient with 1q25.3-q31.3 deletion and a milder phenotype. This is the first time that array-CGH analysis is used for a more accurate assessment of the breakpoints in a patient carrying a deletion in the 1q25-q31 region.

ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥΣ ΜΕ ΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΠΕΡΙΟΔΟΝΤΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ

Δήμου Ν.Α.¹, Νικολόπουλος Γ.Κ.², Χαμόδρακας Σ.Ι.¹ και Μπάγκος Π.Γ.³

¹Τομέας Βιολογίας Κυττάρων και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Αθήνα 157 01, E-mail: nikidimou@gmail.com, shamodr@biol.uoa.gr

²Ελληνικό κέντρο ελέγχου και πρόληψης νοσημάτων, 3^η Σεπτεμβρίου 54, Αθήνα 10433
E-mail: nikolopoulos@keelpno.gr

³Τμήμα Πληροφορικής με Εφαρμογές στη Βιοϊατρική, Πανεπιστήμιο Στερεάς Ελλάδας,
Παπασιοπούλου 2-4, Λαμία 35100, E-mail: pbagos@ucg.gr

Πραγματοποιήσαμε μια συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση, έτσι ώστε να ανιχνεύσουμε την πιθανή συσχέτιση των πολυμορφισμών των γονιδίων των κυτταροκινών με την εμφάνιση τόσο της επιθετικής όσο και της χρόνιας περιοδοντικής νόσου. Πραγματοποιήθηκε μια εκτενή αναζήτηση της βιβλιογραφίας. Ανακτήσαμε ένα σύνολο 49 μελετών οι οποίες συνοψίζουν πληροφορίες για 3652 ασθενείς και 4360 μάρτυρες. Έξι πολυμορφισμοί συμπεριλήφθησαν στη μετα-ανάλυση μας οι οποίοι είναι οι ακόλουθοι: IL-1A G4845T, IL-1A C[-889]T, IL-1B C3953/4T, IL-1B T[-511]C, IL-6 G[-174]C και TNFA G[-308]A. Μοντέλα τυχαίων επιδράσεων χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση. Υπολογίσαμε τους σχετικούς λόγους των συμπληρωματικών πιθανοτήτων με τα διαστήματα εμπιστοσύνης αυτών για να συγκρίνουμε την κατανομή των αλληλομόρφων και γονοτύπων μεταξύ ασθενών και μαρτύρων. Χρησιμοποιώντας μοντέλα τυχαίων επιδράσεων βρήκαμε στατιστικά σημαντική συσχέτιση των IL-1A C[-889]T και IL-1B C3953/4T πολυμορφισμών με την εμφάνιση της χρόνιας περιοδοντικής νόσου χωρίς ένδειξη για συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης ή στατιστικά σημαντική ετερογένεια. Μια ασθενής θετική συσχέτιση βρέθηκε επιπλέον με τον πολυμορφισμό IL-1B T[-511]C και την χρόνια περιοδοντική νόσο. Καμμία συσχέτιση δεν βρέθηκε για όλες τις κυτταροκίνες που ελέγχθησαν όσον αφορά την επιθετική μορφή της περιοδοντικής νόσου. Μελλοντικές μελέτες χρειάζονται για να συνεισφέρουν στη διερεύνηση της πιθανής πολυγονιδιακής προδιάθεσης της ασθένειας και να ενισχύσουν τα ευρήματά μας.

CYTOKINE GENE POLYMORPHISMS AND THEIR ASSOCIATION WITH PERIODONTAL DISEASE

Dimou N.L.¹, Nikolopoulos G.K.², Hamodrakas S.J.¹ and Bagos P.G.³

¹*Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology,
University of Athens, Athens 157 01, E-mail: nikidimou@gmail.com, shamodr@biol.uoa.gr*

²*Hellenic Centre for Diseases Control and Prevention, 3rd September 54, Athens 10433, Greece,
E-mail: nikolopoulos@keelpno.gr*

³*Department of Informatics with Applications in Biomedicine, University of Central Greece,
Papasiopoulou 2-4, Lamia 35100, Greece, e-mail: pbagos@ucg.gr*

We conducted a systematic review and a meta-analysis, in order to investigate the potential association of cytokine gene polymorphisms with either aggressive or chronic periodontal disease. A comprehensive literature search was performed. We retrieved a total of 49 studies summarizing information about 3652 cases and 4360 controls. Six polymorphisms were included in our meta-analysis which are the following: IL-1A G4845T, IL-1A C[-889]T, IL-1B C3953/4T, IL-1B T[-511]C, IL-6 G[-174]C and TNFA G[-308]A. Random effect methods were used for the analysis. We calculated the specific Odds Ratio along with their 95% Confidence Intervals to compare the distribution of alleles and genotypes between cases and controls. Using random effect methods we found statistically significant association of IL-1A C[-889]T and IL-1B C3953/4T polymorphisms with chronic periodontal disease, without any evidence of publication bias or significant statistical heterogeneity. A weak positive association was also found concerning IL-1B T[-511]C and chronic periodontal disease. No association was found for all the cytokines examined as far as the aggressive form of the disease is concerned. Future studies may contribute to the investigation of the potential multigenetic predisposition of the disease and reinforce our findings.

**ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΚΑΤΑ ΤΗ ΣΥΖΕΥΚΤΙΚΗ ΚΙΝΗΤΟ-
ΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ ColE1 - ΕΝΑ ΠΡΟΤΥΠΟ ΟΡΙΖΟΝΤΙΑΣ
ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ**

Δραΐνας Κ. *

Εργαστήριο Βιοχημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110 Ιωάννινα

Ως οριζόντια γονιδιακή μεταφορά χαρακτηρίζεται η μεταβίβαση γενετικής πληροφορίας μεταξύ κυττάρων και ξεπερνά τους φραγμούς του είδους και άλλους ταξινομικούς περιορισμούς. Μηχανισμοί οριζόντιας γονιδιακής μεταφοράς έχουν μελετηθεί στον μικροβιακό κόσμο και περιλαμβάνουν τη βακτηριακή σύζευξη, τη μεταγωγή και το μετασχηματισμό. Οι μηχανισμοί αυτοί συμβάλλουν σημαντικά στην εξέλιξη των γονιδιωμάτων και στη διάδοση γονιδίων μεταξύ των οργανισμών στο περιβάλλον. Για αυτό το λόγο έχουν προκαλέσει τόσο το επιστημονικό ενδιαφέρον όσο και την ανησυχία της κοινής γνώμης σχετικά με τους κινδύνους που πιθανόν εγκυμονεί η αύξηση της αναλογίας ορισμένων γονιδίων, ιδιαίτερα εκείνων που σχετίζονται με ανθεκτικότητα σε αντιβιοτικά. Τον σημαντικότερο ρόλο στον μηχανισμό οριζόντιας γονιδιακής μεταφοράς κατά τη βακτηριακή σύζευξη διαδραματίζουν πλασμίδια, τα οποία διακρίνονται σε συζευκτικά και κινητοποιήσιμα. Το ColE1 είναι το πρότυπο μιας υπερ-οικογένειας κινητοποιήσιμων πλασμιδίων που απαντούν σε gram-αρνητικά και gram-θετικά βακτήρια. Η περιοχή κινητοποίησης του πλασμιδίου αυτού περιέχει 5 γονίδια (*mbeA*, *mbeB*, *mbeC*, *mbeD* και *mbeE*), τα οποία (εκτός του *mbeE*) συμμετέχουν ουσιαστικά στην κινητοποίηση του πλασμιδίου. Οι γνώσεις μας σχετικά με τον μηχανισμό συζευκτικής κινητοποίησης του ColE1 σε μοριακό επίπεδο είναι περιορισμένες. Η μόνη αποδεδειγμένη πληροφορία για τον ρόλο των γονιδίων *mob* του ColE1 αφορά τα *mbeA* και *mbeC*. Το γονίδιο *mbeA* κωδικοεύει τη ριλαξάση, ένα ένζυμο που αλληλεπιδρά με την περιοχή *oriT*, εντός της οποίας (θέση *nic*) διασπά έναν φωσφοδιεστερικό δεσμό στη μία αλυσίδα του DNA δίνοντας το έναυσμα για έναρξη συζευκτικής αντιγραφής DNA και μετατόπιση αλυσίδας. Η μετατόπιση αυτή είναι απαραίτητη για τη μεταφορά ενός αντιγράφου του πλασμιδίου στο βακτηριακό κύτταρο-δέκτη. Το προϊόν του γονιδίου *mbeC* επίσης δεσμεύεται ισχυρά με την περιοχή *oriT* του ColE1. Πειράματα χρωματογραφίας ισοθερμικής τιτλοδότησης έδειξαν ότι οι πρωτεΐνες MbeA και MbeC αλληλεπιδρούν ισχυρά. Η MbeA αποτελεί τη μόνη εξαίρεση των ριλαξασών που έχουν μελετηθεί μέχρι στιγμής, η οποία αντί να φέρει τρεις ιστιδίνες (HHH) στο ενεργό της κέντρο, παρουσιάζει την τριάδα των αμινοξέων ιστιδίνη-γλουταμικό και ασπαραγίνη (HEN). Από την άλλη πλευρά, συγκρίσεις αλληλουχιών και προβλέψεις δευτεροταγούς δομής δείχνουν ότι η πρωτεΐνη MbeC φέρει δύο συντηρημένες περιοχές. Η περιοχή του N-τελικού άκρου φαίνεται ότι ανήκει στην οικογένεια των πρωτεϊνών τύπου RHH που δεσμεύονται με DNA. Περιορισμένη πρωτεόλυση και ανάλυση των πεπτιδίων με φασματομετρία μάζας MALDI-TOF έδειξε την ύπαρξη δύο τμημάτων της πρωτεΐνης με διαφορετικό ρόλο. Η περιοχή του N-τελικού άκρου φαίνεται πως είναι υπεύθυνη για τη δέσμευση με το DNA, ενώ η περιοχή του C-τελικού άκρου είναι μάλλον υπεύθυνη για την αλληλεπίδραση με την MbeA. Αυτά τα αποτελέσματα εμφανίζουν την MbeC ως ένα ανάλογο της πρωτεΐνης TtwA, η οποία επίσης ανήκει στην οικογένεια RHH και έχει αποδειχθεί ότι έχει τον ρόλο ενισχυτή της ριλαξάσης του πλασμιδίου R388. Με αυτά τα δεδομένα, φαίνεται ότι η αποτελεσματική συζευκτική κινητοποίηση του ColE1, που προϋποθέτει την ειδική σχάση φωσφοδιεστερικού δεσμού στη θέση *nic* από την πρωτεΐνη MbeA, χρειάζεται τη συμπληρωματική δράση της πρωτεΐνης MbeC.

Στην εργασία αυτή συμμετείχε και η Α. Βαρσάκη

MOLECULAR INTERACTIONS IN COLE1 PLASMID CONJUGAL MOBILIZATION - A MODEL IN HORIZONTAL TRANSFER OF GENES

Drainas C.*

Biochemistry Lab, Department of Chemistry, University of Ioannina, 45110 Ioannina

Horizontal gene transfer (HGT) is the transfer of genetic information between cells beyond species or other taxonomic barriers. Mechanisms of HGT have best studied in the microbial world and include conjugation, transformation and transduction. They have a major contribution to genomes evolution and to dissemination of genes among many organisms in the environment. For this they have triggered the scientific and public concern for the risks connected with the increase of the pool of certain genes, such as antibiotic resistance. In bacterial conjugation, plasmids play the major role in HGT, distinguished to conjugative and mobilizable. ColE1 is the prototype of a superfamily of mobilizable plasmids found in gram-negative and gram-positive bacteria participating actively in horizontal gene transfer. Its mobilization region contains five genes (*mbeA*, *mbeB*, *mbeC*, *mbeD* and *mbeE*), all but *mbeE* essential for its mobilization. Very little is known regarding the mobilization properties of this plasmid at the molecular level. The only proven information available on the specific role of the *mob* genes of ColE1 is that of *mbeA* and *mbeC*. *mbeA* codes for the relaxase, which interacts with the *oriT* cleaving a phosphodiester bond at the *nic* site, initiating strand displacement and conjugal transfer DNA replication, necessary for the transport of a copy of the plasmid to a recipient bacterial host. The product of *mbeC* also binds specifically to DNA containing the *oriT* site of ColE1. Isothermal titration chromatography revealed that MbeA and MbeC interact strongly. MbeA is a variant of the common relaxase theme HHH, with a HEN motif instead. Sequence comparison and secondary structure prediction suggest that MbeC has two possible conserved domains. The N-terminal domain seems to belong to the ribbon-helix-helix (RHH) family of DNA binding proteins. After limited proteolysis and MALDI-TOF spectrometry, two fragments were revealed. The existence of this break point possibly indicates the interface between N-terminal and C-terminal domains. The N-terminal domain is possibly responsible for DNA binding. The C-terminal domain is possibly responsible for interactions with MbeA. Hence, the MbeC seems to be an analogue of TrwA, the relaxase enhancer of the conjugal plasmid R388, also belonging to the RHH family. In this regard, efficient conjugation process through the specific cleavage at the *nic* site by MbeA requires the accessory function of MbeC.

A. Varsaki also contributed this work

** Invited speaker*

ΕΠΙΠΕΔΑ 25 (OH)ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ D ΚΑΙ ΠΑΡΑΘΟΡΜΟΝΗΣ (PTH) ΣΤΟΝ ΟΡΟ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΣΕ ΠΕΡΙΠΑΤΗΤΙΚΑ ΗΛΙΚΙΩΜΕΝΑ ΑΤΟΜΑ ΣΤΗΝ ΚΡΗΤΗ

Δρετάκη Ο., Μαργιωρής Α., Στεργιόπουλος Κ., Τσατσάνης Χ., Μαλλιαράκη Ν. και Κ. Δρετάκης

Εργαστήριο Κλινικής Χημείας, Κλινική Ορθοπαιδικής-Τραυματολογίας, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Κρήτης, Βούτες, Ηράκλειο Κρήτης.

Σημαντικός είναι ο ρόλος της βιταμίνης D στον μεταβολισμό των οστών, καθώς και στην ανάπτυξη και λειτουργία των μυϊκών κυττάρων. Έχει διαπιστωθεί ότι άτομα άνω των 50 ετών έχουν ανάγκη τουλάχιστον 50 nmol/L 25(OH)D για να αποκτήσουν το ιδανικό επίπεδο παραθορμόνης στον ορό του αίματος. Πολύ χαμηλά επίπεδα 25(OH)D στον ορό (δηλαδή < 30nmol/L) σχετίζονται με την οστεομαλάκυνση και την οστεοπόρωση, καθώς και τη μυϊκή αδυναμία που οδηγεί συχνά σε τραυματικές πτώσεις. Χαμηλά επίπεδα ορού 25(OH)D έχουν διαπιστωθεί σε μεγάλο ποσοστό ιδρυματικών ασθενών, αλλά και ατόμων τα οποία για λόγους υγείας παραμένουν μέσα στο σπίτι, καθώς επίσης και σε περιπατητικά ηλικιωμένα άτομα, κυρίως γυναίκες, με ανεπαρκή έκθεση στο ηλιακό φως, εξ αιτίας περιορισμένης εκτός οικίας φυσικής δραστηριότητας και τρόπου ένδυσης. Σκοπός αυτής της εργασίας είναι η διερεύνηση των επιπέδων της 25(OH)D και της παραθορμόνης στον ορό του αίματος σε ηλικιωμένα περιπατητικά άτομα κατοίκους της Κρήτης. Στην έρευνα συμμετέχουν, με ορισμένα κριτήρια, 101 περιπατητικά άτομα, 70 γυναίκες και 31 άνδρες, από τα ΚΑΠΗ Ηρακλείου, με μέση ηλικία 70 και 73 έτη αντιστοίχως. Αποκλείστηκαν άτομα με χρόνιες παθήσεις του γαστρεντερικού συστήματος, καθώς και άτομα που έπαιρναν βιταμίνη D, Ca ή άλλες ουσίες που είναι δυνατόν να επηρεάσουν τον μεταβολισμό της βιταμίνης D. Όλα τα άτομα που συμμετείχαν στην έρευνα χρησιμοποίησαν την μεσογειακή (κρητική, τύπου άλφα διατροφή). Η μέτρηση της βιταμίνης D έγινε με τη χρήση της OSTEIA 25 (OH)Vitamin D kit (τιμές αναφοράς 48-144 nmol/L) και της παραθορμόνης (PTH) με την ELSA-PTH (τιμές αναφοράς 15-65 pg/ml). Η μέση τιμή της 25(OH)D στον ορό ήταν 51,46 nmol/L (SD 27,32) στις γυναίκες και 74,35 nmol/L (SD 49,83) στους άνδρες. Διαπιστώθηκε ότι 6,5% των ανδρών και 30,4% των γυναικών είχαν τιμές ορού 25(OH)D < 30 nmol/L, ενώ 29% των ανδρών και 53,6% των γυναικών είχαν 25(OH)D < 50 nmol/L. Η μέση τιμή της PTH ήταν 59,77 pg/ml (SD 28,92) στις γυναίκες και 63,91 pg/ml (SD 24,82) στους άνδρες. Δεν διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στις τιμές της PTH στον ορό μεταξύ των γυναικών με μέση τιμή ορού 25(OH)D < 30nmol/L και εκείνων με 25(OH)D > 30nmol/L. Το υψηλό ποσοστό ατόμων με ανεπάρκεια 25(OH)D μπορεί να αποδοθεί: 1) στην ανεπαρκή έκθεση στο ηλιακό φως εξ αιτίας του τύπου των ενδυμάτων (χρήση ενδυμάτων με μακρὰ μανίκια από τον Οκτώβριο μέχρι τον Μάιο) και τη διάθεση περιορισμένου χρόνου για την εκτός οικίας φυσική δραστηριότητα ιδιαίτερα από τις γυναίκες 2) στη μη κατανάλωση τροφίμων ενισχυμένων με βιταμίνη D.

25(OH)D AND PTH SERUM LEVELS IN AMBULATORY ELDERLY INHABITANTS OF CRETE

Dretaki O., Margioris A., Steriopoulos K., Tsatsanis C., Malliaraki N. and K. Dretakis

Lab. Clinical Biochemistry, Dpt Orthopaedics-Traumatology, University Hospital, Heraklion-Crete, Greece.

The role of Vitamin D in bone metabolism and in the development and function of the muscle cell is important. It has been found that subjects over 50 years of age require at least 50nmol/L of 25(OH)D to achieve the optimum PTH serum levels. Very low 25(OH)D levels (<30nmol/L) are associated with osteomalacia and osteoporosis and also with muscle weakness often leading to injurious falls. Low serum 25(OH)D levels have been reported in a high proportion of institutionalized or home bound subjects and also in ambulatory elderly people with limited exposure to sun light due to reduced outdoors physical activity, the type of clothing (use of cloths with long sleeves from October to May) and in lesser degree to inadequate dietary intake of Vitamin D. Aim of this study is to investigate the Vitamin D status in ambulatory elderly people permanent inhabitants of Crete. In this study participated 101 ambulatory subjects, selected from the Centres of Open Care for the Elderly (KAPI) of Heraklion-Crete, 70 women and 31 men, of mean age 70 (SD 5, median 71) and 73 (SD 5,49, median 71) years respectively, following inclusion criteria. Subjects with chronic diseases of the gastrointestinal system, renal failure and also those taking Vitamin D, Ca or drugs possibly affecting Vitamin D metabolism were excluded from the study. All subjects used the Mediterranean-Cretan type A diet. Measurement of 25(OH)D was done by using the OCTEIA 25(OH)vitamin D kit (Ref. values 48-144 nmol/L) and of parathormone (PTH) by using ELSA-PTH immunoradiometric assay (Ref. values 15-65 pg/ml). The mean serum value of 25(OH)D was 51,46 nmol/L (SD 27,32) in women and 74,35 nmol/L (SD 49,83) in men. It was found that 6,5% of men and 30,4% of women had 25(OH)D serum levels <30nmol/L, whereas 29% of men and 53,6% of women had 25(OH)D mean serum values <50nmol/L. The mean serum value of PTH was 59,77 pg/ml (SD 28,92) in women and 63,91 (SD 24,82) in men. No statistical significant difference was found in PTH serum values between women with serum value of 25(OH)D <30nmol/L and those with 25(OH)D serum value >30nmol/L. The high proportion of study participants with Vitamin D deficiency should be attributed to: 1) the inadequate exposure to sunlight due to the type of clothing used (use of clothes with long sleeves from October to May) and the limited time spent in outdoors physical activity especially by women 2) no consumption of nutrient fortified with Vitamin D.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ ΤΟΥ ΚΑΡΒΟΞΥ-ΤΕΛΙΚΟΥ
ΑΚΡΟΥ (BRCT) ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ BRCA1 ΣΤΗΝ ΔΟΜΙΚΗ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ
ΤΟΥ ΜΟΡΙΟΥ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΕ ΑΛΛΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ**

Δρίκος Ι.¹, Α. Θανάσσυλας², Γ. Νούνεσης², Κ. Βοργιάς¹

¹Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη-Ζωγράφου, 15701 Αθήνα, Ελλάδα

Email: cvorgias@biol.uoa.gr.

²Εθνικό Κέντρο Έρευνας Φυσικών Επιστημών, Ε.ΚΕ.Φ.Ε. Δημόκριτος, Ι.Ρ.Ρ.Π., 15310 Αγία
Παρασκευή, Ελλάδα..

Ο καρκίνος του μαστού, αποτελεί την πιο συχνή ασθένεια μεταξύ των γυναικών στο δυτικό κόσμο, με το 1/3 των περιπτώσεων οικογενούς καρκίνου του μαστού να σχετίζονται με μεταλλάξεις στα γονίδια BRCA1 και BRCA2. Η ογκο-κατασταλτική πρωτεΐνη BRCA1 συμμετέχει στις διαδικασίες επιδιόρθωσης του γενετικού υλικού καθώς και στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου, αλληλεπι-δρώντας με μεγάλο αριθμό πρωτεΐνων, όπως η BACH1 και η CtIP. Μεταλλάξεις του καρβοξυτελικού άκρου της BRCA1, οι οποίες εντοπίζονται σε ασθενείς, επηρεάζουν την ικανότητα αλληλεπίδρασης της BRCA1 με τις πρωτεΐνες BACH1 και CtIP. Στόχος της παρούσας εργασίας είναι ο προσδιορισμός της επίδρασης σημειακών μεταλλάξεων στη δομή και την λειτουργία του BRCA1-BRCT. Για το λόγο αυτό, το καρβοξυτελικό άκρο φυσικού τύπου όσο και τα μεταλλαγμένα, κλωνοποιήθηκαν και εκφράστηκαν σε προκαρυωτικούς φορείς έκφρασης. Οι ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες παράχθηκαν σε σταθερή και καθαρή μορφή. Βιοφυσική ανάλυση της δευτεροταγούς δομής και η θερμική σταθερότητα των τμημάτων BRCT, τόσο φυσικού τύπου όσο και των μεταλλαγμένων, πραγματοποιήθηκε με χρήση φασματογράφου κυκλικού διχρωϊσμού (CD) και μικροθερμιδομετρία διαφορικής σάρωσης (DSC). Η ικανότητα αλληλεπίδρασης των BRCA1-BRCTs με συνθετικά φωσφοπεπτίδια, τμήματα των περιοχών αλληλεπίδρασης των πρωτεΐνων BACH1 και CtIP, μελετήθηκε με μικροθερμιδομετρία μοριακής τιτλοδότησης (ITC). Από τα εξαχθέντα αποτελέσματα, οι σημειακές μεταλλάξεις του BRCT, (α) επηρεάζουν την θερμοδυναμική σταθερότητα του καρβοξυτελικού τμήματος και (β) την ικανότητα αλληλεπίδρασης με συνθετικά φωσφοπεπτίδια, τμήματα των περιοχών αλληλεπίδρασης των πρωτεΐνων BACH1 και CtIP. Η απώλεια αυτής της αλληλεπίδρασης δύναται να εξηγεί την απώλεια ελέγχου του κυτταρικού κύκλου και την ανάπτυξη του καρκίνου του μαστού.

EFFECTS OF PATHOGENIC MUTATIONS OF BRCA1-BRCT ON THE PROTEIN STABILITY AND PROTEIN-PROTEIN INTERACTIONS

Drikos I.¹, Thanassoulas A.², Nounesis G.², Vorgias C.E.¹

¹*Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Biology, National and Kapodistrian
University of Athens, Panepistimiopolis-Zographou, 15701 Athens, Greece.*

E-mail: cvorgias@biol.uoa.gr

²*National Center of Scientific Research "Demokritos", IRRP, Aghia Paraskevi, 15310, Greece*

Breast cancer is the most common malignancy among women in western world. One third of the familial breast cancer cases can be attributed to mutations of certain genes as BRCA1 and BRCA2. The breast cancer tumor suppressor BRCA1 is involved in DNA repair and cell cycle control through interactions with other partner molecules such as BACH1 and CtIP. Mutations at the two C-terminal tandem (BRCT) repeats of BRCA1, disrupting BRCA1 complexes with BACH1 and CtIP, were identified in breast tumor patients. The aim of this study is to analyze how structural modifications of the mutated BRCT domain change the proper function of BRCA1 protein. For this purpose, the cDNAs encoding the wild type (wt) and the mutant carboxyl-terminal regions (BRCT-domain) of BRCA1 were independently cloned in suitable prokaryotic expression vectors. The corresponding proteins were obtained in highly soluble and stable form. Biophysical analysis of the secondary structure and the thermodynamic stability of the wild type and selected mutant BRCT domains were performed by Circular Dichroism (CD) and Differential Scanning Microcalorimetry (DSC), respectively. Modification in binding affinity of the wt and mutant BRCT domains with BACH1 and CtIP, were studied by Isothermal Titration Calorimetry (ITC). These experiments demonstrated that the studied mutations of the BRCA1-BRCT (i) change the thermodynamic stability of the domain and (ii) influence the binding affinities with synthetic phosphopeptides, corresponding to BACH1 and CtIP binding sites. This loss of interactions may explain the abolition of the cell cycle control, mutation accumulation and breast cancer development.

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΣΥΝΟΛΙΚΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ
ΣΤΟΝ ΟΡΟ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΚΗΛΗ ΜΕΣΟΣΠΟΝΔΥΛΙΟΥ ΔΙΣΚΟΥ**

**Ελευθερίου Φ.^{1,2}, Λυμπεράκη Ε.², Μακρή Σ.², Σερασίδου Α.³, Πατσαλάς Ι.³,
Σελβιαρίδης Π.³, Πέτρου Χ.¹**

¹Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας, Φαρμακευτική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο
Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη. E-MAIL: felefthe@pharm.auth.gr

²Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων, Σχολή Επαγγελματιών Υγείας και Πρόνοιας, Αλεξάνδρειο
Τεχνολογικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα.

³Πανεπιστημιακή Νευροχειρουργική Κλινική Νοσοκομείου ΑΧΕΠΑ, Θεσσαλονίκη,

Οι ελεύθερες ρίζες προκαλούν βλάβες σε σημαντικά βιομόρια και έχουν συσχετιστεί με την παθογένεια σοβαρών νόσων. Η χορήγηση αντιοξειδωτικών ως μέρος της θεραπευτικής αγωγής προτείνεται σε πολλές περιπτώσεις. Από την άλλη, αυξημένη συγκέντρωση ελευθέρων ριζών μπορεί να παρατηρείται ως αποτέλεσμα μιας ανωμαλίας που οδηγεί σε υπερπαραγωγή ελευθέρων ριζών ή μειωμένη αποτελεσματικότητα του ενδογενούς συστήματος προστασίας από ελεύθερες ρίζες. Καθώς, τα επίπεδα αντιοξειδωτικών στο αίμα αποτελούν μέτρο της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του οργανισμού θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως ένας επιπλέον δείκτης για την πρόγνωση ή διάγνωση ορισμένων ασθενειών. Η κήλη μεσοσπονδύλιου δίσκου (ΚΜΣ) είναι αποτέλεσμα πρόπτωσης του πηκτοειδούς πυρήνα που μπορεί να προκληθεί από διάφορα αίτια και συνοδεύεται από αύξηση των επιπέδων μονοξειδίου του αζώτου στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό η οποία πιστεύεται ότι σχετίζεται με το μηχανισμό ανάπτυξης της νόσου. Ωστόσο, απ' όσο μας είναι γνωστό, καμία προσπάθεια συσχέτισης των επιπέδων ολικών αντιοξειδωτικών στο αίμα με αυτές τις παθολογικές καταστάσεις δεν έχει αναφερθεί. Στην παρούσα εργασία μετρήσαμε τα επίπεδα ολικών αντιοξειδωτικών στον ορό 15 ασθενών με κήλη μεσοσπονδύλιου δίσκου. Τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με δείγμα 42 υγείων ατόμων ίδιας ηλικίας. Για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του ορού προσδιορίστηκε η επίδραση 10 μl ορού στην οξείδωση του 2,2'-αζινο-δισ(3-αιθυλβενζοθειαζόλινο)-6-σουλφονικού οξέος από το σύστημα ferryl μνοσφαιρίνης-H₂O₂. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε το trolox. Η συγκέντρωση αντιοξειδωτικών εκφράστηκε ως ισοδύ-ναμα trolox. Τα αποτελέσματα έδειξαν σημαντική μείωση (31%, p=0.000) στα επίπεδα ολικών αντιοξειδωτικών στον ορό ασθενών με ΚΜΣ.

EVALUATION OF SERUM ANTIOXIDANTS IN PATIENTS SUFFERING FROM DISC HERNIATION

Eleftheriou F.¹, Lyberaki E.², Makri S.², Serasidou A., Patsalas I.³, Selviarides P.³, Petrou C.¹

¹*Department of Medical Laboratory Studies, School of Health and Care Professions, Alexandrion Technological Education Institute of Thessaloniki, Greece. patsalas@auth.gr*

²*Department of Pharmaceutical Chemistry, School of Pharmacy, University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece. ³Nurosurgical Department. AHEPA Hospital, Thessaloniki, Greece.*

Free radicals can cause damage to lipids, proteins and DNA and they are thought to be involved in the pathogenesis of various diseases. Treatment with antioxidants is often proposed as part of the therapy. On the other hand, free radicals may increase as a result of a disorder which leads to specific radical overproduction or diminished effectivity of the endogenous defence system. As, blood antioxidant levels reflect the organism's antioxidant capacity, these levels may be used as an extra indicator for diagnosis or prognosis of certain diseases. Disc herniation occurs when the nucleus pulposus is pushed to the wall of the disc forcing the disc out of its space, due to various reasons. Elevated nitric oxide (NO) production has been shown in cerebrospinal fluid (CSF) in patients with chronic spinal diseases including disc herniation. NO radical is believed to be involved in disease progression. However, correlation of these diseases with total blood antioxidants has not been mentioned in the literature. In the present study, we measured the level of total blood antioxidants in blood serum of 15 patients suffering from disc herniation. The results were compared with a sample of 42 healthy individuals of the same age. Antioxidant activity was estimated by the influence of 10 µl of serum in oxidation of 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid by the ferryl myoglobin-H₂O₂ system. Trolox, was used as control. Antioxidant concentration was expressed as trolox equivalents. The results showed considerable decrease (31%, p=0.000) in concentration of total serum antioxidants in patients suffering from disc herniation.

References

1. Rice-Evans, C.A. Free Radic. Res. 33 Suppl. (2000) S59-66.
2. Yasumasa Yumite, Kazuhiro Takeuchi, Yoshiaki Harada, Norio Ogawa, Hajime Inoue. Acta Med. Okayama (2001) 55, 219-228.

**IN VIVO ΕΠΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ
ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΣΚΙΤΙΚΟΥ ΥΓΡΟΥ ΕΝΑΝΤΙ ΑΥΤΟΛΟΓΩΝ
ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΩΟΘΗΚΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ**

**Ευαγγελινός Ν.^{1,3*}, Μαυροθαλασσίτη Η.^{1*}, Τσιατάς Μ.², Σκοπελίτη Μ.¹,
Ιωάννου Κ.¹, Βουτσάς Ι.¹, Μπάμιας Α.², Τσιτσιλώνη Ο.¹**

¹Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ²Θεραπευτική Κλινική, Νοσ.
«Αλεξάνδρα», Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ,, ³Υπότροφος του ΙΚΥ, *Ισότιμη συμμετοχή

Ο καρκίνος των ωοθηκών συχνά οδηγεί στη δημιουργία ασκίτικου υγρού όπου συνήθως ανευρίσκονται ογκοειδικά Τ κύτταρα, με μειωμένη κυτταροτοξικότητα έναντι των αυτόλογων καρκινικών κυττάρων. Ανοσοθεραπευτικά πρωτόκολλα χορήγησης ανοσοτροποποιητών που επάγουν την λυτική ικανότητα των λεμφοκυττάρων θα ήταν χρήσιμα. Σε *in vitro* καλλιέργειες MLTC, είδαμε ότι η προθυμοσίνη α (προΤα) και το πεπτίδιο προΤα(100-109) ενισχύουν την κυτταροτοξικότητα των NK, Τ και NK-Τ κυττάρων ασκίτικου υγρού. Για να μελετήσουμε την αποδοτικότητα του πρωτοκόλλου *in vivo*, απομονώσαμε καρκινικά κύτταρα από ασκίτη 5 ασθενών και τα ενοφθαλμίσσαμε υποδορίζως σε ανοσοανεπαρκή ποντίκια (SCID). Για 3 ασθενείς αναπτύχθηκαν όγκοι ικανού μεγέθους, που εκ νέου ενοφθαλμίσθηκαν υποδόρια σε SCID ζώα (0,1-1x10⁶ κύτταρα/ζώο). Όταν οι όγκοι ήταν ψηλαφητοί, χορηγήθηκαν ενδοπεριτοναϊκά ανά 7 ημέρες αυτόλογα λεμφοκύτταρα της κάθε ασθενούς (5-15x10⁶/ζώο), ενεργοποιημένα *ex vivo* με προΤα ή προΤα(100-109). Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι σε 1 από τις 3 ομάδες η χορήγηση ενεργοποιημένων λεμφοκυττάρων μείωσε το ρυθμό ανάπτυξης του όγκου κατά 40% και 25%, αντίστοιχα, ενώ στις άλλες 2 το ποσοστό ήταν <20%. Επίσης, η προΤα και σε μικρότερο βαθμό το προΤα(100-109) προκάλεσαν μικρή παράταση της επιβίωσης των ζώων. Συγκρίνοντας τα *in vivo* και *in vitro* δεδομένα των ίδιων δειγμάτων, πιθανολογούμε ότι η μειωμένη ανάπτυξη των όγκων οφείλεται στην επαγόμενη από τα πεπτίδια συνδυαστική κυτταροτοξικότητα των ειδικών Τ κλώνων και των NK ή/και NK-Τ κυττάρων έναντι των αυτόλογων καρκινικών. Η ανάπτυξη παρόμοιων πρωτοκόλλων ανοσοθεραπείας όπου θα ελεγχθεί *ex-vivo* η απαντητικότητα των σπληνοκυττάρων των ζώων με παρατεταμένη επιβίωση, ίσως επιτρέψει την εφαρμογή ανάλογων πρωτοκόλλων σε προκλινικό επίπεδο.

Χρηματοδότηση: Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο και Εθνικοί Πόροι (ΕΠΕΑΕΚ II), Πρόγραμμα ΠΥΘΑΓΟΡΑΣ II και ΜΔΕ «Κλινική Βιοχημεία-Μοριακή Διαγνωστική»

**IN VIVO INDUCTION OF THE ANTICANCER EFFICACY OF ASCITIC
FLUID-DERIVED LYMPHOCYTES AGAINST AUTOLOGOUS OVARIAN
CANCER CELLS**

**Evangelinos N.^{1,3,*}, Mavrothalassiti H.^{1*}, Tsiatas M.², Skopeliti M.¹,
Ioannou K.¹, Voutsas I.¹, Bamias A.², Tsitsilonis O.¹**

¹Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, ²Therapeutic Clinic, "Alexandra"
Hosp., School of Medicine, University of Athens, ³IKY fellowship,
*equal contribution

Ovarian cancer often leads to the development of ascites, in which tumor- specific T cells with decreased cytotoxicity against the autologous cancer cells are usually localized. Immunotherapeutic protocols based on the administration of immune modulators inducing the lytic ability of lymphocytes could be useful. In *in vitro* MLTC cultures, we observed that prothymosin α (proT α) and the peptide proT α (100-109) enhance the cytotoxicity of ascitic fluid- NK, T and NK-T cells. In order to study the efficacy of our protocol *in vivo*, we isolated cancer cells from ascites of 5 patients and inoculated them subcutaneously in immunodeficient mice (SCID). From 3 patients, tumors of significant size were developed, which were subsequently inoculated subcutaneously in new SCID mice (0,1-1x10⁶ cells/mouse). When tumors were palpable, autologous lymphocytes from each patient (5-15x10⁶ cells/mouse), *ex vivo* activated with proT α or proT α (100-109), were intraperitoneally injected every 7 days. Our results showed that in 1 of the 3 groups, administration of activated lymphocytes decreased the rate of tumor growth by 40% and 25%, respectively, while in the remaining 2 groups the percentage was <20%. Furthermore, proT α and to a lesser degree proT α (100-109) caused a small prolongation of murine survival. Comparing the *in vivo* and *in vitro* data of the same samples, we speculate that the decreased tumor growth is due to a combined, peptide-induced cytotoxicity of specific T cell clones and NK and/or NK-T cells against autologous cancer cells. The generation of similar immunotherapeutic protocols, in which we will investigate the *ex-vivo* responsiveness of spleen cells of mice with extended survival, may allow their future application at preclinical level.

Funding: Co-funded by the European Social Fund and National Resources (EPEAEK II), Research Grant PYTHAGORAS II and MSc in "Clinical Biochemistry -Molecular Diagnostics"

ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΧΗΜΙΚΩΝ ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΤΟΥ ΥΠΕΡΙΤΗ ΤΟΥ ΑΖΩΤΟΥ

Ευθυμίου Μ.¹, Στεφάνου Γ.¹, Δημόπουλος Ν.Α.¹, Νικολαρόπουλος Σ.Σ.²

¹ Τμήμα Βιολογίας, E-Mail: geosteph@biology.upatras.gr

² Τμήμα Φαρμακευτικής, E-Mail: snikolar@upatras.gr

Πανεπιστήμιο Πατρών, 265 00 Πάτρα

Πρόσφατα έχει δειχθεί ότι οι υπερίτες του αζώτου μελφαλάνη (MEL), χλωραμπουκίλη (CAB) και φαινυλοξικό οξύ (PHE) πέραν της θραυσματογόνου δράσης προκαλούν φαινόμενα χρωμοσωματικής καθυστέρησης και μη αποχωρισμού μέσω τροποποιήσεων της μιτωτικής συσκευής. Πραγματοποιήθηκε σύγκριση της γενετικής δράσης των παραπάνω δραστικών αντινεοπλασματικών ενώσεων με αυτή δύο νέων στεροειδικών αναλόγων του PHE, τα EA-92 και EA-97, τα οποία σχεδιάστηκαν με στόχο την αύξηση της εκλεκτικότητας της αντινεοπλασματικής δράσης. Η διερεύνηση της γενετικής τους δράσης πραγματοποιήθηκε σε ανθρώπινα λεμφοκύτταρα *in vitro* με τη μέθοδο αναστολής της κυτταροκίνησης CBMN και τον προσδιορισμό της συχνότητας των μικροπυρήνων (MN) σε συνδυασμό με τη μέθοδο FISH. Επιβεβαιώθηκε η θραυσματογόνος και ανευπλοειδογόνος δράση των πρώτων, ενώ φάνηκε ότι οι EA-92 και EA-97 προκαλούν αποκλειστικά χρωμοσωματική θραύση. Η επαγωγή των MN μελετήθηκε επίσης σε κύτταρα ποντικού C₂C₁₂ σε συνδυασμό με τη μέθοδο CREST. Επιβεβαιώθηκε η διπλή δράση των MEL, CAB και PHE. Οι EA-92 και EA-97 είναι ηπιότεροι επαγωγείς MN και παρουσιάζουν κυρίως χρωμοσωματική θραύση, ενώ ήπια ανευπλοειδογόνο δράση παρουσίασε μόνο η EA-92. Ακολούθησε μελέτη της μιτωτικής συσκευής με διπλό ανοσοφθορισμό για τη β- και γ- τουμπουλίνη και παρατηρήθηκε ότι οι τέσσερις από τις πέντε ενώσεις, εκτός της EA-97, προκαλούν τη δημιουργία κυττάρων με ανώμαλο αριθμό κεντροσωμάτων. Τα παραπάνω αποτελέσματα είναι σε συμφωνία με τα προηγούμενα και υποστηρίζουν ότι η ανευπλοειδογόνος δράση των τεσσάρων ενώσεων αποδίδεται στην ικανότητά τους να τροποποιούν τον κεντροσωματικό αριθμό. Επιπλέον φαίνεται ότι η χημική ιδιοσύσταση των EA-92 και EA-97 οδηγεί σε μειωμένη γενετική δράση, ιδιαίτερα μειώνει ή και αναιρεί την ανευπλοειδογόνο δραστηριότητα τους, σε συνδυασμό με τα διαφορετικά κύτταρα, ανθρώπου και ποντικού, που πραγματοποιήθηκε η μελέτη.

COMPARATIVE STUDY OF GENETIC ACTIVITY OF NITROGEN MUSTARD ANALOGUES

Efthimiou M.¹, Stephanou G.¹, Demopoulos N.A.¹, Nikolaropoulos S.S.²

¹ *Department of Biology, E-Mail: geosteph@biology.upatras.gr*

² *Department of Pharmacy, E-Mail: snikolar@upatras.gr,
University of Patras, 265 00 Patras, Greece*

Recent findings of our group have shown that nitrogen mustard analogues, melphalan (MEL), chlorambucil (CAB) and phenylacetic acid (PHE), in addition to their clastogenic activity, affect chromosome segregation due to modifications of mitotic apparatus. In the present study an effort was made to further investigate the activity of MEL, CAB and PHE in comparison with two new steroidal analogues of PHE, EA-92 and EA-97, which were designed aiming at most effective antineoplastic activity. Cytokinesis Block MicroNucleus assay (CBMN) was used in human lymphocytes *in vitro* and the micronucleus (MN) frequency was determined to investigate their genetic activity. Comparative study of MEL, CAB and PHE with steroidal analogues by using CBMN/FISH in human lymphocyte cultures had confirmed the clastogenic as well as aneugenic activity of the first compounds and had shown that EA-92 and EA-97 are slighter inducers of MNi that are exclusively coming by chromosome breakage. Further analysis in a different biological system, the C₂C₁₂ mouse cell line by using CREST method, strengthened the previous findings about the dual genetic activity of MEL, CAB and PHE. In relation to the steroidal analogues, it has been shown that EA-92 and EA-97 cause lower MN induction. The MNi induced by EA-97 are due to clastogenic activity only, while EA-92 induced MNi is the result mainly of chromosome breakage and in a lesser extent of chromosome delay. Analysis of mitotic spindle (microtubule network and centrosome number) by double immunofluorescence of β - and γ -tubulin in C₂C₁₂ mouse cells showed that all tested compounds, except EA-97, affect centrosome number by inducing polypolar metaphases, a phenomenon that may affect chromosome segregation. This observation is in agreement with the CREST analysis findings and demonstrate that the induced aneuploidy may generated by centrosome number disturbances. In addition, the chemical constitution of EA-92 and EA-97 decreases the genetic activity due to reduction or elimination of the aneugenic activity, depending on the treated cell system.

**ΕΞΑΠΛΩΣΗ ΚΑΙ ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *Coridothymus capitatus* (L.)
Reichenb. fil. (κν. θυμάρι, θρουμπί) ΣΤΗΝ ΕΠΑΡΧΙΑ ΠΑΦΟΥ ΤΗΣ ΚΥΠΡΟΥ**

Ευσταθίου Χ., Καρούσου Ρ.

*Εργαστήριο Συστηματικής Βοτανικής & Φυτογεωγραφίας, Τμήμα Βιολογίας,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 541 24 Θεσσαλονίκη,
E-mail: karousou@bio.auth.gr*

Η επαρχία Πάφου βρίσκεται στη δυτική Κύπρο και εκτείνεται σε τρεις από τις οκτώ φυσικές φυτογεωγραφικές περιοχές του νησιού. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η εξάπλωση του *Coridothymus capitatus* στην περιοχή και εκτιμήθηκε η περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο δειγμάτων από διαφορετικές περιοχές. Το *C. capitatus* είναι ευρέως εξαπλωμένο στην επαρχία Πάφου σε υψόμετρο 0 – 700 m. Βρέθηκε κυρίως σε φρύγανα, αλλά και σε μακκί και παρυφές καλλιεργειών και δρόμων. Συνολικά προστέθηκαν στην εξάπλωση του είδους 22 νέες περιοχές διάσπαρτες στην επαρχία. Η περιεκτικότητα των φύλλων σε αιθέριο έλαιο παρουσίασε εύρος διακύμανσης 0,69 – 2,52 % (ml/100g ξηρού βάρους), ενώ σε ολόκληρο το υπέργειο τμήμα του φυτού 0,2 – 0,84 %. Παρατηρήθηκε μείωση της περιεκτικότητας σε αιθέριο έλαιο με την αύξηση του υψομέτρου.

DISTRIBUTION AND ESSENTIAL OIL CONTENT OF *Coridothymus capitatus* (L.) Reichenb. fil. IN PAFOS DISTRICT (CYPRUS)

Efstathiou C., Karousou R.

Laboratory of Systematic Botany & Phytogeography, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki 541 24 Thessaloniki, E-mail: karousou@bio.auth.gr

Pafos district is located at the western part of Cyprus and extends in three of the eight natural phytogeographical divisions of the island. In the present work the distribution of *Coridothymus capitatus* in the area is studied and the essential oil content of samples collected in different localities is estimated. *C. capitatus* is widely distributed in Pafos, at altitudes between sea level up to 700 m. It was mainly found in phrygas, but also in maquis as well as in cultivation and road edges. A total of 22 new localities were added to the known distribution of the species. The oil yield was ranging from 0.69 up to 2.52 % (ml/100g dry weight) in the leaves and from 0.2 to 0.84 % in the total aerial parts of the plant. A gradual decrease in the essential oil content was observed towards the higher altitudes.

**ΜΟΡΙΑ ΤΗΣ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΑΣ ΟΥΣΙΑΣ ΟΡΓΑΝΩΝΟΥΝ
ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΠΡΩΙΜΟΥ ΕΜΒΡΥΟΥ**

Ζάγκρης Ν.*

*Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρων και Ανάπτυξης, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο
Πατρών, Πάτρα. E-mail: zagris@upatras.gr*

Μόρια της εξωκυττάριας ουσίας όπως τα λαμινίνη, εντακτίνη, κολλαγόνο και περλε- κάνη, αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και σχηματίζουν ένα σταθερό και πολυλειτουργικό δίκτυο. Τα μόρια αυτά αλληλεπιδρούν άμεσα με υποδοχείς της κυτταρικής επιφάνειας και εκκινούν μονοπάτια μεταγωγής σήματος και επίσης διαμορφώνουν εκείνα τα μονο-πάτια που εκκινούνται με αυξητικούς παράγοντες. Η ρύθμιση των αλληλεπιδράσεων αυτών απαιτεί τον συντονισμό σημάτων χώρο-χρονικά κατά την ανάπτυξη του εμβρύου. Οι αλληλεπιδράσεις των κυττάρων με τα μόρια της εξωκυττάριας ουσίας ενεργοποιούν ποικίλα μονοπάτια μεταγωγής σήματος και έχουν ως αποτέλεσμα τις πλειοτροπικές αποκρίσεις των κυττάρων όπως προσκόλληση, μετανάστευση, πολλαπλασιασμό, καθορισμό και διαφοροποίηση, επιβίωση και τη μορφογένεση των ιστών και οργάνων. Καθώς έχει γίνει πλέον φανερό ότι τα μόρια της εξωκυττάριας ουσίας είναι μορφορυθμιστικά, η μελέτη τους είναι τώρα στο επίκεντρο του ενδιαφέροντος στο πεδίο της Αναπτυξιακής-Μοριακής Βιολογίας.

Η εργασία αυτή χρηματοδοτήθηκε από το Πρόγραμμα European Social Fund, Operational Program for Educational/ Vocational Training II (ΕΡΕΑΕΚ II) και ειδικότερα το Πρόγραμμα «ΠΥΘΑΓΟΡΑΣ II» και από το Πρόγραμμα «Κ. Καραθεοδωρή» του Πανεπιστημίου Πατρών (B.397).

* Προσκεκλημένος ομιλητής

THE EXTRACELLULAR MATRIX ORGANIZES THE DEVELOPMENT OF THE EARLY EMBRYO

Zagris N. *

*Department of Biology, University of Patras, Patras 26500, Greece
E-mail: zagris@upatras.gr*

Extracellular molecules such as perlecan, laminin and entactin are linked to one another by multiple binding domains and form a stable, multifunctional matrix. Cells respond to the extracellular matrix through plasma membrane receptors, which include integrin and non-integrin receptors. The regulation of these interactions requires the coordination of a multiplicity of signals both spatially and temporally. The extracellular matrix interacts with cells and is an important regulator of cellular functions such as adhesion, migration, proliferation, differentiation and morphogenesis.

Supported by grants from the European Social Fund (ESF), Operational Program for Educational and Vocational Training II (EPEAEK II) particularly the Program "PYTHAGORAS II" and from the University of Patras ("K. Karatheodoris" grant B. 397).

** Invited speaker*

**ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΣΚΕΛΕΤΙΚΩΝ ΜΥΟΒΛΑΣΤΩΝ - ΕΠΑΓΩΓΗ ΤΟΥ
ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ HOX-1 ΑΠΟ ΤΟ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΣΕ ΠΛΗΡΩΣ
ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΜΥΟΚΥΤΤΑΡΑ**

Ζαντέ Δ.¹, Γαϊτανάκη Κ.², Μπέης Ι.³

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπων, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστιμιούπολη
Ιλίσσια, 157 84 Αθήνα*

¹ dimitrazan@yahoo.com; ² cgaitanaki@biol.uoa.gr; ³ ibeis@biol.uoa.gr

Μελετήθηκε η πορεία διαφοροποίησης σκελετικών μυοβλαστών ποντικού και η απόκριση στην επίδραση οξειδωτικού στρες μετά την πλήρη διαφοροποίησή τους. Συγκεκριμένα, έγινε επαγωγή της διαφοροποίησης των κυττάρων με μείωση του περιεχομένου του θρεπτικού μέσου σε ορό από 15 σε 2% για χρονικό διάστημα 5 ημερών. Ως δείκτης της διαφοροποίησης χρησιμοποιήθηκε η μυογενίνη, πρωτεΐνη η οποία σύμφωνα με βιβλιογραφικά δεδομένα αποτελεί ρυθμιστικό παράγοντα της μυογένεσης. Σε πρώτη φάση, με χρήση ανοσοκυτταροχημικών τεχνικών παρατηρήθηκε ο σχηματισμός μυοσωλήνων, από την 3^η ημέρα διαφοροποίησης, καθώς και η υποκυτταρική κατανομή της μυογενίνης και βρέθηκε σταδιακή μετατόπιση της πρωτεΐνης από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα. Η κατανομή της μυογενίνης εξετάστηκε επίσης με ανοσοδοκιμασία κατά Western τόσο στα κυτταροπλασματικά όσο και τα πυρηνικά δείγματα. Παρατηρήθηκε ότι η πρωτεΐνη εντοπίζεται στον πυρήνα κυρίως τις 2 πρώτες ημέρες, στο κυτταρόπλασμα παρουσιάζει μέγιστο μεταξύ της 3^{ης} και 4^{ης} ημέρας διαφοροποίησης, ενώ την 5^η ημέρα τα επίπεδα της μυογενίνης μειώνονται. Στη συνέχεια εξετάστηκε η απόκριση των πλήρως διαφοροποιημένων μυοκυττάρων στο οξειδωτικό στρες. Επίδραση με H₂O₂ σε συγκεντρώσεις 100, 500 και 1000μM έδειξε αυξανόμενη επαγωγή του γονιδίου της οξυγενάσης της αίμης (HOX-1), υποδηλώνοντας την ενεργοποίηση ενός προστατευτικού μηχανισμού ο οποίος από προηγούμενες έρευνες της ομάδας μας έχει δειχθεί να λειτουργεί με τον ίδιο τρόπο στα αδιαφοροποίητα κύτταρα της ίδιας σειράς. Ακόμη, εξετάστηκε η επίδραση της αντιοξειδωτικής βιταμίνης E στην έκφραση του γονιδίου της οξυγενάσης της αίμης σε συνθήκες οξειδωτικού στρες, καθώς και η πιθανή συμμετοχή της p38-MAPK με χρήση του ειδικού αναστολέα της SB203580.

SKELETAL MYOBLAST DIFFERENTIATION - INDUCTION OF THE HOX-1 GENE BY OXIDATIVE STRESS IN TERMINALLY DIFFERENTIATED MYOCYTES

Zante D.¹, Gaitanaki C.², Beis I.³

Dept. of Animal and Human Physiology, School of Biology, University of Athens, Panepistimioupolis Ilissia, 157 84 Athens

¹dimitrazan@yahoo.com; ²cgaitanaki@biol.uoa.gr; ³ibeis@biol.uoa.gr

We studied the differentiation course of rat skeletal myoblasts and the response to oxidative stress after they were terminally differentiated. Differentiation was induced by reducing the serum content of the growth medium from 15 to 2% for a 5-day period. Myogenin was considered as a differentiation marker; a protein which according to bibliography is a myogenesis regulative factor. Initially, using immunocytochemistry techniques, myotube formation was observed (starting on the 3rd day) as well as the subcellular distribution of myogenin, which was found to gradually translocate from the nucleus to the cytoplasm. The subcellular distribution of myogenin was also studied in nuclear and cytoplasmic extracts using the Western Blotting technique. As noticed, the protein is present in the nucleus mostly during the 1st and 2nd day, in the cytoplasm maximum accumulation is shown between the 3rd and 4th day, while in the 5th day myogenin levels drop. Moreover, we studied the response of terminally differentiated myocytes to oxidative stress. Treatment with H₂O₂ in the concentrations of 100, 500 and 1000 μM caused up-regulation of the heme oxygenase (HOX-1) gene, implying activation of a protective mechanism which has been shown to be activated similarly in non-differentiated cells of this cell line by previous studies of our lab. We also studied the effects of antioxidative vitamin E on the expression of the heme oxygenase gene under oxidative stress, as well as the possible involvement of the p38-MAPK, using its inhibitor SB203580.

**ΠΙΛΟΤΙΚΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΜΙΚΡΟΠΥΡΗΝΩΝ
ΣΕ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΑ ΨΑΡΙΩΝ *Carassius auratus auratus***

Ζαχαράκη Τ., Κωστελλέτου Μ., Βλαστός Δ.*

*Τμήμα Διαχείρισης Περιβάλλοντος και Φυσικών Πόρων, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων,
Γ. Σεφέρη 2-30100 Αγρίνιο, *E-mail: dvlastos@cc.uoi.gr*

Τα τελευταία χρόνια, η τεχνική των μικροπυρήνων (micronuclei, MN) αναπτύχθηκε σε ερυθροκύτταρα ψαριών στην προσπάθεια ανίχνευσης γενετοξικά δραστικών παραγόντων που πιθανά απαντώνται σε υδάτινα οικοσυστήματα. Η ανίχνευση MN στα εμύρηνα ερυθροκύτταρα των ψαριών, μετά από έκθεση τους σε διάφορους γενετοξικούς παράγοντες *in vivo* και *in situ*, αποτελεί δείκτη γενετοξικής δράσης του παράγοντα ή των παραγόντων που τους επάγει. Οι MN, σχηματίζονται από τη συμπύκνωση άκεντρων χρωμοσωμικών θραυσμάτων ή από ολόκληρα χρωμοσώματα που δεν ενσωματώθηκαν στον κυρίως πυρήνα κατά την ανάφαση. Οι MN στα ψάρια είναι μικρότεροι σε μέγεθος (1/10 έως 1/30 του μεγέθους του κύριου πυρήνα) συγκρινόμενοι με τα μεγέθη των μικροπυρήνων σε ανθρώπινα κύτταρα ή κύτταρα τρωκτικών. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 33 ψάρια, 14 ως αρνητικοί μάρτυρες και 19 ως θετικοί μάρτυρες στην ουσία κυκλοφωσφαμίδιο (cyclophosphamide, CP). Δοκιμάστηκαν διάφορες παραλλαγές στην αναισθητοποίηση των ψαριών, στο χειρισμό τους κατά την αιμοληψία καθώς και στο πρωτόκολλο έκθεσης στο θετικό μάρτυρα που χρησιμοποιήθηκε. Αναλύθηκαν 28000 ερυθροκύτταρα στους μάρτυρες και η συχνότητα (‰) των μικροπυρήνων (0.46 ± 0.12) που προσδιορίστηκε, αντιστοιχεί στα βιβλιογραφικά δεδομένα της φυσικής επαγωγής μικροπυρήνων σε διάφορα είδη ψαριών, η οποία κυμαίνεται μεταξύ 0 και 3 ‰. Επίσης αναλύθηκαν 8000 και 16000 ερυθροκύτταρα από ψάρια στα οποία πραγματοποιήθηκε στοματική χορήγηση και συνεχής έκθεση, αντίστοιχα, σε διαφορετικούς χρόνους και συγκεντρώσεις CP. Η συχνότητα (‰) των μικροπυρήνων που προσδιορίστηκε ήταν (3.38 ± 0.38) και (1.43 ± 0.26) αντίστοιχα. Η συμβολή της παρούσας μελέτης στο σχεδιασμό πειραμάτων προσδιορισμού και ανίχνευσης μικροπυρήνων σε ερυθροκύτταρα βρώσιμων ψαριών μετά από έκθεση τους σε πιθανούς γενετοξικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες κρίνεται ιδιαίτερα σημαντική.

**PILOT EXPERIMENTS IN DETECTING MICRONUCLEI IN THE
ERYTHROCYTES OF FISH *Carassius auratus auratus***

Zacharaki T., Kostelletou M., Vlastos D.*

*Department of Environmental and Natural Resources Management,
University of Ioannina, Seferi 2, 30100 Agrinio, *E-mail: dolastos@cc.uoi.gr*

In recent years the micronucleus (MN) assay has been developed in the erythrocytes of fish in an effort to detect genotoxic drastic factors, which are possibly present in aquatic ecosystems. The detection of MN in nucleated erythrocytes of fish after their exposure to different kinds of genotoxic factors in vivo and in situ constitutes an indicator of genotoxic activity of the factor or the factors that induces it. MN contains acentric chromosome fragments or whole chromosomes and they are the result of chromosome breakage and/or chromosome loss due to lagging chromosomes during anaphase of mitosis. MN in fish is smaller in size (from 1/10 to 1/30 of the size of the main nucleus) in comparison to the sizes of micronuclei in human cells or in the cells of rodents. In the present study 33 fish were used in the experiments, 14 as negative controls and 19 as positive controls to the substance cyclophosphamide (CP). Different variations were tested in the anesthetizing of fish, as well as in their handling during the blood taking process as well as in the protocol of the exposure on the positive control which was used. 28000 erythrocytes were analyzed in the controls and the frequency (‰) of the micronuclei (0.46 ± 0.12) which was determined corresponds to the literature data, of the natural induction of micronuclei in a variety of fish species, which ranges from 0 to 3 ‰. 8000 and 16000 erythrocytes of fish were analyzed where the oral administration process and continuous exposure was carried out at different treatment schedules and concentrations of CP. The frequency (‰) of the micronuclei which was determined was (3.38 ± 0.38) and (1.43 ± 0.26) correspondingly. The contribution of the present study in the planning of experiments determining and detecting micronuclei in the erythrocytes of edible fish after their exposure to potential genotoxic environmental factors is considered extremely important.

***In vivo* ΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ Ν-ΑΚΕΤΥΛΟ-ΚΥΣΤΕΪΝΗΣ (NAC) ΕΝΑΝΤΙΑ
ΣΤΗΝ ΕΠΙΑΓΟΜΕΝΗ ΑΠΟ ΤΗ ΧΛΩΡΑΛΗ ΒΡΑΔΥΚΑΡΔΙΑ ΣΤΟΝ ΕΠΙΜΥ**

Ζεμπελτζή Μ., *Καραγιαννίου Η., Παπαευθυμίου Χ. και Γ. Θεοφιλίδης

*Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, E-mail: mzempelt@bio.auth.gr*

Η Ν-ακετυλο-κυστεΐνη (NAC) είναι παράγωγο του αμινοξέος L-κυστεΐνη και πρόδρομη μορφή της γλουταθειόνης. Η NAC είναι δότης σουλφυδρυλομάδων (-SH) και δρα ως αντιοξειδωτικός παράγοντας εξουδετερώνοντας τις ελεύθερες ρίζες. Καταστάσεις οξειδωτικού στρες αποτελούν αιτία καρδιακής δυσλειτουργίας και μελέτες για την NAC υποδεικνύουν θεραπευτικό ρόλο στις καρδιακές ασθένειες, όπως στην ισχαιμία και χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια ^{1,2}. Σκοπός της εργασίας είναι η αξιολόγηση της δράσης της NAC στο καρδιακό σύστημα του επίμυ. Η μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε περιλαμβάνει αναισθησία με ένυδρη χλωράλη 0.04% (w/w), ανατομία για την έκθεση των καρωτιδικών αρτηριών και συνεχή καταγραφή του ηλεκτροκαρδιογραφήματος (ΗΚΓ). Οι καταγραφές έγιναν για 90 λεπτά μετά την έγχυση της NAC στην καρωτιδική αρτηρία. Διαπιστώθηκαν τα ακόλουθα: α) στους μάρτυρες (αναισθησία μόνο με χλωράλη) παρατηρήθηκε μέγιστη αύξηση της περιόδου του καρδιακού ρυθμού (βραδυκαρδία) κατά $57 \pm 20.75\%$ (n=3) β) έγχυση NAC 5mg/100g προκάλεσε μέγιστη αύξηση της περιόδου κατά $73.51 \pm 21.82\%$, στατιστικά μη σημαντική σε σχέση με τον μάρτυρα ($p > 0.05$, n=5) γ) έγχυση NAC 15 mg/100g προκάλεσε μόνο μια αύξηση της περιόδου κατά $9.75 \pm 4.76\%$ ($p < 0.05$, n=5). Συμπερασματικά, η NAC *in vivo*, σε μικρές συγκεντρώσεις, 5mg/100g, ενδέχεται να μεταβολίζεται από τον οργανισμό και δεν προστατεύει από την προκαλούμενη από την χλωράλη βραδυκαρδία με αύξηση στην περίοδο της τάξης 50-70%. Αντίθετα σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις, 15mg/100g, λειτουργεί καρδιοπροστατευτικά ενάντια στην βραδυκαρδία της χλωράλης, αυξάνοντας την περίοδο μόνο κατά 9%. Επίσης, για την τελική εκτίμηση της καρδιοπροστασίας ή καρδιοτοξικότητας, που ενδέχεται να επάγει η Ν-ακετυλο-κυστεΐνη, πρέπει να γίνουν συνδυασμένες μελέτες *in vitro* και *in vivo*.

¹Dhalla et al., 2000. Cardiovascular Research 47, 446-56.

²Adamy et al., 2007. Journal of Molecular and Cellular Cardiology 43(3), 344-53.

**Ισοδύναμη συμμετοχή των συγγραφέων*

**IN VIVO CARDIOPROTECTIVE PROPERTIES OF N-ACETYL-L-CYSTEINE
(NAC) AGAINST CHLORAL-INDUCED BRADYCARDIA IN RAT**

Zempeltzi M.*, Karagianniou I., Papaefthimiou C., and G. Theophilidis

*Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology,
Aristotle University of Thessaloniki E-mail: mzempelt@bio.auth.gr*

N-Acetyl-L-cysteine (NAC), a derivative from the amino acid L-cysteine, is a precursor of glutathione. NAC as a donor of sulfhydryl groups (-SH) has antioxidant properties and is able to neutralize free radicals. Oxidative stress can cause heart dysfunctions and several studies suggest that NAC has therapeutic role in heart diseases such as ischemia and chronic heart failure^{1,2}. The aim of this study is to assess the effect of NAC in cardiac system of the rat. The methodology includes anesthesia with chloral hydrate 0.04% (w/w), anatomy in order to expose carotidic arteries and continuous recording of ECG. The recordings were made constantly for 90 min after the intracarotid injection of NAC. The main findings show the following: a) there was a maximum increase, $57 \pm 20.75\%$ (n=3), in the period of cardiac rhythm (R-R), 60 min after initiation of recordings in rats exposed only to chloral (control), b) NAC at 5 mg/100g caused a $73.51 \pm 21.82\%$ (n=5) increase in R-R, which was not significant different compared to control ($p>0.05$) c) 15mg/100g NAC caused only a $9.75 \pm 4.76\%$ ($p< 0.05$, n=5) indicating that NAC reversed chloral-induced bradycardia. In conclusion, NAC *in vivo*, at low concentrations, 5mg/100g, is probably metabolized and it is not cardioprotective against chloral-induced bradycardia, that increases the period 50 -70%. On the contrary at 3-fold higher concentration, 15mg/100g, NAC became cardioprotective against chloral-induced bradycardia, causing only 9% increase in period. Further combined studies *in vitro* and *in vivo* are required to establish the effects of NAC on the cardiovascular system.

¹Dhalla et al., 2000. Cardiovascular Research 47, 446-56.

²Adamy et al., 2007. Journal of Molecular and Cellular Cardiology 43(3), 344-53.

**The first two authors contributed equally to the work*

ΕΜΠΛΟΚΗ ΤΩΝ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΩΝ ΜΟΝΟΠΑΤΙΩΝ ΤΩΝ JNKs ΚΑΙ ΤΗΣ p38-MARK ΣΤΙΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΤΗΣ ΚΑΡΔΙΑΣ ΤΩΝ ΑΜΦΙΒΙΩΝ ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΕΝΤΟΝΗΣ ΟΞΕΩΣΗΣ

Ζηκάκη Κ.¹, Σταθοπούλου Κ.², Γαϊτανάκη Κ.³, Μπέης Ι.⁴

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιούπολη
157 84, Αθήνα*

skatzoula@yahoo.gr, kstath@biol.uoa.gr, cgaitan@biol.uoa.gr, ibeis@biol.uoa.gr

Οι λειτουργίες των καρδιακών κυττάρων επηρεάζονται από μεταβολές του pH και μειώσεις στις τιμές αυτής της παραμέτρου έχουν παρατηρηθεί σε υποξικές συνθήκες. Στη μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκαν εμπότισμοί της απομονωμένης καρδιάς του αμφιβίου *Rana ridibunda* σε σύνθηκες έντονης οξέωσης, χρησιμοποιώντας το MES-Tyrode's διάλυμα εμπότισμού τιμής pH 5,5, και διερευνήθηκε η ενεργοποίηση των μονοπατιών των JNKs και της p38-MARK. Εμπότισμοί για αυξανόμενα χρονικά διαστήματα με αυτό το διάλυμα προκάλεσαν άμεση αλλά παροδική αύξηση των επιπέδων φωσφορυλίωσης (άρα και ενεργοποίηση) τόσο των JNKs όσο και της p38-MARK στο κυτταροπλασματικό κλάσμα. Άμεση και παροδική αύξηση στα επίπεδα φωσφορυλίωσης της p46-JNK ανιχνεύθηκαν και στο πυρηνικό κλάσμα. Μελετήθηκε επίσης και η επίδραση της οξέωσης σε υποστρώματα αυτών των κινασών. Από αυτά, η πρωτεΐνη c-Jun, μέλος του μεταγραφικού AP-1, εμφάνισε αυξημένη φωσφορυλίωση στα αμινοξικά κατάλοιπα Ser63/73, τα οποία είναι υπεύθυνα για τη μεταγραφική ενεργοποίηση αυτού του παράγοντα. Το πρότυπο αυτής της τροποποίησης στο c-Jun έμοιαζε με το πρότυπο ενεργοποίησης της p46-JNK στον πυρήνα. Τα παραπάνω αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι τα μονοπάτια των MAPKs εμπλέκονται στη ρύθμιση φυσιολογικών λειτουργιών, όπως είναι η γονι-διακή έκφραση, στην καρδιά του αμφιβίου σε συνθήκες έντονης οξέωσης. Το γεγονός ότι αυξάνεται άμεσα η φωσφορυλίωση του c-Jun, σε θέσεις που τον ενεργοποιούν, υποδεικνύει ότι πιθανά, στις συγκεκριμένες συνθήκες, επάγονται μέσω αυτού του παράγοντα άμεσα αποκρινόμενα γονίδια.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον ΕΛΚΕ του ΕΚΠΑ

**INVOLVEMENT OF THE JNKs AND p38-MAPK SIGNALLING PATHWAYS
IN THE PHYSIOLOGICAL RESPONSES OF THE AMPHIBIAN HEART UNDER
CONDITIONS OF ACUTE ACIDOSIS**

Zikaki K., Stathopoulou, K., Gaitanaki, K. and I. Beis

*Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens,
Panepistimioupolis 157 84 Athens Greece
skatzoula@yahoo.gr, kstath@biol.uoa.gr, cgaitan@biol.uoa.gr, ibeis@biol.uoa.gr*

The functions of cardiac cells are affected by changes of their pH and decreases in the values of this parameter have been observed under hypoxic conditions. In this study, perfusions of the isolated heart of the amphibian *Rana ridibunda* were performed under conditions of acute acidosis, exemplified by using the MES-Tyrode's perfusion buffer of pH value 5.5, and the activation of the JNKs and p38-MAPK pathways was investigated. Perfusions for increasing time-points with this buffer caused immediate but transient increase in the phosphorylation levels (hence activation) of both JNKs and p38-MAPK in the cytoplasmic fraction. An immediate and transient rise in the phosphorylation levels of p46-JNK was also observed in the nuclear fraction. The effect of acidosis on substrates of these kinases was also studied. Of these, c-Jun, a member of the AP-1 transcription factor presented enhanced phosphorylation on the Ser63/73 amino acid residues, which are responsible for the transcriptional activation of this factor. The pattern of this c-Jun modification resembled the pattern of p46-JNK activation in nucleus. The abovementioned results indicate that the MAPK signalling pathways are involved in the regulation of physiological responses, like gene expression, in the amphibian heart, under conditions of acute acidosis. The fact that c-Jun phosphorylation, at sites which activate it, is immediately increased suggests that, possibly, immediate early genes are activated by this factor under these specific conditions.

This study was funded by the S.R.A. of the University of Athens

**ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΠΟΤΑΜΩΝ ΚΑΙ ΧΕΙΜΑΡΡΩΝ ΤΗΣ
ΑΣΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΠΕΡΙΑΣΤΙΚΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΤΗΣ ΠΑΤΡΑΣ.
Η ΛΙΜΝΟΘΑΛΑΣΣΑ ΚΑΙ ΟΙ ΙΑΜΑΤΙΚΕΣ ΠΗΓΕΣ ΚΑΪΆΦΑ**

Ζησιμοπούλου Α., Καλιάφας Α.

*Εργαστήριο Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας, Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κνυτάρου και
Ανάπτυξης, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Ρίο 26500.*

Το νερό των ποταμών και των λιμνών χρησιμοποιείται σε επαγγελματικές δραστηριότητες και σε δραστηριότητες αναψυχής. Τα νερά των ποταμών καταλήγουν συνήθως στη θάλασσα, συνεπώς η ποιότητά τους επηρεάζει σημαντικά την ποιότητα του θαλασσινού νερού των πλησίον παράκτιων περιοχών. Γι' αυτό έχει σημασία να γνωρίζουμε την ποιότητα των χρησιμοποιούμενων γλυκών νερών, των υδάτινων αυτών οικοσυστημάτων, καθώς και τους παράγοντες που την υποβαθμίζουν (αστικά λύματα, απορρίμματα, γεωργικά και βιομηχανικά απόβλητα). Στην παρούσα εργασία ερευνήθηκε η μικροβιακή μόλυνση των υδάτων των ποταμών και χειμάρρων της αστικής και περιαστικής περιοχής της Πάτρας, καθώς και η μικροβιακή μόλυνση της λίμνης Καϊάφα (μοναδική λιμνοθάλασσα της περιοχής), τα νερά της οποίας χρησιμοποιούνται ως ιαματικά και αναψυχής. Σαν ειδικός δείκτης αστικής μικροβιακής μόλυνσης χρησιμοποιήθηκε κυρίως η καταγραφή της συγκέντρωσης του *Escherichia coli* (τυπικό είδος της ομάδας κοπρανώδων κολοβακτηριοειδών). Οι δειγματοληψίες διενεργήθηκαν σε διάστημα δύο ετών (καλύφθηκαν όλες οι εποχές) και περιέλαβαν δείγματα γλυκού νερού διαφόρων βαθμών ρύπανσης. Ειδικότερα, ο ποταμός Χάραδρος μελετήθηκε καθ' όλη τη διαδρομή του. Έγιναν καλλιέργειες για ποσοτική καταμέτρηση ολικών βακτηρίων, *Escherichia coli* και μυκήτων και οι μετρήσεις συσχετίστηκαν με τις ειδικές συνθήκες κάθε περιοχής δειγματοληψίας. Από τα πειράματα ο ποταμός Χάραδρος αποδείχτηκε καθαρός στο σύνολό του (δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης εντός διεθνών ορίων). Οι εκβολές του ποταμού Γλαύκου βρέθηκαν οριακά καθαρές, ενώ αυτές των χειμάρρων Διακονιάρη και Μείλιχου εμφάνισαν υψηλή κοπρανώδη μόλυνση. Όσον αφορά τη λίμνη Καϊάφα, οι μετρήσεις έγιναν σε 12 διαφορετικά σημεία της λίμνης με τη βοήθεια πλοιαρίου και σε χρονικό διάστημα προ των πυρκαγιών του 2007. Τα νερά αναψυχής εμφάνισαν μικρή μικροβιακή μόλυνση και μηδενική κοπρανώδη μόλυνση, ενώ τα ιαματικά λουτρά εμφάνισαν σημαντική κοπρανώδη μόλυνση.

**MICROBIOLOGICAL STUDY OF THE RIVERS AND TORRENTS OF THE
URBAN AND SUBURBAN AREA OF PATRAS. KAIIFA LAGOON AND ITS
BATHS**

Zisimopoulou A., Kaliafas A.

*Laboratory of Applied Microbiology, Section of Genetics, Cell and Developmental Biology,
Department of Biology, University of Patras, Rio 26500.*

Freshwater is used for professional and for recreational activities. River water usually ends in the sea, so its quality affects the seawater quality in the close coastal areas. Therefore, it's important to know the quality of the freshwater as well as the factors which downgrade its quality (sewage, agricultural and industrial waste). In the present study, we investigated the microbial pollution of the rivers and the torrents of the urban and suburban area of Patras and the microbial pollution of the Kaiafa lagoon (baths and recreational waters), which is the only lagoon of the area. The concentration of *Escherichia coli* (typical species of faecal coliforms) was mainly used as a specific index of the urban microbial pollution. Samples were taken throughout a two year period (all seasons were covered) and from areas with varied grades of pollution. Specifically, Haradros River was studied throughout its length. Colonies of bacteria, *Escherichia coli* and fungi were enumerated in the cultures of the samples. The connection between the results and the special conditions of the sampling areas was investigated, too. During the experiments Haradros River was found clear. The estuaries of Glafkos River were almost clear, while the estuaries of Diakoniaris and Meilichos torrents were highly polluted. As far as Kaiafa lagoon is concerned, samples were taken from 12 locations (using a boat) before the fires of the summer of 2007. The recreational waters were slightly polluted (no faecal pollution), while the baths area was highly polluted (high faecal pollution).

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΦΥΛΕΤΙΚΟΥ ΔΙΜΟΡΦΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΔΟΝΤΙΩΝ ΣΕ
ΣΥΓΧΡΟΝΟ ΣΚΕΛΕΤΙΚΟ ΔΕΙΓΜΑ (ATHENS COLLECTION)**

Ζορμπά Ε. και Σ.Κ. Μανώλης

*Ερευνητική Ομάδα Βιολογικής Ανθρωπολογίας, Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου,
Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη
15781 Αθήνα. E-mail: smanol@biol.uoa.gr ; 123geo.eleni@gmail.com*

Παρά τη χρησιμότητα των δοντιών στην ανθρωπολογική έρευνα, σχετικά λίγα είναι γνωστά σχετικά με το μέγεθος των δοντιών των σύγχρονων και μερικά απολιθωμένων ανθρώπινων ομάδων. Οι φυσικο-ανθρωπολόγοι έχουν συμπεριλάβει παραδοσιακά την ανθρώπινη οδοντοστοιχία στις έρευνές τους λόγω της αντοχής της μέσα στο χρόνο. Οι μελέτες της μορφολογίας της μύλης των δοντιών έχουν αποδειχθεί πολύτιμες για τον καθορισμό της διαφοροποίησης των ανθρώπινων πληθυσμών. Οι ποιοτικές και ποσοτικές μελέτες της μορφολογίας της μύλης των δοντιών έχουν βοηθήσει στον καθορισμό των φυλογενετικών σχέσεων μεταξύ των ανθρώπινων πληθυσμών. Τα δόντια είναι σημαντικά στις ανθρωπολογικές μελέτες, εξαιτίας της ευρείας παρουσίας τους στα ανθρώπινα ευρήματα. Δεδομένου ότι η κορώνα αποτελείται από το σκληρότερο υλικό της φύσης (αδαμαντίνη), τα δόντια είναι ανθεκτικότερα στην καταστροφή που μπορεί να προκληθεί από τον ενταφιασμό. Σκοπός της συγκεκριμένης εργασίας ήταν η μελέτη ύπαρξης φυλετικού διμορφισμού στα μόνιμα δόντια του σύγχρονου *Homo sapiens*. Μελετήθηκαν 225 σύγχρονοι σκελετοί της Athens Collection του Τομέα ΦΖΑ. Από τους 225 σκελετούς, οι 116 ανήκαν σε άνδρες, οι 107 σε γυναίκες και 2 είναι αγνώστου φύλου. Συνολικά, μετρήθηκαν 849 δόντια (378 θηλυκών, 461 αρσενικών και 7 αγνώστου φύλου). Οι μετρήσεις έγιναν με τη βοήθεια ενός παχύμετρου 8 ιντσών τύπου Mitutoyo Digimatic, με ακρίβεια 0,01mm. Μετρήθηκε το μέγιστο ύψος της μύλης, η μέγιστη εγγύς-άπω διάμετρος και η μέγιστη γλωσσοπαρειική διάμετρος της μύλης. Επίσης μετρήθηκαν και οι εναλλακτικές μετρήσεις που πρότεινε ο Hillson (2005). Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το πρόγραμμα Excel του Microsoft Office. Τελικά βρέθηκε ότι τα δόντια των αρσενικών είναι μεγαλύτερα σε μέγεθος από αυτά των θηλυκών, με τον κυνόδοντα και τον πρώτο προγόμφιο της άνω και κάτω γνάθου, καθώς επίσης και τον δεύτερο προγόμφιο της άνω γνάθου και τον δεύτερο γομφίο της κάτω γνάθου να εμφανίζουν τον σημαντικότερο βαθμό φυλετικού διμορφισμού.

**STUDY OF SEXUAL DIMORPHISM IN MODERN TEETH FROM THE
“ATHENS COLLECTION”**

Zorba H., and S.K. Manolis

*Biological Anthropology Research Group, Department of Animal & Human Physiology, Faculty of
Biology, School of Sciences, University of Athens, Panepistimiopolis 157 84 Athens, Greece
E-mails: smanol@biol.uoa.gr ; 123geo.eleni@gmail.com*

In spite of the usefulness of the dentition for investigating questions of anthropological interest, relatively little is known about tooth size of contemporary and subfossil human groups (Harris and Nweeia, 1980). Physical anthropologists have traditionally included human dentition in their investigations because of its durability through time (Wolpoff, 1971). Studies of tooth crown morphology alone have proven valuable in defining human population differentiation. Qualitative and quantitative investigations of tooth crown morphology alone have helped define phylogenetic relationships among human populations (Turner, 1984, 1990, 1992, 1994; Smith, 1994). Teeth are important in anthropologic studies, because of their large presence in human remains. Since the crown is composed of nature's hardest material (enamel), teeth are more resistant to destruction with burial (Shields and Jones, 1996). Object of this work was the study of occurrence of sexual dimorphism in permanent teeth of modern *Homo sapiens*. Were studied 225 modern skeletons of the Athens Collection. From 225 skeletons, 116 were male, 107 female and 2 unknown sex. Were measured 849 teeth (378 of females, 461 of males and 7 of unknown sex individuals). The measurement made with a Mitutoyo Digimatic dial caliper to the nearest 0.01mm. It was measured the maximum crown height, the mesiodistal crown diameter and the buccolingual crown diameter (Tobias, 1967). Furthermore, were measured and the alternative measurement of Hillson (Hillson et al, 2005). The process of result made with the Excel program of Microsoft office. Finally, was found that the males' teeth are bigger in size than females', with the mandibular and maxillary canine and first premolar, the maxillary second premolar and also the mandibular second molar having the major sexual dimorphism. However, and the other teeth present important sexual dimorphism, but not for all dimensions (mainly the buccolingual diameters).

ΜΕΤΑΦΡΑΣΤΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΟΥ *AtPES* ΣΤΟ *ARABIDOPSIS*

Ζωγραφίδης Α., Λαντζούνη Ν. και Κ. Χαραλαμπίδης

Τομέας Βοτανικής, εργαστήριο Μοριακής Φυσιολογίας Φυτών, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ,
Αθήνα, 15784.

Το *Pescadillo* είναι ένα υψηλά συντηρημένο ευκαρυωτικό γονίδιο που εκπροσωπείται στο γονιδίωμα του *Arabidopsis* σε ένα μόνο αντίγραφο (*AtPES*). Οι προτεινόμενοι βιολογικοί ρόλοι του γονιδίου περιλαμβάνουν διαδικασίες που απαιτούν μια αυστηρή μεταγραφική ρύθμιση της έκφρασής του, όπως η βιογένεση των ριβοσωμάτων και ο έλεγχος του κυτταρικού κύκλου. Στο *Arabidopsis*, το γονίδιο *AtPES* εκφράζεται πρωτίστως σε ενεργά διαιρούμενα κύτταρα και αδιαφοροποίητους ιστούς, όπως τα κορυφαία μεριστώματα της ρίζας και του βλαστού και κωδικοποιεί για μια πρωτεΐνη που εντοπίζεται στον πυρηνίσκο των φυτικών κυττάρων. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται μία διεξοδική μελέτη της ρύθμισης της έκφρασης του γονιδίου *AtPES*. Για το σκοπό αυτό 572 βάσεις του υποκινητή αναλύθηκαν με πακέτα επεξεργασίας βιολογικών δεδομένων και διαδοχικές 5' απαλείψεις του συντήχθηκαν μεταφραστικά με το γονίδιο *GUS*. Η επαγωγή του γονιδίου μάρτυρα μελετήθηκε τόσο ποιοτικά όσο και ποσοτικά σε σταθερά μετασχηματισμένα φυτά κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης. Η ανάλυση έδειξε, ότι ένα σύνολο *cis*-ρυθμιστικών στοιχείων όπως το *TELO*-box (AAACCCTA) και τα site II μοτίβα (WWWTGGGC/TWWWW), εμπλέκονται στη διαφορική ρύθμιση του γονιδίου. Η μεταλλαγή του *TELO*-box οδηγεί σε σημαντική μείωση της μεταγραφής από τα πρώτα κιάλας στάδια ανάπτυξης, ενώ μία σειρά άλλων *cis*-στοιχείων, όπως η αλληλουχία πρόσδεσης του παράγοντα *AtMYB4*, συμβάλουν πιθανότατα περαιτέρω στην ρύθμιση της έκφρασης του *AtPES*.

TRANSCRIPTIONAL REGULATION OF *AtPES* IN ARABIDOPSIS

Zografidis A., Lantzouni N., and K. Haralampidis

Dept. of Botany, Molecular Plant Physiology Laboratory, Faculty of Biology, NKUA, Athens 15784, Greece

Pescadillo is a highly conserved gene among eukaryotes, represented as a single copy gene in species with fully sequenced genome. The proposed biological roles for the gene, while not fully elucidated, include ribosome biogenesis and cell cycle control, functions that presumably require a strict transcriptional regulation of its expression. We have previously shown that the *Arabidopsis thaliana* homolog (*AtPES*) is predominantly expressed in actively dividing cells and tissues such as the root and shoot apical meristem, where a tight link between regulation of growth and cell division control is a prerequisite. *AtPES* encodes a nucleolar protein highly homologous to the yeast cleavage factor Nop7p involved in the maturation of the 25S rRNA. To determine how the expression of *AtPES* is regulated during development, a comprehensive quantitative and qualitative promoter deletion analysis was conducted. The promoter region of *AtPES* contains an arrangement of cis-elements, such as the TELO-box motif (AAACCCTA) and the site II motif (WWWTGGGC/TWWWW), that have been previously identified in promoters of genes involved in the translational machinery such as ribosomal genes. The disturbance of TELO-box leads to a significant reduction of transcriptional expression in the early phases of plant development while other cis-elements, such as the *AtMYB4* binding site, may contribute to the fine tuning of *AtPES* expression.

ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΜΕ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΔΙΕΙΣΔΥΣΗΣ ΣΕ ΖΩΝΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Ηλιάδης Π., Χατζηγιάννου Κ., Κάνιστρας Ι., Ψαρρού Ε., Σαλή Α.,
Ζαννίκου Μ., Λυμπέρη Π.

*Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Εργαστ. Ανοσολογίας, Βασ. Σοφίας 127, 115 21, Αθήνα,
Email: peliadis@pasteur.gr*

Ορισμένα αντι-DNA αυτοαντισώματα ανθρώπου και ποντικού με Ερυθματώδη Λύκο (Ε.Λ.) έχουν την ικανότητα να διεισδύουν σε ζωντανά κύτταρα (penetrating Abs). Ανάλογα, αντι-DNA μονοκλωνικά αυτοαντισώματα (mAbs) που προέρχονται από ποντικό με Ε.Λ. μπορούν να διεισδύσουν στο κυτταρόπλασμα και στον πυρήνα ζώντων κυττάρων. Μονοκλωνικά πολυδραστικά αυτοαντισώματα που αναγνωρίζουν native DNA δημιουργήθηκαν από μη ανοσοποιημένους NZBxNZW F1 ποντικούς, που εκφράζουν αυθόρμητα Ε.Λ. Ένα από αυτά είναι το mAb 10D2 (IgG2α). Επίσης, απομονώθηκαν για πρώτη φορά μονοκλωνικά αντισώματα που προήλθαν από Balb/c ποντικό, τα οποία επίσης αναγνωρίζουν native DNA. Ένα από αυτά είναι το mAb 14C5 (IgG1). Τα δύο αυτά mAbs αντιδρούν ισχυρά και με άλλα αντιγόνα (RNA, TNF ακτίνη κ.α.), όπως έχει αποδειχτεί με δοκιμασία ELISA. Κύριο χαρακτηριστικό των δύο αυτών mAbs είναι η ικανότητα τους να διεισδύουν σε ζωντανά κύτταρα διαφόρων κυτταρικών σειρών ανθρώπου και ποντικού (HeLa, 3T3 κ.α.). Η παρατήρηση στο συνεστιακό μικροσκόπιο έδειξε ότι το mAb 10D2 εντοπίζεται κυρίως στον πυρήνα και λιγότερο στο κυτταρόπλασμα, ενώ το mAb 14C5 εντοπίζεται κυρίως στο κυτταρόπλασμα. Η ανάλυση της γονιδιακής αλληλουχίας (DNA sequencing) της μεταβλητής περιοχής των βαριών αλυσίδων τους έδειξε ότι παρουσιάζουν σε μεγάλο βαθμό ομολογία με γονίδια της βλαστικής σειράς, και ανήκουν στις οικογένειες V_H5 και V_H3 αντίστοιχα. Οι υπερμεταβλητές αμινοξικές ακολουθίες CDR-2 και CDR-3 των μορίων τους περιλαμβάνουν σε υψηλό ποσοστό τυροσίνες, χαρακτηριστικό που συνδέεται με την πολυδραστικότητα και διεισδυτική τους ικανότητα. Για πρώτη φορά απομονώνονται πολυδραστικά διεισδυτικά αντισώματα από φυσιολογικό ποντίκι. Μελετάται ο ρόλος και η σημασία τους στην ανοσορρύθμιση, ο λεπτομερής προσδιορισμός των αντιγόνων που αναγνωρίζουν, και η χρήση τους ως εργαλεία μεταφοράς δραστικών ουσιών.

MONOCLONAL ANTIBODIES WITH THE ABILITY TO PENETRATE INTO LIVING CELLS

Eliades P., Hatzioanou K., Kanistras I., Psarrou E., Sali A., Zannikou M., Lymberi P.

Institut Pasteur Hellenique, Immunology Laboratory, Vas. Sofias 127, 115 21, Athens, Email: pegiadis@pasteur.gr

Some anti-DNA autoantibodies derived from human and mice with lupus erythematosus (LE) are able to penetrate into living cells (penetrating Abs). Similarly, anti-DNA monoclonal autoantibodies (mAbs) derived from mice with LE are also able to penetrate in the cytoplasm and the nucleus of living cells. Monoclonal polyreactive autoantibodies able to recognize native DNA were produced from non-immunized NZBxNZW F1 mice that spontaneously develop LE, i.e. mAb 10D2 (IgG2a). Moreover, mAbs derived from normal Balb/c mouse, also able to recognize native DNA, were produced for the first time i.e. mAb 14C5 (IgG1). These two mAbs strongly react with other antigens as well (RNA, TNP, actin, etc.), as shown in ELISA. Their main characteristic is their ability to penetrate into living cells of several human and mouse cell lines (HeLa, 3T3, etc.). mAb 10D2 is mainly located in the nucleus and to a lesser extent in the cytoplasm, while mAb 14C5 is mainly found in the cytoplasm. The DNA sequence analysis of their heavy chain variable region revealed that they express a high degree of similarity with the germ-line encoded gene families V_{H5} (10D2) and V_{H3} (14C5). Their CDR-2 and CDR-3 amino acid sequences have high tyrosine content, a characteristic linked to their polyreactivity and their penetrating ability. It is the first time that polyreactive penetrating antibodies derived from a normal mouse are isolated. Their role and importance in immunoregulation, their antigenic determinants and their use as vectors for the transfer of macromolecules, is under investigation.

**ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΜΕΤΑΛΛΑΓΩΝ ΣΤΑ ΓΟΝΙΔΙΑ PIK3CA ΚΑΙ B-Raf ΚΑΙ
ΜΕΛΕΤΗ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ pAkt ΚΑΙ pERK ΣΕ ΟΓΚΟΥΣ
ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ**

**Θεοδώρου Μ., Τσιορβά Π., Σαέττα Α., Λεβίδου Γ., Ελ-Χαμπέρ Η., Κάρλου Μ.,
Κορκολοπούλου Π., Μιχαλόπουλος Ν., Παπασιδέρη Ι., Πατσούρης Ε.**

*Τμήμα Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 11527, Ελλάδα. E-mail: marina_salpa@hotmail.com*

Τα μονοπάτια μεταγωγής σήματος Ras/Raf/MEK/ERK και PI3K/Akt εμπλέκονται στην καρκινογένεση διαφόρων οργάνων. Οι μεταλλαγές του γονιδίου B-Raf ανιχνεύονται σε μελανώματα και σε καρκινώματα θυρεοειδούς και παχέος εντέρου. Το γονίδιο PIK3CA έχει βρεθεί μεταλλαγμένο σε καρκινώματα παχέος εντέρου, μαστού και πνεύμονα. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η αναζήτηση μεταλλαγών στα εξόνια 9 και 20 του γονιδίου PIK3CA και στο εξόνιο 15 του γονιδίου B-Raf, καθώς και η μελέτη της έκφρασης των πρωτεϊνών pERK και pAkt σε αστροκυτώματα. Μελετήθηκαν 28 περιπτώσεις ασθενών με αστροκύτωμα (βαθμού κακοήθειας II=3, III=1 και IV=24). Η έκφραση των pERK και pAkt μελετήθηκε ανοσοϊστοχημικά. Οι μεταλλαγές στα εξόνια 9 και 20 του γονιδίου PIK3CA και 15 του γονιδίου B-Raf ανιχνεύθηκαν με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης-πολυμορφισμούς διαμόρφωσης μονόκλωνης αλυσίδας (PCR-SSCP) και αλληλούχιση του DNA (sequencing). Ανιχνεύθηκε η μεταλλαγή G1633A (E545K) στο εξόνιο 9 του γονιδίου PIK3CA σε 2 ασθενείς, ενώ δεν παρατηρήθηκαν μεταλλαγές στο εξόνιο 20, καθώς και στο εξόνιο 15 του γονιδίου B-Raf. Τόσο η πρωτεΐνη pERK, όσο και η pAkt εντοπίστηκαν ανοσοϊστοχημικά στον πυρήνα, αλλά και στο κυτταρόπλασμα των καρκινικών κυττάρων. Πυρηνική έκφραση παρατηρήθηκε σε ποσοστό 100% και 90.7%, ενώ, κυτταροπλασματική σε ποσοστό 80% και 100% των περιστατικών για τις πρωτεΐνες pERK και pAkt, αντίστοιχα. Δεν παρατηρήθηκε έκφραση τους στον παρακείμενο, φυσιολογικό ιστό. Η ενεργοποίηση του μονοπατιού της MAP κινάσης συμβαίνει ανεξάρτητα από την ύπαρξη μεταλλαγών του B-Raf στα αστροκυτώματα. Η έκφραση των pERK και pAkt στην πλειονότητα των καρκινωμάτων αυτών υποδηλώνει πιθανή εμπλοκή τους στην παθογένεση των αστροκυτικών όγκων. Τέλος, πέραν του PIK3CA, θα πρέπει να αναζητηθούν οι μηχανισμοί ενεργοποίησης της pAkt στο αστροκύτωμα.

DETECTION OF MUTATIONS IN PIK3CA AND B-RAF GENES AND INVESTIGATION OF EXPRESSION LEVELS OF pAkt AND pERK IN BRAIN TUMORS

Theodorou M., Tsiorva P., Saetta A., Levidou G., El-Habr E., Karlou M., Korkolopoulou P., Michalopoulos N., Papasideri I., Patsouris E.

1st Department of Pathology, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, Greece E-mail: marina_salpa@hotmail.com

Ras/Raf/MEK/ERK and PI3K/Akt signaling pathways are involved in cancer development. B-Raf mutations are detected in melanomas and in thyroid, as well as colon carcinomas. PIK3CA gene mutations have been found mutated in colon, breast and lung carcinomas. The aim of the study was the detection of mutations in exons 9 and 20 of PIK3CA gene and exon 15 of B-Raf gene, as well as the investigation of the expression levels of pERK and pAkt proteins in astrocytomas. A total of 28 cases of astrocytoma (grade II=3, grade III=1 and grade IV=24) were analysed. pERK and pAkt protein expression was investigated immunohistochemically. Mutations in exons 9 and 20 of PIK3CA gene and 15 of B-Raf gene were detected by Polymerase Chain Reaction-Single Strand Conformation Polymorphisms (PCR-SSCP) and sequencing analysis. A mutation in exon 9 of PIK3CA gene (E545K) was detected in 2 cases and was identified as a transition G→A (G1633A). No mutations were observed in exon 20 of PIK3CA gene, as well as in exon 15 of B-Raf gene. pERK and pAkt nuclear immunoreactivity were detected in 100% and 90,7%, whereas cytoplasmic immunoreactivity in 80% and 100% of the cases, respectively. No staining was observed in normal brain tissue. The activation of MAP kinase pathway occurs in a B-Raf-independent manner in astrocytomas. Our results suggest the possible involvement of pERK and pAkt in the pathogenesis of astrocytic tumors.

**ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΟΜΗ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΟΥ ΚΟΙΝΟΥ ΚΥΠΡΙΝΟΥ
(*CYPRINUS CARPIO* L.) ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΩΝ
ΑΚΟΛΟΥΘΙΩΝ**

Ιμσιρίδου Α.¹, Τριανταφυλλίδης Α.², Τριανταφυλλίδης Κ.²

¹Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης, Τμήμα Τεχνολογίας
Αλιείας και Υδατοκαλλιεργειών, Τ.Θ 157, Ν. Μιλτιάδη 1, 63200 Νέα Μουδανιά, Χαλκιδική.

E-mail: imsiri@otenet.gr

²Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Γενετικής,
Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, 54006 Θεσσαλονίκη. E-mail: triant@bio.auth.gr

Ο κοινός κυπρίνος (*Cyprinus carpio* L., 1758) είναι ένα από τα παλαιότερα είδη ψαριών του γλυκού νερού που έχει εξημερωθεί. Είναι επίσης ανάμεσα στα πιο σημαντικά καλλιεργούμενα είδη ανά τον κόσμο με ιδιαίτερη σημασία και για την Ελλάδα. Ελάχιστες πληροφορίες υπάρχουν για τη γενετική δομή Ελληνικών πληθυσμών του είδους. Στην παρούσα εργασία άτομα κοινού κυπρίνου από δύο λίμνες (Βόλβη, Δοϊράνη) και δύο ποτάμια (Έβρος, Αλιάκμονας) της Ελλάδας αναλύθηκαν γενετικά με ανάλυση πρωτοδιάταξης δύο τμημάτων του μιτοχονδριακού DNA: κυτόχρωμα β (1119 ζεύγη βάσεων) και βρόχος εκτόπισης (D-loop) (646 ζεύγη βάσεων). Βρέθηκαν συνολικά 9 πολυμορφικές θέσεις και 7 μοναδικοί απλότυποι, ανάμεσα στα 14 άτομα του κοινού κυπρίνου που μελετήθηκαν. Βρέθηκε ένας κοινός απλότυπος σε τρεις από τους τέσσερις πληθυσμούς που εξετάστηκαν, ο οποίος φαίνεται να είναι ο προγονικός και αντιπροσωπεύει την ευρωπαϊκή προέλευση των ελληνικών πληθυσμών του κοινού κυπρίνου. Οι τιμές της νουκλεοτιδικής ποικιλότητας κυμάνθηκαν από 0,000 (στον Έβρο και στον Αλιάκμονα) έως 1,000 (στη λίμνη Βόλβη). Το δένδρογραμμα που κατασκευάστηκε με τη μέθοδο Neighbour-Joining, έδειξε ότι οι ελληνικοί πληθυσμοί του κοινού κυπρίνου ανήκουν στην Ευρωπαϊκή ομάδα πληθυσμών του είδους – η οποία αποκλίνει σημαντικά από την ομάδα της Νότιο-Ανατολικής Ασίας – και στο υποείδος *C. c. carpio*. Καθώς αυτή είναι η πρώτη μελέτη DNA για τον ελληνικό κοινό κυπρίνο, τα αποτελέσματα της παρούσας δουλειάς δίνουν αποδείξεις για ομογενοποίηση και γενετική ανάμειξη στους ελληνικούς πληθυσμούς.

**GENETIC STRUCTURE OF COMMON CARP (*CYPRINUS CARPIO* L.)
POPULATIONS FROM GREECE USING mtDNA SEQUENCES**

Imsiridou A.¹, Triantafyllidis A.², Triantaphyllidis C.²

¹Alexander Technological Educational Institute of Thessaloniki, Department of Fisheries and
Aquaculture Technology, P.O. Box 157, N. Miltiadi 1, GR-63200 Nea Moudania, Halkidiki, Greece.

E-mail: imsiri@otenet.gr

²Aristotle University, School of Biology, Department of Genetics, Development and Molecular
Biology, GR- 54006 Thessaloniki, Macedonia, Greece. E-mail: triant@bio.auth.gr

The common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) has been one of the oldest domesticated species of freshwater fish. It is also among the most important cultured fishes worldwide as well as for Greece. However, little information exists for the genetic structure of Greek carp populations. In this study wild common carp from two lakes (Volvi, Doirani) and two rivers (Evros, Aliakmonas) in Greece were genetically characterized with sequencing analysis of two mitochondrial DNA segments: cytb (1119 bp) and D-loop (646 bp). A total of 9 variable singleton sites and 7 unique haplotypes were found from the combined sequences, among the 14 individuals of common carp investigated. A common haplotype was found in three out of the four populations examined, which seems to be the ancestral one and represents the European origin of Greek common carp populations. Values of nucleotide diversity ranged from 0.000 (in Evros and Aliakmonas) to 1.000 (in the Lake Volvi). Neighbour – Joining dendrogram based on the combined sequences of cytb and D-loop segments, reveals that the populations of common carp from Greece belong to the European group of populations - which is highly divergent from the South East-Asia cluster – and to the subspecies *C. c. carpio*. As this is the first DNA study for Greek common carp, our results provide evidence for homogenization and genetic mixing in Greek common carp populations.

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ IMIDACLOPRID ΣΤΟ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΟ ΙΣΧΙΑΚΟ ΝΕΥΡΟ ΤΟΥ ΕΠΙΜΥΟΣ*

Καγιαβά Α. και Θεοφιλίδης Γ.

*Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124, Θεσσαλονίκη, E-mail: akagiava@bio.auth.gr*

Το imidacloprid (IMI), ένα ευρέως διαδεδομένο εντομοκτόνο, δρα ως αγωνιστής της ακετυλοχολίνης στους μετασυναπτικούς υποδοχείς των χολινεργικών συναψιών νικοτινικού τύπου στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ). Παρόλα αυτά, πρόσφατη μελέτη αναφέρεται στην παρουσία των υποδοχέων αυτών και σε άξονες του ΚΝΣ (Kawai et al., 2007) και του περιφερικού νευρικού συστήματος (ΠΝΣ) (Lang et al., 2003), αλλά ο ρόλος τους δεν έχει διευκρινιστεί ακόμα. Σκοπός της εργασίας αυτής είναι η αξιολόγηση της δράσης του IMI στο απομονωμένο ισχιακό νεύρο του επίμυος μέσω της πολύωρης έκθεσής του στο εντομοκτόνο. Για την επίτευξη του στόχου αυτού έγινε απομόνωση των ισχιακών νεύρων του επίμυος και στη συνέχεια τοποθέτηση τους στον τριχώρο θάλαμο καταγραφής όπου και μετά από διέγερση των νεύρων ακολουθεί καταγραφή του σύνθετου δυναμικού ενέργειας (ΣΔΕ). Η καταγραφή του ΣΔΕ και οι μεταβολές στο ύψος του επιτρέπουν την παρακολούθηση της βιωσιμότητας του νεύρου και όποια πτώση παρατηρείται οφείλεται σε απώλεια νευρικών ινών. Το νεύρο εκτίθεται σε διαφορετικές συγκεντρώσεις του IMI, 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} και 10^{-2} . Βρέθηκε ότι το IMI σε συγκεντρώσεις 10^{-4} και 10^{-2} προκαλεί 25 % πτώση στο ύψος του ΣΔΕ στις πρώτες δύο ώρες ενώ στη συνέχεια παραμένει σταθερό για τις υπόλοιπες 20 ώρες. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι το νεύρο το οποίο εξάγεται από το ζώο είναι ήδη υπερδιεγερμένο μέσω των νικοτινικών υποδοχέων και η προσθήκη του IMI προκαλεί αναστολή της διεγερσιμότητας του νεύρου. Επίσης, μια άλλη πιθανή εξήγηση για τη συμπεριφορά αυτή είναι η νευροτοξική δράση του IMI η οποία όμως δεν εμπλέκει τους νικοτινικούς υποδοχείς.

Kawai H et al., 2007. Nature Neuroscience. 10: 1168-1175

Lang P.M. et al., 2003. J. Neurophysiology. 90: 3295-3303

**Η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από το Υπουργείο Ανάπτυξης (ΓΓΕΤ) για το πρόγραμμα
διακρατικής συνεργασίας Ελλάδας-Τουρκίας*

ASSESSMENT OF THE EFFECT OF IMIDACLOPRID ON THE ISOLATED RAT SCIATIC NERVE*

Kagiava A., and G. Theophilidis

Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki. E-mail: akagiava@bio.auth.gr

Imidacloprid (IMI), a widely used insecticide, acts as an agonist of the postsynaptic nicotinic acetylcholine receptors. Recent study revealed their presence on the axons of the CNS (Kawai et al., 2007) and the peripheral nervous system (PNS) (Lang et al., 2003), but their role is not clear yet. The aim of this study is the assessment of the effect of the insecticide IMI on the isolated rat sciatic nerve after its continuous exposure to this compound. The sciatic nerves were dissected and placed into a three-chambered recording bath where the compound action potential (CAP) was recorded. The CAP was used as indication of the viability of the sciatic nerve and a decrease of the CAP is due to the loss of nerve fibers. The nerve was exposed to different concentrations of IMI, 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} and 10^{-2} . IMI at the concentrations of 10^{-4} , 10^{-2} caused a 25 % decrease of the CAP after two hours of exposure and remained constant until 22 hours. The results show that the nerve is already overstimulated when dissected due to the presence of the nicotinic receptors and the addition of the IMI causes the inhibition of the nerve excitability. Another explanation might be the neurotoxic effect of IMI which does not involve the nicotinic receptors.

Kawai H et al., 2007. Nature Neuroscience. 10: 1168-1175

Lang P.M. et al., 2003. J. Neurophysiology. 90: 3295-3303

**Supported by the Ministry of Development (GSRT), a program for the bilateral cooperation between Greece-Turkey*

ΕΜΠΛΟΚΗ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΠΟΥ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΑΠΟ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΤΕΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΟΣΩΜΑΤΩΝ (PPAR) ΣΤΗ ΜΗ ΕΙΔΙΚΗ ΑΝΟΣΙΑ ΤΗΣ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ (*SPARUS AURATA*)

Καϊτετζίδου Ε.¹, Βράσκου Γ.², Planas J.V.², Αντωνοπούλου Ε.¹

¹Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη. E-mail: eantono@bio.auth.gr

²Departament de Fisiologia, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona

Τα ψάρια εκτίθενται σε μικροοργανισμούς του υδάτινου περιβάλλοντος, πολλοί από τους οποίους είναι παθογόνοι. Οι μηχανισμοί προστασίας των ψαριών από τις συνέπειες των παθογόνων δεν είναι εντελώς κατανοητοί. Στα θηλαστικά, οι υποδοχείς που ενεργοποιούνται από πολλαπλασιαστές υπεροξειδισωμάτων (PPARs), εμπλέκονται στη γονιδιακή ρύθμιση άλλων μεταγραφικών αμυντικών παραγόντων ελέγχοντας τη δράση των φαγοκυττάρων και άλλων ανοσοκυττάρων. Στην παρούσα εργασία, διερευνάται η συμμετοχή των τριών τύπων PPAR (α, β και γ), στη μη ειδική ανοσία της τσιπούρας (*Sparus aurata*), μετά την χορήγηση *in vivo* του λιποπολυσακχαρίτη (LPS, 6 mg/kg βάρους σώματος), ο οποίος επάγει τη φαγοκυττάρωση. Η μελέτη της έκφρασης έγινε με Real Time PCR, στους αμυντικούς κυρίως ιστούς της τσιπούρας, 72 ώρες μετά την επίδραση του LPS. Το γενικό πρότυπο που παρατηρήθηκε ήταν η μείωση της έκφρασης των τριών PPAR μετά τη χορήγηση LPS. Συγκεκριμένα, η έκφραση των PPAR α και β μειώθηκε στα βράγχια, στους μυς και στο ήπαρ, ενώ στο έντερο μειώθηκε μόνο η έκφραση του PPAR α. Αντίθετα, η έκφραση των PPAR επάγεται στο λιπώδη ιστό, ενώ αύξηση του PPAR γ παρατηρήθηκε στο έντερο και στο ήπαρ, σε αντιδιαστολή με την πτώση της έκφρασης του PPAR γ στη σπλήνα. Έτσι, οι PPAR εμπλέκονται στη μη ειδική ανοσία της τσιπούρας. Συμπληρωματικές μελέτες όμως κρίνονται αναγκαίες με σκοπό να αποσαφηνιστούν οι μηχανισμοί ελέγχου των PPAR στην μη ειδική ανοσία στα ψάρια.

Χρηματοδοτήθηκε από τη ΓΓΕΤ Υπουργείο Ανάπτυξης στο πλαίσιο των Διακρατικών Συνεργασιών Ελλάδας-Ισπανίας 2005-2007.

**INVOLVEMENT OF PEROXISOME-PROLIFERATOR ACTIVATED
RECEPTORS (PPAR) IN THE INNATE IMMUNE SYSTEM OF SEA BREAM
(*SPARUS AURATA*)**

Kaitetzidou E.,¹ Vraskou G.,² Planas J.V.,² Antonopoulou E.¹

¹Department of Zoology, School of Biology, A.U.Th., Thessaloniki. E-mail: eaanton@bio.auth.gr

²Departament de Fisiologia, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona

Fish are constantly exposed to microorganisms in the aquatic environment, many of which are pathogens. The protected mechanisms against the potentially harmful effects of these bacterial pathogens are not completely understood. In mammals, the peroxisome proliferator activated receptors (PPAR), are involved in the gene regulation of other known immune transcription factors, controlling the function of macrophages and other immune cells. In the present study, we examine the involvement of the three isotypes of PPARs (α , β and γ) in the innate immune system of sea bream (*Sparus aurata*), after the *in vivo* treatment with the lipopolysaccharide (LPS, 6mg/kg body weight), which is a potent stimulator of phagocytosis. The PPAR gene expression was studied by Real Time PCR, mainly in immune related tissues of sea bream, 72 hours after the LPS treatment. The general pattern after the LPS administration was the low levels of PPAR expression. Furthermore, PPAR α and PPAR β expression were diminished in gills, muscles and liver, while in anterior intestine only PPAR α was reduced. On the other hand, PPAR expression was increased in the adipose tissue, while higher PPAR γ levels were found in both anterior intestine and in liver, in contrast to the diminished levels of PPAR γ in the spleen. Thus, PPAR are involved in the innate immune response in sea bream. However, further studies are needed in order to clarify the mechanisms involved in the role of PPAR in the innate immune response in fish.

Supported by GSRT of the Ministry of Development under the Research and Cooperation scheme between Greece and Spain.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΝΗΣΤΕΙΑΣ/ΕΠΑΝΑΣΙΤΙΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ
ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ ΣΕ ΜΕΤΑΒΟΛΙΤΕΣ ΣΤΗΝ ΤΣΙΠΟΥΡΑ (*Sparus aurata*)**

Καϊτετζίδου Ε.¹, Μπαχαρίδης Π.¹, Planas J.V.², Αντωνοπούλου Ε.¹

¹Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη. E-mail: eaantonio@bio.auth.gr

²Departament de Fisiologia, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona

Η βελτίωση της ποιότητας των καλλιεργούμενων ψαριών προϋποθέτει μεταξύ άλλων παραμέτρων και την αντιμετώπιση του προβλήματος συσσώρευσης ενδομυϊκού λίπους. Άμεση σχέση με το γενικό μεταβολισμό έχει και η παγκρεατική ορμόνη ινσουλίνη η οποία ρυθμίζει τη διαθεσιμότητα μεταβολιτών στο αίμα. Στην παρούσα εργασία, εξετάσαμε την επίδραση της νηστείας (2 εβδομάδων) και επανασίτισης, καθώς και την εξωγενή χορήγηση ινσουλίνης (17 U/Kg βάρους σώματος) στις παραμέτρους του αίματος: γλυκόζη, τριγλυκερίδια και γαλακτικό οξύ και στο γλυκογόνο του ήπατος και του λευκού μυός στην τσιπούρα (*Sparus aurata*). Τα επίπεδα της γλυκόζης στο πλάσμα του αίματος δεν επηρεάστηκαν μετά από μία εβδομάδα νηστείας, ενώ σημαντική πτώση παρατηρήθηκε στα επίπεδα τόσο των τριγλυκεριδίων όσο και του γαλακτικού οξέος. Καμία στατιστική διαφορά δεν παρατηρήθηκε στα ψάρια που έμειναν νηστικά για δύο εβδομάδες. Αντίθετα, τα ψάρια που επανασίτιστηκαν παρουσίασαν αυξημένες τιμές γλυκόζης και τριγλυκεριδίων, και χαμηλά επίπεδα γαλακτικού οξέος. Το γλυκογόνο στο ήπαρ και στο λευκό μυ των ψαριών που δε σιτιζόνταν μειώθηκε, ενώ μετά την επανασίτιση αυξήθηκαν τα επίπεδά του. Σημαντική μείωση παρατηρήθηκε στη γλυκόζη και στα τριγλυκερίδια, 24 ώρες μετά την εξωγενή χορήγηση ινσουλίνης, ενώ το γαλακτικό οξύ δεν επηρεάστηκε. Επίσης, η χορήγηση ινσουλίνης οδήγησε σε πτώση του γλυκογόνου στο ήπαρ.

Η εργασία χρηματοδοτήθηκε εν μέρει από τη ΓΓΕΤ Υπουργείο Ανάπτυξης, στο πλαίσιο των Διακρατικών Συνεργασιών Ελλάδας-Ισπανίας 2005-2007.

**THE EFFECTS OF FASTING/REFEEDING AND INSULIN INJECTION IN
METABOLITES OF SEA BREAM (*Sparus aurata*)**

Kaitetzidou E.,¹ Baharidis P.,¹ Planas J.V.,² Antonopoulou E.¹

¹*Dept of Zoology, School of Biology, A.U.Th., Thessaloniki. E-mail: eaanton@bio.auth.gr*

²*Departament de Fisiologia, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona*

The advance of the farmed fish quality combined with a higher trading value, demand the reduction of the accumulated fat in fish tissues. The pancreatic hormone insulin is involved in the regulation of the metabolite levels in blood. In the present study, we investigated the effects of fasting/feeding and refeeding as well as the effects of insulin injection (17 U/Kg body weight) on the blood metabolites including glucose, triglycerides and lactate and on the glycogen in liver and muscles in sea bream (*Sparus aurata*). Plasma glucose levels remained stable after the first week of fasting, although a decrease was observed in the triglycerides and lactate levels. In addition, glycogen levels in both liver and white muscle were significantly lower in the fasted fish. No significant difference was found on the blood metabolites in the second week of fasting, although the glycogen in both liver and white muscle retained the same pattern in comparison with the first week. Finally in the third week, when fasted fish were refed, a significant increase was observed in glucose, triglycerides and glycogen in the examined tissues. However, the lactate levels were decreased. Significant decrease was observed on the glucose and triglyceride plasma levels, 24 h after the insulin injection in the treated fish, while lactate remained stable. Furthermore, insulin resulted in significantly low levels of glycogen in liver.

This work was supported partly by GSRT of the Ministry of Development under the Research and Cooperation scheme between Greece and Spain.

ΧΡΗΣΗ PROFILE HMMs ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΤΟ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΩΝ ΤΗΣ ΥΠΕΡΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ CYS-LOOP ΤΩΝ LGICs

Κακούρα Π.Ε.¹, Λίτου Ζ.Ι.¹, Μπάγκος Π.Γ.² και Χαμόδρακας Σ.Ι.¹

¹Τομέας Βιολογίας Κυττάρων και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 01. E-mail: evita.kakoura@gmail.com, zlitou@biol.uoa.gr, shamodr@biol.uoa.gr

²Τμήμα Πληροφορικής με Εφαρμογές στη Βιοιατρική, Πανεπιστήμιο Στερεάς Ελλάδας, Παπασιοπούλου 2-4, Λαμία 35100. E-mail: pbagos@ucg.gr

Η κατηγορία των μεμβρανικών καναλιών ιόντων (ion channels), που ενεργοποιούνται με την πρόσδεση ενός υποκαταστάτη (ligand-gated ion channels, LGICs), διαιρείται περαιτέρω σε διεγερτικά και ανασταλτικά κανάλια ανάλογα με την λειτουργία τους. Η συγκεκριμένη εργασία επικεντρώνεται στην Cys-loop υπεροικογένεια των διεγερτικών LGICs. Στην υπεροικογένεια αυτή ανήκουν οι οικογένειες: 5HT₃-serotonine-gated (5-hydroxytryptamine), Nach-gated (nicotinic-acetylcholine), Gaba-gated (γ-aminobutyric acid), Glycine-gated και Zn²⁺-gated. Οι πρωτεΐνες, που ανήκουν στην υπεροικογένεια αυτή είναι πενταμερή με ίδιες ή διαφορετικές υπομονάδες και διαθέτουν 4 διαμεμβρανικά τμήματα ανά υπομονάδα. Συνολικά συγκεντρώθηκαν 211 πρωτεΐνες από την βάση δεδομένων Uniprot/Swissprot. Επιπλέον, προστέθηκαν και οι πρωτεΐνες που ανήκουν στην Glutamate-gated υπεροικογένεια (3 πρωτεΐνες), γιατί παρουσιάζουν μεγάλη ομοιότητα με αυτές της Cys-loop υπεροικογένειας. Χρησιμο-ποιώντας το πακέτο εφαρμογών Hmmer κατασκευάστηκαν μοντέλα για κάθε μία από τις οικογένειες. Για τη βελτιστοποίηση των μοντέλων, χρησιμοποιήθηκε ο αλγόριθμος Hmm-modE. Ο αλγόριθμος προσφέρει καλύτερο διαχωρισμό σε οικογένειες πρωτεϊνών με μεγάλο ποσοστό ομολογίας. Η μέθοδος καταφέρει να διαχωρίσει επιτυχώς και τις 5 οικογένειες, ενώ αντίστοιχη μέθοδος δεν υπάρχει διαθέσιμη διεθνώς. Η επιτυχία των μοντέλων αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας ένα σύνολο σφαιρικών πρωτεϊνών και όλες τις υπόλοιπες διαμεμβρανικές πρωτεΐνες και τα ποσοστά επιτυχίας αγγίζουν το 99%. Απώτερος στόχος είναι η δημιουργία μιάς διαδικτυακής εφαρμογής ενός αλγόριθμου πρόγνωσης πρωτεϊνών της Cys-loop υπεροικογένειας των διεγερτικών LGIC's.

**PROFILE HMMs FOR THE PREDICTION AND DISCRIMINATION OF
FAMILIES OF THE CYS-LOOP SUPERFAMILY OF THE LGICs**

Kakoura P.E.¹, Litou Z.I.¹, Bagos P.G.² and Hamodrakas S.J.¹

¹*Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens,
Athens 157 01. E-mail: evita.kakoura@gmail.com, zlitou@biol.uoa.gr, shamodr@biol.uoa.gr*

²*Department of Informatics with Applications in Biomedicine, University of Central
Greece, Papasiopoulou 2-4, Lamia 35100, Greece. E-mail: pbagos@ucg.gr*

Ion channels that are activated by the binding of a ligand (ligand-gated ion channels, LGIC's) are further divided into excitatory and inhibitory, according to their function. This work focuses on the Cys-loop superfamily of the excitatory LGICs, with the following families: 5HT₃-serotonin-gated (5-hydroxytryptamine), Nach-gated (nicotinic-acetylcholine), Gaba-gated (γ -aminobutyric acid), Glycine-gated and Zn²⁺-gated. Members of this superfamily are pentamers with the same or different subunits and have 4 transmembrane segments per subunit. 211 proteins were collected from the Uniprot/Swissprot database. Proteins that belong to the Glutamate-gated superfamily (3 proteins) were also added to the dataset, because of their similarity to the Cys-loop superfamily. Models for each family were built using the Hmmer package. In order to optimize the models, the HmmodE algorithm was used. This algorithm offers a better discrimination of homologous families. The method appears to discriminate successfully all 5 families. The success of the models was evaluated using one test set of globular proteins and another containing all other types of transmembrane proteins, providing 99% accuracy. The ultimate goal of this work is to create a web tool for the prediction and discrimination of the Cys-loop superfamily proteins, since there is no such method available worldwide.

**ΟΙ ΑΠΟΨΕΙΣ ΤΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΩΝ ΤΟΥ ΚΛΑΔΟΥ ΠΕ4 ΤΗΣ ΔΕΥΤΕΡΟ-
ΒΑΘΜΙΑΣ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ ΤΟΥ ΝΟΜΟΥ ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ ΣΧΕΤΙΚΑ ΜΕ ΤΙΣ
ΕΠΙΜΟΡΦΩΤΙΚΕΣ ΤΟΥΣ ΑΝΑΓΚΕΣ ΣΤΗ ΔΙΔΑΣΚΑΛΙΑ ΤΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗ-
ΡΙΑΚΩΝ ΑΣΚΗΣΕΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ**

Καλαθάκη Μ.

Meleses Lyceum, Heraklion, Crete, 70300, E-mail: kalath04mar@yahoo.gr

Στην εργασία αυτή συζητούνται οι απόψεις των εκπαιδευτικών του κλάδου ΠΕ4 της Δευτεροβάθμιας Εκπαίδευσης του νομού Ηρακλείου για τις επιμορφωτικές ανάγκες που έχουν στην υλοποίηση των εργαστηριακών ασκήσεων Βιολογίας στα Γυμνάσια και στα Λύκεια. Η επιμόρφωση σε εργαστηριακά θέματα αφορά άμεσα όλους τους εκπαιδευτικούς του κλάδου ΠΕ4 διότι είναι κομμάτι του καθημερινού επιστημονικού και επαγγελματικού τους αντικείμενου στα Γυμνάσια και στα Λύκεια. Ελάχιστοι από τους εκπαιδευτικούς ΠΕ4 που διδάσκουν το μάθημα της Βιολογίας και υλοποιούν τις εργαστηριακές ασκήσεις στη Βιολογία είναι βιολόγοι. Εργαλείο συλλογής των δεδομένων αποτέλεσε το ερωτηματολόγιο με κλειστού τύπου ερωτήσεις που απαντήθηκε από εκπαιδευτικούς ΠΕ4 του νομού Ηρακλείου. Όπως προκύπτει από τα στοιχεία της έρευνας, οι εκπαιδευτικοί που ερωτήθηκαν δεν έχουν λάβει επαρκή επιμόρφωση στην υλοποίηση εργαστηριακών ασκήσεων Βιολογίας κατά τις προπτυχιακές τους σπουδές ή σε επιμορφωτικά σεμινάρια από τους υπεύθυνους φορείς, αλλά επιθυμούν να λάβουν. Οι ανάγκες τους επικεντρώνονται σε θέματα σχετικά με το διδακτικό αντικείμενο, τη διδακτική και την παιδαγωγική μεθοδολογία. Επιπλέον, τους απασχολούν ειδικά θέματα που σχετίζονται με τη διαχείριση των Εργαστηρίων Φυσικών Επιστημών στα σχολεία (υπηρεσιακά, διαδικαστικά, νομικά και θέματα ασφαλείας). Η παρούσα έρευνα τεκμηριώνει τις ανάγκες επιμόρφωσης των εκπαιδευτικών του κλάδου ΠΕ4 στη διδασκαλία των εργαστηριακών ασκήσεων Βιολογίας ώστε να δοθεί η πρέπουσα προτεραιότητα από τους αρμόδιους φορείς επιμόρφωσης στην υλοποίηση σχετικών επιμορφωτικών προγραμμάτων στο μέλλον.

**THE OPINIONS OF NATURAL SCIENCE PROFESSORS OF HERAKLION-CRETE
SECONDARY EDUCATION WITH REGARD TO THEIR TRAINING NEEDS IN
THE TEACHING OF BIOLOGY'S LABORATORIAL EXERCISES**

Kalathaki M.

Meleses Lyceum, Heraklion, Crete, 70300, E-mail: kalath04mar@yahoo.gr

In this project there are under discussion the views of the Physics teachers of the Secondary Education in the prefecture of Heraklion, focusing on their educative needs during the laboratory Biology exercises in Junior and Senior High Schools. Training in laboratory issues concerns all the Physics teachers directly because it is part of their everyday scientific and professional subject in Junior and Senior High Schools. Few are those who teach Biology and carry out laboratory exercises and are actually biologists. A questionnaire consisting of closed type questions was distributed and completed by Physics teachers of the prefecture of Heraklion which was the means of collecting data. According to the results of the survey, the teachers asked have not had adequate training in carrying out laboratory Biology exercises during university studies or educative seminars but they wish to have in the future. Their needs focus on issues that have to do with the subject of Biology, teaching and methodology. In addition, they are concerned about special issues that have to do with running a Science Laboratory in schools (official, procedural, legal and security issues). This survey proves the educative needs of the Physics teachers in teaching laboratory Biology exercises in order for the service responsible for training to give priority to such educational policy in the future.

**ΕΠΙΣΤΡΑΤΕΥΣΗ ΤΗΣ γ-ΣΩΛΗΝΙΝΗΣ ΣΤΑ ΚΕΝΤΡΟΣΩΜΑΤΑ ΚΑΤΑ ΤΗ
ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΜΙΤΩΣΗΣ ΣΕ ΖΩΝΤΑΝΑ HeLa ΚΥΤΤΑΡΑ**

Καλογεροπούλου Ε.¹, Giet R.²

¹ Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο
Θεσσαλονίκης, 541 24 Θεσσαλονίκη, E-mail: ekaloger@bio.auth.gr

² Department of UMR 6061-CNRS Genétique et Développement, Faculty of medicine, University of
Rennes 1, 2 Avenue du Pr Leon Bernard, 35043 Rennes cedex, France,
E-mail: regis.giet@univ-rennes1.fr

Η εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Κυτταρικού Κύκλου στο τμήμα Umr 6061 - CNRS Γενετικής και Ανάπτυξης της Ιατρικής σχολής του Πανεπιστημίου της Ρεν 1 στη Γαλλία. Κύριος στόχος ήταν η εύρεση εκείνων των συνθηκών όπου καθιστούν δυνατή την παρακολούθηση ζωντανών ανθρώπινων κυττάρων καθώς και η μέτρηση της επιστράτευσης της γ-σωληνίνης στην περιοχή του κεντροσώματος κατά τη διάρκεια της μίτωσης, διαδικασία που ονομάζεται ωρίμανση του κεντροσώματος. Έχει παρατηρηθεί σε μονιμοποιημένα αλλά και σε ζωντανά κύτταρα σπονδυλωτών, εκτός ανθρώπινων κυττάρων, ότι επιπλέον γ-σωληνίνη επιστρατεύεται στα κεντροσώματα κατά τη διάρκεια της μίτωσης, η οποία και αυξάνει τον αριθμό των μικροσωληνίσκων που μπορεί να σχηματίσει το κεντροσώμα. Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν ζωντανά HeLa κύτταρα σεσημασμένα με Green Fluorescence Protein για την γ-σωληνίνη τα οποία και παρακολουθήθηκαν, υπό φυσιολογικές συνθήκες, κατά τη διάρκεια της μίτωσης με τη χρήση μετρήσιμης φθορίζουσας time-lapse μικροσκοπίας (quantitative fluorescence time-lapse microscopy). Παρατηρήθηκε εκτεταμένη ευαισθησία των κυττάρων αυτών στην φθορίζουσα λάμπα του μικροσκοπίου γεγονός που πολλές φορές εμπόδιζε τα κύτταρα να ολοκληρώσουν τις διαδικασίες της μίτωσης γυρίζοντας τα στην G2 φάση, το οποίο προτείνει πως η ωρίμανση του κεντροσώματος δεν δεσμεύει το κύτταρο να εισέλθει και να ολοκληρώσει την μιτωτική διαδικασία. Παρ' όλες τις δυσκολίες αρκετά κύτταρα παρακολουθήθηκαν επιτυχώς και έπειτα από πολλαπλές μετρήσεις του σήματος της Green Fluorescence Protein με τη χρήση κατάλληλου λογισμικού, παρατηρήθηκε πως η επιπλέον επιστράτευση της γ-σωληνίνης συμβαίνει σε ένα βήμα κατά την πρόφαση / προμετάφαση έπειτα από την διάλυση του πυρηνικού φακέλου και όχι βαθμιαία καθ' όλη τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου.

**RECRUITMENT OF γ -TUBULIN AT THE CENTROSOMES DURING
MITOSIS IN LIVE HeLa CELLS**

Kalogeropoulou E.¹, Giet R.²

¹ *School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, 541 24 Thessaloniki.*

E-mail: ekaloger@bio.auth.gr

² *Department of UMR 6061-CNRS Genetique et Développement, Faculty of Medicine, University of
Rennes 1, 2 Avenue du Pr Leon Bernard, 35043 Rennes cedex, France.*

E-mail: regis.giet@univ-rennes1.fr

This project was elaborated at the laboratory of Cell Cycle of the Department UMR 6061-CNRS Genetique et Développement, Faculty of Medicine of the University of Rennes 1 in France. Main goal was to find those circumstances that would allow us to monitor live human cells during mitosis and address centrosome maturation by observing the recruitment of γ -tubulin at the centrosome. It has been observed before in fixed cells and in live vertebrated cells, but not human, that additional γ -tubulin is recruited at the centrosomes during mitosis which increases the amount of microtubules the centrosome is able to nucleate. In this project HeLa cells, tagged with Green fluorescence protein for γ -tubulin, were used and monitored under physiological circumstances during mitosis by means of quantitative fluorescence time-lapse microscopy. We observed that cells were extremely sensitive to microscope's fluorescence lamp and over-illumination can block mitotic progression and even send cells back to G2 phase. This suggests that centrosome maturation does not commit the cell to enter and finish mitosis. However, many cells were successfully observed and measuring GFP- γ -tubulin intensity with appropriate software revealed that additional γ -tubulin in physiological conditions was recruited at the centrosomes after one single step in prophase / prometaphase and not gradually throughout cell cycle.

**ΣΥΝΥΠΑΡΞΗ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ ΣΕ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΑ
ΓΟΝΙΔΙΑ tRNA ΣΥΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΚΛΙΝΙΚΑ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ**

**Καλογρίδη Α.¹, Σταύρου Μ.¹, Θεοτόκης Π.¹, Καμινάρη Α.¹, Σταμάτης Κ.¹
Λεζέ Ε.², Πετσιάβα Ε.², Μαμούρης Ζ.¹, Σταθόπουλος Κ.¹, Ζίφα Α.²**

¹ Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πλούτωνος 26, 41221
Λάρισα, E-mail azifa@uth.gr ² Παιδιατρική Κλινική Α.Γ.Ν.Ν Βόλου

Τα τελευταία χρόνια σύνδρομα με βαριά κλινικά συμπτώματα όπως το MELAS και το MERRF έχουν συνδεθεί με την ανίχνευση μεταλλάξεων σε μιτοχονδριακά γονίδια που κωδικοποιούν μόρια tRNA. Δεδομένης της σημασίας των μορίων tRNA στην μιτοχονδριακή πρωτεϊνοσύνθεση, μελετήθηκε σε μία ομάδα 30 ασθενών με ποικίλα κλινικά συμπτώματα, η ύπαρξη μεταλλάξεων στα γονίδια tRNA^{Thr} και tRNA^{Phe}, που θεωρούνται από τα πιο πολυμορφικά^[1]. Ο αρχικός έλεγχος για την ύπαρξη ή όχι διαφορετικού προτύπου στην ομάδα των ασθενών έγινε με ενίσχυση των αντίστοιχων γονιδίων και SSCP ανάλυση. Τα δείγματα στα οποία εντοπίστηκαν διαφορές σε σχέση με τους μάρτυρες αλληλουχήθηκαν προκειμένου να ταυτοποιηθεί η ακριβής θέση των μεταλλάξεων. Ανιχνεύθηκαν σε 7 ασθενείς 5 μεταλλάξεις στο γονίδιο tRNA^{Thr} (A15954C, G15928A, A15924G, A15954C, C15946T, A15914G), από τις οποίες η A15914G αναφέρεται για πρώτη φορά. Από αυτές μόνο η μετάλλαξη G15928A ανιχνεύθηκε σε φυσιολογικά άτομα. Μετά από επιπλέον μελέτη των ασθενών που έφεραν τις υπόλοιπες μεταλλάξεις στο συγκεκριμένο γονίδιο, μελετήθηκε και η παράλληλη ύπαρξη μεταλλάξεων και σε άλλα μιτοχονδριακά γονίδια, όπως το tRNA^{Leu(CUN)}, και το tRNA^{Leu(UUR)}, συμπεριλαμβανομένων και τμημάτων των παρακείμενων γονιδίων, *MT-RNR2* (16S rRNA) και *MT-ND1* (NADH dehydrogenase). Ενδιαφέρον παρουσίασε το γεγονός ότι ασθενείς με κοινό γνώρισμα την καρδιομυοπάθεια, ένα από τα χαρακτηριστικά συμπτώματα των μιτοχονδριακών ασθενειών, μοιράζονται την ίδια τριάδα μεταλλάξεων tRNA^{Thr}A15954C, tRNA^{Leu(CUN)} A12308G, ND1 G3337A. Επιπλέον βιοχημική ανάλυση έδειξε μειωμένη δραστηριότητα του συμπλόκου I της αναπνευστικής αλυσίδας, η οποία πιθανότατα οφείλεται στις συγκεκριμένες μεταλλάξεις και συμβάλει στην εμφάνιση του κλινικού φαινότυπου των ασθενών^[2].

[1] Zifa, E., Giannouli, S., Theotokis, P., Stamatis, C., Mamuris, Z., Stathopoulos, C. 2007, Mitochondrial tRNA mutations: clinical and functional perturbations, RNA Biol. 4, 38-66.

[2] Zifa E.,^a P. Theotokis^a, A. Kaminari^a, H. Maridakis^b, H. Leze^b, E. Petsiava^b, Z. Mamuris^{a,*} and C. Stathopoulos^{a,c,*} A novel G3337A mitochondrial ND1 mutation related to cardiomyopathy co-segregates with tRNA^{Leu(CUN)} A12308G and tRNA^{Thr} C15946T mutations, Mitochondrion, 2008

CO-SEGREGATION OF MITOCHONDRIAL tRNA GENE MUTATIONS IS RELATED TO CLINICAL PERTURBATIONS

Kalogridi A.,¹ Stavrou M.,¹ Theotokis P.,¹ Kaminari A.,¹ Stamatis C.,¹ Leze E.,² Petsiava E.,² Mamuris Z.,¹ Stathopoulos C.,² Zifa A.¹

¹ Department of Biochemistry & Biotechnology, University of Thessaly, 26 Ploutonos st., 41 221 Larissa, Greece, email azifa@uth.gr

² Paediatric Clinic, Achillopouion Regional General Hospital of Volos, Greece

During recent years, mutations in specific mitochondrial tRNA genes have been associated with severe clinical syndromes like MELAS and MERFF. Given the fact that tRNA molecules hold a central role in mitochondrial protein synthesis, 30 patients with various clinical perturbations were screened to determine the presence of existing mutations in the tRNA^{Thr} and tRNA^{Pro} genes, among the most polymorphic^[1]. SSCP analysis was performed after amplification of the corresponding genes with PCR. We detected 5 mutations in tRNA^{Thr} gene from 7 different patients (A15954C, G15928A, A15924G, A15954C, C15946T, A15914G). Among those mutations, the A15914G mutation is reported for the first time. In addition, only the G15928A mutation was detected in the control population. Subsequent analysis was extended in additional mitochondrial genes (tRNA^{Leu(CUN)}, tRNA^{Leu(UUR)} and its neighbouring 16S rRNA and ND1). Interestingly, patients with cardiomyopathy as a common symptom, exhibited co-segregation of the same three mutations, namely tRNA^{Thr} A15954C, ND1 G3337A, tRNA^{Leu(CUN)} A12308G. Additional biochemical analysis, revealed reduced ND1 activity, which is probably attributed to the presence of those mutations and contributes to the appearance of the clinical phenotype^[2].

[1] Zifa, E., Giannouli, S., Theotokis, P., Stamatis, C., Mamuris, Z., Stathopoulos, C. 2007, Mitochondrial tRNA mutations: clinical and functional perturbations, RNA Biol. 4, 38-66.

[2] Zifa E.,^a P. Theotokis^a, A. Kaminari^a, H. Maridaki^b, H. Leze^b, E. Petsiava^b, Z. Mamuris^{a,*} and C. Stathopoulos^{a,c,*} A novel G3337A mitochondrial ND1 mutation related to cardiomyopathy co-segregates with tRNA^{Leu(CUN)} A12308G and tRNA^{Thr} C15946T mutations, Mitochondrion, 2008

ΥΠΕΡ-ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΑΠΟΔΟΜΗΣΗΣ ΤΟΥ GHR ΩΣ ΑΙΤΙΑ ΤΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΤΟΥ GH ΣΗΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ GHTD

Καμζέλας Κ.¹, Ροχάς Χιλ Α.-Π.¹, Καραγεώργου Μ.¹, Σπηλιώτη Β.Ε.¹

¹Ερευνητικό Εργαστήριο Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας, Μονάδας Παιδιατρικής
Ενδοκρινολογίας και Διαβήτη, Παιδιατρικής Κλινικής, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου
Πατρών. E-mail: kostaskamzelas@hotmail.com

Περιγράψαμε τη Διαταραχή Μεταγωγής Σήματος της GH (GHTD) σε 4 άτομα με κοντό ανάστημα, με πρόβλημα στην μεταγωγή του σήματος της GH με φυσιολογικές δοκιμασίες παραγωγής GH και IGF-1. Ένας ασθενής είχε αυξημένα επίπεδα CIS [αναστολέας του GHR με δράση λιγάσης της ουβικουτινης (Ub)] **Στόχος:** Να μελετηθούν οι αυξημένοι ανασταλτικοί μηχανισμοί ως πιθανό αίτιο του GHTD. Αναπτύχθηκαν πρωτογενείς καλλιέργειες ινοβλαστών από βιοψίες ούλων 1 ασθενούς (Α) και 1 μάρτυρα (Μ). Η έκφραση και η τοποθεσία των πρωτεϊνών CIS, Ub, GHR και c-CBL (ub-ligase) μελετήθηκαν σε βασικό επίπεδο και με επαγωγή με hGH 200, 1000ng/ml, Lactacystin 5nM (Lac) με ή χωρίς GH, με ανοσοφθορισμό (ΑΦ) και Western Immunoblotting (WI). Η ενεργότητα του πρωτεασώματος μετρήθηκε με Proteasome-Glo Assay. Με WI και ΑΦ ο Α έδειξε αυξημένη έκφραση της CIS κυρίως μεμβρανική (Μεμ) και αυξημένη έκφραση της Ub κυτταροπλασμα-τικά (κυτ), σε σύγκριση με τον Μ. Δεν βρέθηκε διαφορά στην ποσοτική έκφραση του GHR, αλλά στον Α υπήρχε περιτυρητική συσσώρευση, ενώ ο Μ είχε Μεμ, με ή χωρίς επαγωγή με GH. Μετά από επαγωγή με Lac ή με Lac/GH ο GHR ήταν αυξημένος στον Α με Μεμ έκφραση. Τα επίπεδα έκφρασης του c-CBL ήταν αυξημένα στον Α σε σχέση με τον Μ. Σε σύγκριση με τον Μ ο Α παρουσίασε μεγαλύτερη ενεργότητα πρωτεασώματος. Στη GHTD φαίνεται ότι η αύξηση της δράσης της CIS και c-CBL πιθανών να αυξάνει την ενδοκύτωση του GHR. Η αύξηση της αποδόμησης μέσω πρωτεασώματος του συμπλέγματος GHR/JAK2 και η μειωμένη διαθεσιμότητα του GHR στην μεμβράνη, μπορεί να είναι αίτιο της παθολογικής μετάδοσης του σήματος της GH στη GHTD.

INCREASED ACTIVITY OF THE DEGRADATION MECHANISM OF GHR AS A CAUSE OF ABNORMAL GH SIGNALING IN GH TRANSDUCTION DEFECT (GHTD)

Kamzelas K.¹, Rojas-Gil A.-P.¹, Karageorgiou M.¹, Spiliotis B.E¹

¹*Pediatric Endocrine Research Laboratory, Division of Pediatric Endocrinology and Diabetes,
Department of Pediatrics, University of Patras School of Medicine.*

We have described Growth Hormone Transduction Defect (GHTD) in 4 children with impaired GH signal transduction pathway and impaired activation of STAT-3. Those children had normal GH secretion and IGF-1 generation. One of those patients was found to have increased CIS levels [GHR inhibitor with Ubiquitin (Ub) ligase action]. **Objective:** To study the enhanced inhibition mechanisms, in order to define their involvement in the child's idiopathic short stature. Primary cultures of fibroblasts from gingival biopsies were developed from 1 patient (P) and 1 control (C). The expression levels and the location of CIS, Ub, GHR and c-CBL (ubiquitin ligase) proteins were studied at the basal level and after induction with hGH 200, 1000 ng/ml and Lactacystin (Lac) 5nM with/without GH with Immunofluorescence (IF) and Western Immunoblotting (WI). The proteasome activity was measured with Proteasome-Glo Assay. It was observed by WI and IF that the P cells had increased CIS expression, mainly at the membrane (Mem) and increased Ub expression with cytoplasmic (Cyt) accumulation, in comparison to the C. Furthermore, no differences were observed in the quantitative expression of GHR, although the P cells displayed perinuclear localization, whereas C had Mem expression with or without GH induction. GHR expression after induction with Lac or with Lac/GH showed increased Mem expression in the P cells in comparison to the C cells. The expression levels of c-CBL were increased in the P cells in comparison to the C cells. The P had higher proteasome activity than the C. The increased action of CIS and c-CBL may enhance endocytosis of GHR. The increased protein degradation of the GHR/JAK2 complex via the proteasome and the reduced membrane availability of GHR could be a cause of the impaired GH signal transduction in GHTD.

**ΑΝΤΙΜΥΚΗΤΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ ΣΤΡΕΠΤΟΜΥΚΗΤΩΝ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΩΝ ΑΠΟ
ΤΟΝ ΕΛΛΑΔΙΚΟ ΧΩΡΟ ΕΝΑΝΤΙ ΤΟΥ ΦΥΤΟΠΑΘΟΓΟΝΟΥ ΜΥΚΗΤΑ
FUSARIUM OXYSPORUM.**

Κανινή Γ., Γκότζης Σ., Κατσιφάς Ε. και Καραγκούνη Α.Δ.

*Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, Ομάδα Μικροβιολογίας,
15781 Αθήνα. E-mail: akar@biol.uoa.gr*

Η φυτοπαθογόνος δράση του *Fusarium oxysporum* αντιμετωπίζεται με την εφαρμογή συνθετικών χημικών μυκητοκτόνων. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε ο έλεγχος του *Fusarium oxysporum* χρησιμοποιώντας ενδογενή στελέχη στρεπτομυκήτων που εκφράζουν αντιμυκητιακή δραστηριότητα. Συγχρόνως εξετάστηκε η πιθανότητα να οφείλεται αυτή η αντιμυκητιακή ικανότητα σε συγκεκριμένα ένζυμα. 523 Στρεπτομύκητες προερχόμενοι από την τράπεζα στελεχών του εργαστηρίου μας μελετήθηκαν ως προς την ανασταλτική τους ικανότητα έναντι του *Fusarium oxysporum* υπολογίζοντας το πηλίκο του εμβადού της ζώνης αναστολής γύρω από τις αποικίες καθενός από τους εξεταζόμενους Στρεπτομύκητες προς το εμβαδόν της αποικίας. Επιπρόσθετα, στο υπερεκείμενο υγρών καλλιεργειών υπολογίστηκε η ενζυμική ενεργότητα ξυλανάσης, κυτταρινάσης και χιτινάσης με τη μέθοδο DNS (Dinitrosalicylic Acid method) και με την τεχνική της χρώσης με ερυθρό του Congo (Congo red staining method). Από τα αποτελέσματα προέκυψε ότι 39 Στρεπτομύκητες, που αντιστοιχούν στο 7,5 % του συνόλου των εξεταζόμενων στελεχών, είχαν την ικανότητα να αναστείλουν την ανάπτυξη του *Fusarium oxysporum*, ενώ 14 Στρεπτομύκητες έδειξαν την υψηλότερη αντιμυκητιακή δράση. Μεταξύ των 14 Στρεπτομυκήτων επιλέχθηκαν δύο στελέχη εξαιτίας της υψηλότερης ενζυμικής ενεργότητάς τους στα εν λόγω ένζυμα. Η ανάλυση της αλληλουχίας του γονιδίου που κωδικοποιεί το 16s rRNA έδειξε ότι οι επιλεγμένοι Στρεπτομύκητες ανήκουν στα είδη *Streptomyces longisporoflavus* και *Streptomyces lavendulae* αντίστοιχα. Επόμενο στόχος είναι η μελέτη των επιλεγμένων στελεχών ως προς την ικανότητά τους να προστατέψουν φυτά ντομάτας που είναι ο συνήθης στόχος του *Fusarium oxysporum*.

**ANTIFUNGAL ACTIVITY AGAINST *FUSARIUM OXYSPORUM* BY
STREPTOMYCES ISOLATES FROM GREEK SOIL**

Kanini G., Gotzis S., Katsifas E. and Karagouni A.D.

*University of Athens, Faculty of Biology, Dept. of Botany, Microbiology group, 15781 Athens,
Greece E-mail: akar@biol.uoa.gr*

The phytopathogenic activity of *Fusarium oxysporum* is treated usually by the application of synthetic fungicides. This study aimed to control *Fusarium oxysporum* by using indigenous *Streptomyces* isolates currying antifungal activity and to examine whether this activity is caused by specific enzymes. 523 *Streptomyces* isolates from our laboratory culture collection were examined for their activity against *Fusarium oxysporum* by measuring the area of the inhibition zone around each streptomycete colony as well as the area of the colony itself; results expressed as the quotient of the two areas. In addition, xylanase, cellulase and chitinase activity was estimated in the supernatant of liquid cultures by the dinitrosalicylic acid method and the agar diffusion technique (Congo red method). 39 streptomycetes (7,5 % of the total of examined isolates) were able to inhibit the growth of *Fusarium oxysporum* while fourteen *Streptomyces* isolates provoked the highest fungal growth inhibition. Among the fourteen streptomycetes two isolates were selected due to their highest enzymatic activity. 16s rRNA gene sequence data showed that the isolates belonging to the *Streptomyces longisporoflavus* and *Streptomyces lavendulae* subclade. Further studies are processing in order to examine the ability of the selected microorganisms to protect tomato plants which are a common target of *Fusarium oxysporum*.

ΦΥΤΑ ΙΔΙΑΙΤΕΡΟΥ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ ΣΤΗΝ ΠΟΛΗ ΤΩΝ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

Καντσα Α., Κοκκίνη Σ.

Εργαστήριο Συστηματικής Βοτανικής και Φυτογεωγραφίας, Τομέας Βοτανικής, Τμήμα
Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 541 24, Θεσσαλονίκη.

E-mail: akantsa@bio.auth.gr, kokkini@bio.auth.gr

Μπορεί το αστικό περιβάλλον να φιλοξενεί είδη που αξίζουν προστασίας και διατήρησης; Στα πλαίσια της ταξινόμησης της φυτικής ποικιλότητας στον αστικό ιστό των Ιωαννίνων από την πρώτη συγγραφέα, επιχειρείται η διερεύνηση της παρουσίας και της κατανομής Φυτών Ιδιαίτερου Ενδιαφέροντος (ΦΙΕ) στους 10 ανθρωπογενείς και τέσσερις ημιφυσικούς τύπους βιοτόπων που αναγνωρίστηκαν. Ως ΦΙΕ χαρακτηρίζονται (α) τα φυτά περιορισμένης εξάπλωσης (ελληνικά και βαλκανικά ενδημικά), (β) όσα αναφέρονται από την εθνική και κοινοτική νομοθεσία [Π.Δ. 67/1981, Κανονισμός (ΕΚ) 338/97, Οδηγία 92/43/ΕΟΚ] και (γ) όσα περιλαμβάνονται στους καταλόγους διεθνών οργανισμών και συμβάσεων για την προστασία της βιοποικιλότητας [CITES, IUCN]. Διαπιστώθηκε ότι από τα 382 αυτοφυή φυτικά *taxa* που απαντούν στα Ιωάννινα, τα 27 (ποσοστό 7,1%) συνιστούν ΦΙΕ. Μεταξύ αυτών, τα μέλη της οικογένειας Orchidaceae και τα φυτά περιορισμένης εξάπλωσης καταλαμβάνουν τα υψηλότερα ποσοστά που έχουν καταγραφεί σε ελληνική πόλη (1,3% και 4,7% αντίστοιχα). Πέντε ΦΙΕ, τα *Aurinia saxatilis* subsp. *orientalis*, *Campanula sparsa* subsp. *frivaldskyi*, *Scabiosa tenuis*, *Stachys germanica* subsp. *heldreichii* και *Verbascum undulatum*, βρέθηκαν να σχηματίζουν κατά τόπους εκτεταμένου πληθυσμούς σε περιοχές της πόλης. Τέλος, αξίζει να αναφερθεί το γεγονός ότι όλοι ανεξαιρέτως οι τύποι βιοτόπων, ακόμη και οι έντονα διαταραγμένοι φιλοξενούν τουλάχιστον ένα ΦΙΕ. Η σχετική αφθονία ΦΙΕ στα Ιωάννινα αντανακλά (α) τη γειτνίαση με τη Βόρεια Πίνδο, ένα σημαντικό κέντρο βιοποικιλότητας (hotspot) των Βαλκανίων, (β) τη διείσδυση του ημιφυσικού περιβάλλοντος τον αστικό ιστό και (γ) την ύπαρξη βιοτόπων - «καταφυγίων» για τα αυτοφυή φυτικά είδη στον αστικό ιστό (τείχη του Κάστρου, χώροι οργανωμένου πρασίνου, περιαστικό πευκοδάσος και εγκαταλειμμένοι βοσκότοποι).

**PLANTS OF CONSERVATION INTEREST IN THE CITY OF IOANNINA
(EPIRUS, NW GREECE)**

Kantsa A., Kokkini S.

*Laboratory of Systematic Botany and Phytogeography, Department of Botany, School of Biology,
Aristotle University of Thessaloniki, GR-54124, Thessaloniki, Greece,
E-mail: akantsa@bio.auth.gr, kokkini@bio.auth.gr*

Are there in the urban environment species worthy of conservation? The present work is an effort to study Plants of Conservation Interest (PCIs) in the city of Ioannina (Region of Epirus, NW Greece) and their distribution among the 10 urban and four semi-natural habitat types recorded in the urban complex. The term PCIs refers to taxa (i) of narrow distribution (i.e. Greek and Balkan endemics), (ii) those listed in national and international legislation [Presidential Decree 67/1981, Council Regulation (EC) 338/97, Council Directive 92/43/EEC] and (iii) those included in appendices and red lists of organizations and conventions for the conservation of biodiversity [CITES, IUCN]. Floristic data came from the first author's research on plant diversity in the city. In total, 382 spontaneous plant *taxa* occur in Ioannina, out of which 27 consist PCIs (7.1%). Orchids and plants of narrow distribution occupy the highest proportions ever recorded in a Greek city (1.3% and 4.7% respectively). The following PCIs, *Aurinia saxatilis* subsp. *orientalis*, *Campanula sparsa* subsp. *frivaldskyi*, *Scabiosa tenuis*, *Stachys germanica* subsp. *heldreichii* and *Verbascum undulatum*, form locally dominant populations in certain parts of the city. It should be noted that PCIs are found in every recorded habitat type, even in the most disturbed. The relative abundance of PCIs in Ioannina should be attributed to (i) the proximity of the city to Northern Pindos, which is an important biodiversity hotspot in the Balkan Peninsula, (ii) the occurrence of semi-natural habitats within the urban agglomeration and (iii) the occurrence of specific habitats - refuges for wild growing plants (Castle Walls, public gardens, urban forest and old pastures).

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΦΥΣΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΠΟΥ ΕΝΙΣΧΥΟΥΝ ΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟ-
ΤΗΤΑ ΤΟΥ ΠΡΩΤΕΑΣΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΚΑΘΥΣΤΕΡΟΥΝ ΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ
ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΓΗΡΑΝΣΗΣ**

Καπέτα Σ., Χονδρογιάννη Ν.Ν. και Ε.Σ. Γκόνος

*Εργαστήριο Μοριακής & Κυτταρικής Γήρανσης, Ινστιτούτο Βιολογικών Εφαρμογών
& Βιοτεχνολογίας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, Λεωφ. Βασ. Κων/νου 48, 11635 Αθήνα.*

E-mail: skapeta@eie.gr

Η εμφάνιση της αναδιπλασιαστικής γήρανσης σε φυσιολογικούς ανθρώπινους ινοβλάστες, εξαρτάται τόσο από γενετικούς όσο και από περιβαλλοντικούς παράγοντες. Το πρωτεάσωμα, ο βασικός πρωτεολυτικός μηχανισμός του κυττάρου, είναι υπεύθυνο για την αποικοδόμηση τόσο των φυσιολογικών όσο και των κατεστραμμένων πρωτεϊνών. Μεταβολές στην ενεργότητα του πρωτεασώματος παρουσιάζονται σε διάφορα βιολογικά φαινόμενα, όπως είναι η γήρανση. Συγκεκριμένα, στη γήρανση μειώνονται τόσο οι ενεργότητες όσο και τα επίπεδα έκφρασης των καταλυτικών υπομονάδων του πρωτεασώματος. Αντιθέτως, η ενεργοποίηση του πρωτεασώματος επιμηκύνει το προσδόκιμο ζωής των ανθρώπινων ινοβλαστών. Ο σκοπός της συγκεκριμένης εργασίας είναι ο προσδιορισμός φυσικών ουσιών που ενισχύουν την ενεργότητα του πρωτεασώματος και πιθανών να παρουσιάζουν αντι-γηραντικές ιδιότητες. Μελετήθηκε η επίδραση διαφόρων καθαρών ουσιών, που προέρχονται από φυτά της ελληνικής χλωρίδας στην ενεργότητα του πρωτεασώματος σε ανθρώπινους εμβρυϊκούς ινοβλάστες, HFL-1. Οι ουσίες χορηγήθηκαν σε νεαρούς ανθρώπινους ινοβλάστες και επιλέχθηκε εκείνη η οποία παρουσίαζε τα παρακάτω χαρακτηριστικά: α) στατιστικά σημαντική αύξηση στις τρεις ενεργότητες του πρωτεασώματος, β) αύξηση των πρωτεασωματικών υπομονάδων τόσο σε επίπεδο έκφρασης RNA όσο και πρωτεΐνης, γ) αυξημένα επίπεδα δομημένου πρωτεασώματος, δ) μειωμένα επίπεδα ελευθέρων ριζών οξυγόνου και οξειδωμένων πρωτεϊνών. Τα παραπάνω αποτελέσματα υποδεικνύουν τις ωφέλιμες επιδράσεις της ουσίας αυτής σε ανθρώπινους ινοβλάστες και προτείνουν ότι η επαγωγή του πρωτεασώματος μέσω φυσικών ουσιών παρέχει νέες δυνατότητες για θεραπευτικές και αντιγηραντικές εφαρμογές.

IDENTIFICATION OF NATURAL COMPOUNDS THAT ENHANCE PROTEASOME ACTIVITY AND DELAY SENESCENCE

Kapeta S., Chondrogianni N., and E.S. Gonos

Molecular & Cellular Ageing Laboratory, Institute of Biological Research & Biotechnology, National Hellenic Research Foundation, 48 Vas. Constantinou Ave. 11635 Athens Email:skapeta@ie.gr

Normal human fibroblasts undergo replicative senescence due to both genetic and environmental factors. The proteasome is the major cellular proteolytic machinery, consisted of both α -regulatory and β -catalytic subunits, responsible for the degradation of both normal and damaged proteins. Alterations of proteasome function have been recorded in various biological phenomena including ageing and replicative senescence. Loss of proteasome activities and function has been reported upon replicative senescence and oxidative stress. In contrast, proteasome activation extends lifespan in human fibroblasts. The aim of this study was to identify natural compounds and extracts that enhance proteasome activity and may exhibit anti-ageing properties. Specifically, we studied the effect of several compounds and extracts derived from greek plants, on proteasome activity of HFL-1 human embryonic fibroblasts. Out of the several compounds tested, we have identified one that caused the following characteristics to the exposed cells: a) a significant increase of all three proteasome activities namely, chymothrypsin-like, thrypsin-like and peptidylglutamylpeptide-hydrolyzing activity, b) increased RNA and protein expression levels of proteasome subunits, c) increased amounts of assembled proteasome, d) decreased intracellular levels of reactive oxygen species (ROS). The results so far indicate the beneficial effects of this compound on human fibroblasts. The induction of proteasome through natural compounds provides new insights in anti-aging and therapeutic strategies.

**ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ *AtMTH3* ΑΠΟ
ΤΟ *ARABIDOPSIS THALIANA*, ΠΟΥ ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΕΙ ΜΙΑ WD40 ΠΥΡΗΝΙΚΗ
ΠΡΩΤΕΪΝΗ**

Καπόλας Γ., Κατσαρέλη Ε., Ζωγραφίδης Α., Κυριλής Φ. και Κ. Χαραλαμπίδης

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, 15781 Αθήνα

Το πρωτεϊνικό μοτίβο WD (γνωστό και ως μοτίβο ασπαρτικού – τρυπτοφάνης) έχει προσδιοριστεί σε αρκετές ευκαρυωτικές πρωτεΐνες που συμμετέχουν σε πληθώρα κυτταρικών και μοριακών διεργασιών. Βιβλιογραφικά δεδομένα αναφέρουν τις πρωτεΐνες WD να λαμβάνουν χώρα ως «υποστρώματα» για τη δημιουργία πρωτεϊνικών συμπλόκων, ή ως «διαμεσολαβητές» άλλων πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων. Ολοένα και περισσότερο, αναγνωρίζεται η συμμετοχή της υπεροικογένειας WD στη ρύθμιση οργανογενετικών, ιστοειδικών καθώς και αναπτυξιακών γεγονότων στα φυτά. Το γονίδιο *AtMTH3* κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη 330 αμινοξέων με μοτίβα WD, άγνωστης μέχρι σήμερα λειτουργίας. Πειράματα συμπληρωματικότητας, χρησιμοποιώντας το θερμοευαίσθητο στέλεχος *degrop* Y40075, αποδεικνύουν πως το γονίδιο *AtMTH3* είναι το ορθόλογο του γονιδίου YKL 018ws από τη ζύμη που κωδικοποιεί τη μεθυλοντρασφεράση της ιστόνης H3. Πειράματα υποκυτταρικού εντοπισμού καταδεικνύουν ότι η πρωτεΐνη WD του *AtMTH3* εντοπίζεται αποκλειστικά στο πυρηνόπλασμα του φυτικού κυττάρου. Ο προσδιορισμός των επιπέδων έκφρασης του συγκεκριμένου γονιδίου με τη μέθοδο του ημιποσοτικού RT – PCR έδειξε ότι τα επίπεδα μεταγραφής του είναι ιδιαίτερα υψηλά κατά τη διάρκεια της βλαστητικής και αναπαραγωγικής φάσης ανάπτυξης του φυτού. Η ανάλυση F1 ομόζυγων *Atmth3* μεταλλαγμένων στελεχών (SALK T-DNA) υποδεικνύει ότι τα ολικής απώλειας λειτουργίας φυτά παρουσιάζουν θνησιγόνο φαινότυπο στα στάδια του αρτίβλαστου των 7 ημερών. Μελλοντικός στόχος του εργαστηρίου αποτελεί ο λεπτομερής προσδιορισμός της λειτουργίας του παραπάνω γονιδίου, αλλά και της εμπλοκής του σε συγκεκριμένες αναπτυξιακές διαδικασίες.

**FUNCTIONAL AND MOLECULAR ANALYSIS OF THE ARABIDOPSIS
THALIANA *AtMTH3* GENE ENCODING A WD40 REPEATS NUCLEAR
PROTEIN**

Kapolas G., Katsareli E., Zografidis A., Kirilis F., and K. Haralampidis

University of Athens, Faculty of Biology, Department of Botany, 15784 Athens, Greece

The WD motif (also known as the Trp-Asp motif) is found in a multitude of eukaryotic proteins involved in a variety of cellular processes. Where studied, repeated WD motifs act as a site for protein-protein interactions, and proteins containing those repeats (WDRs) are known to serve as platforms for the assembly of protein complexes or mediators of transient interplay among other proteins. In the model plant *Arabidopsis thaliana*, members of this superfamily are increasingly being recognized as key regulators of plant-specific developmental and organogenesis events. *AtMTH3* encodes a 330aa wd40 repeat protein of unknown function. Complementation experiments using the temperature-sensitive yeast degon strain Y40075 indicate that *Arabidopsis AtMTH3(At5g14530)* encodes probably the yeast ortholog histone H3 methyltransferase. Subcellular localization experiments confirmed that the protein is localized exclusively in the nucleoplasm of the plant cell. Semi- quantitative RT – PCR analysis showed that the gene is differentially upregulated during vegetative and reproductive development. A preliminary transgenic approach indicates that the homozygous loss-of-function mutant lines (SALK T-DNA) display most likely a seedling-lethal phenotype. Our future affords will focus on experiments in order to address the functional role of the gene and its involvement in specific developmental processes.

ΕΚΦΡΑΣΗ ΚΑΙ ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΟΓΛΥΚΑΝΗΣ AGRIN ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΠΡΩΙΜΟΥ ΕΜΒΡΥΟΥ

Καπόλου Ε., Ζάγκρης Ν.

*Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρων και Ανάπτυξης, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα 26500. E-mail: zagris@upatras.gr*

Οι πρωτεογλυκάνες, μόρια της εξωκυττάριας ουσίας, αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και με άλλα μορφοθυμιακά μόρια (γλυκοπρωτεΐνες, ιντεγκρίνες) καθώς επίσης και με αυξητικούς παράγοντες (FGF, TGF- β , Wnt, hedgehog). Οι πρωτεογλυκάνες ενεργοποιούν ποικίλα μονοπάτια μεταγωγής σήματος και επάγουν πλειοτροπικές αποκρίσεις από τα κύτταρα καθώς συμμετέχουν στον έλεγχο της κυτταρικής προσκόλλησης, μετανάστευσης και πολλαπλασιασμού, διαφοροποίησης και επιβίωσης κυττάρων και της μορφογένεσης ιστών και οργάνων. Η agrin, πρωτεογλυκάνη θεϊκής ηπαράνης, έχει ανιχνευτεί στις βασικές μεμβράνες των εγκεφάλου, νευρομυϊκής σύναψης, πνεύμονα και νεφρού. Έκφραση της agrin δεν έχει μελετηθεί στο πρώιμο έμβρυο. Στην παρούσα εργασία μας, με τη μέθοδο της RT-PCR και του ανοσοφθορισμού, μελετήσαμε πότε αρχίζει να εκφράζεται και πού εκφράζεται η agrin κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του πρώιμου εμβρύου όρνιθας από το στάδιο X (μορίδιο) μέχρι το HH17 (29 σωματίτες/οργανογένεση). Το mRNA της agrin πρωτοανιχνεύτηκε, σε χαμηλά επίπεδα, στο στάδιο HH1-HH2 (προχωρημένο βλαστίδιο) και η έκφρασή του ρυθμίζεται αναπτυξιακά. Η έκφραση του mRNA της agrin ήταν υψηλή στο στάδιο HH3 (μέσα σταδίου γαστρίδιου), χαμηλότερη στο στάδιο HH4-5 (πρώιμο νευρίδιο), υψηλή στο στάδιο HH8-9 (5-6 σωματίτες) και χαμηλότερη στο στάδιο HH10 (10 σωματίτες). Ένταση φθορισμού της πρωτεΐνης agrin ανιχνεύτηκε και στις τρεις βλαστικές στιβάδες στο στάδιο HH4 (γαστρίδιο), καθώς και στο νευροεπιθήλιο στο στάδιο HH8 (4 σωματίτες). Στο στάδιο HH11 (13 σωματίτες) ο φθορισμός της agrin ήταν ισχυρός στο νευρικό σωλήνα και στους σωματίτες, ενώ ανιχνεύτηκε αξιοσημείωτη ένταση στο άνω τοίχωμα του πεπτικού συστήματος και στα προκαρδιακά κύτταρα. Στο στάδιο HH17, ο φθορισμός της agrin ήταν έντονος στο νευροεπιθήλιο του νευρικού σωλήνα, ενώ ανιχνεύτηκε και στις βασικές μεμβράνες του διεγκεφάλου και μυελεγκεφάλου. Ένταση έκφρασης της agrin εντοπίστηκε στο φακό και στον αμφιβληστροειδή του οφθαλμού και στο μυοτόμο, αλλά όχι στο δερμοτόμο και σκληροτόμο των σωματιών. Έντονη ήταν η έκφραση της agrin στο ενδοκάριο και στο μυοκάριο στην καρδιά και στα τοιχώματα του πεπτικού συστήματος. Επίσης, μελετήσαμε το ρόλο της agrin, μέσω αναστολής της λειτουργίας της, με τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι αυτής. Καλλιέργησαμε έμβρυα στα στάδια HH1-2 και HH3-4 με την παρουσία μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι της agrin. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι η απουσία της πρωτεΐνης agrin προκαλεί ανωμαλίες στη μορφογένεση του εγκεφάλου, της νωτοχορδής, των σωματιών και της καρδιάς. Η agrin αρχίζει να εκφράζεται με την έναρξη των μορφο-γενετικών κινήσεων της γαστρίδωσης, ρυθμίζεται αναπτυξιακά και είναι σημαντικός ο ρόλος της στη διαφοροποίηση κυττάρων και στη μορφογένεση ιστών και οργάνων στο πρώιμο έμβρυο.

Η εργασία αυτή χρηματοδοτήθηκε από το Πρόγραμμα European Social Fund, Operational Program for Educational/Vocational Training II (ΕΡΕΑΕΚ II) και ειδικότερα το πρόγραμμα «ΠΥΘΑΓΟΡΑΣ II» και από το Πρόγραμμα «Κ. Καραθεοδωρή» (B.397) του Πανεπιστημίου Πατρών.

EXPRESSION OF AGRIN IN THE EARLY EMBRYO

Kapolou E., Zagris N.

*Division of Genetics and Cell and Developmental Biology, Department of Biology, University of
Patras, Patras 26500, Greece. E-Mail: zagris@upatras.gr*

Agrin is a heparan sulfate proteoglycan and has been studied extensively in the late embryonic and postnatal nervous system and muscle. Agrin seems to play a critical role in the mediation of axonal growth and path finding. We studied the expression of agrin by RT-PCR and immunofluorescence in the chick embryo from stages X (morula) to HH17 (29 somites). Agrin mRNA was first detectable at low levels at stage HH1-HH2 (late blastula) and its expression was developmentally regulated. Expression of agrin mRNA was high at stage HH3 (intermediate streak), lower at stage HH4-5 (head process), high at stage HH8-9 (5-6 somites) and lower at stage HH10 (10 somites). Agrin protein fluorescence was strong in the three germ layers at stage HH4 (definitive streak) and was strong in the neuroepithelium at stage HH8 (4 somites). At stage HH11 (13 somites), agrin fluorescence was strong in the neural tube and somites and was intense in the gut roof plate and in the heart primordia. By stage HH17, agrin fluorescence was strong in the neuroepithelium of neural tube and was detected in the laminal surface of the diencephalon and myelencephalon. Agrin expression was strong in the lens and retina in the eye, was strong in the myotome but was not expressed in the dermatome and sclerotome in the somites, was strong in myocardium and endocardium in the heart and in the gut walls. Immunodetection of agrin was intense in neuroepithelium and mesenchymal tissues as they epithelialize and the expression of agrin was developmentally regulated.

*Supported by grants from the European Social Fund (ESF) and particularly the program
"Pythagoras II" and from the University of Patras ("K. Karatheodori" grant B.397)*

ΒΙΟΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΑΠΟΡΡΙΠΤΟΜΕΝΩΝ ΑΣΠΟΝΔΥΛΩΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΑΡΑΚΤΙΑ ΑΛΙΕΙΑ ΜΙΚΡΗΣ ΚΛΙΜΑΚΑΣ ΣΤΟ ΣΑΡΩΝΙΚΟ ΚΟΛΠΟ: ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Καραγιάννη Π., Φρυγανιώτης Κ., Βουλτσιάδου Ε., Χιντήρογλου Χ.

Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α. Π. Θ., Θεσ/νίκη 54 124 E-mail: penelope@bio.auth.gr

Η εμπορική αλιεία αποτελεί καθοριστικό μέσο μεταβολής και αλλοίωσης της δομής και της λειτουργίας των θαλάσσιων βενθικών βιοκοινοτήτων, καθώς μεγάλο μέρος των απορριπτόμενων αλιευμάτων αποτελείται από ασπόνδυλους οργανισμούς, αρκετοί από τους οποίους είναι εν δυνάμει εμπορεύσιμοι. Η παρούσα εργασία, ενταγμένη σε ένα ευρύτερο πρόγραμμα του Τμήματος Βιολογίας του Α.Π.Θ., στοχεύει στην καταγραφή της βιοποικιλότητας των απορριπτόμενων θαλάσσιων ασπόνδυλων οργανισμών της παράκτιας αλιείας στην περιοχή του Αργοσαρωνικού κόλπου. Σε μια πρώτη φάση, συλλέχθηκαν 24 δείγματα (δίχτυα), από 4 αλιευτικά σκάφη στις Σπέτσες. Η ανάλυση των δειγμάτων αποκάλυψε 652 άτομα ασπονδύλων που ταξινομήθηκαν σε 48 είδη. Οι επικρατέστερες ομάδες ήταν τα Bivalvia (25,0%), τα Gastropoda (20,8%) και τα Malacostraca (16,7%), ενώ ακολουθούν τα Echinoidea (12,5%), Demospongiae (12,5%), Anthozoa (4,2%), Asteroidea (4,2%) και Polychaeta (4,2%). Η συνολική βιομάζα που συλλέχθηκε ήταν 6.606,45g και η μέση τιμή ανά δείγμα $314,59 \pm 296,79g$ (min: 49,52g, max: 1233,53g). Τα αποτελέσματα φαίνονται παρόμοια με εκείνα ανάλογης έρευνας που έχει πραγματοποιηθεί σε άλλες περιοχές του Νοτίου Αιγαίου. Η ποικιλότητα των απορριπτόμενων ασπονδύλων που παρατηρήθηκε, κρίνεται ως ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα από ποιοτική και ποσοτική άποψη καθώς ορισμένα από τα είδη που απορρίπτονται έχουν διαπιστωμένη εμπορική αξία όπως το *Calappa granulata* και τα δίθυρα της οικογένειας Pectinidae ενώ άλλα, όπως οι σπόγγοι, δυνητική χρηστική αξία. Τόσο από την παρούσα μελέτη όσο και από άλλες ανάλογες προκύπτει πως η βιοπαρακολούθηση των απορριπτόμενων οργανισμών αποτελεί ένα ζητούμενο μείζονος σημασίας για την αποτίμηση της οικολογικής ποιότητας των παράκτιων θαλάσσιων υδάτων.

BIODIVERSITY OF INVERTEBRATES DISCARDED IN SMALL-SCALE COSTAL FISHERIES IN SARONIKOS GULF: A PRELIMINARY REPORT

Karagianni P., Friganiotis K., Voultziadou E., Chintiroglou C.

*Dept of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece,
E-mail: penelope@bio.auth.gr*

Commercial fisheries may induce changes in the structure and function of marine benthic communities, since a large portion of the discards consists of benthic invertebrates, many of which have a certified or potential commercial value. The present work is part of a broader research project on the biodiversity of the discarded marine invertebrates undertaken by the School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, and aims to study the invertebrates caught as by-catch in the small-scale coastal fisheries in the area of Argosaronikos Gulf. A first attempt was made by collecting 24 samples (fishing nets), from 4 fishing boats in the island of Spetses. Examination of the material revealed the presence of 652 individuals belonging to 48 invertebrate species. At the class level, Bivalvia (25.0%), Gastropoda (20.8%) and Malacostraca (16.7%) were the dominant groups, followed by Echinoidea (12.5%), Demospongiae (12.5%), Anthozoa (4.2%), Asteroidea (4.2%) and Polychaeta (4.2%). The total biomass value of the discarded invertebrates was 6606.45g (mean value: 314.59 ± 296.79 g, min: 49.52g, max: 1233.53g). These results are in agreement with those of a similar research conducted in other areas of the south Aegean. The present results are very interesting considering the invertebrate diversity and biomass as well as the fact that some of the discarded species, such as *Calappa granulata* and Pectinidae, have a certified commercial value, while others, such as some sponges, a potential use value. According to this and other related studies, the monitoring of the discarded benthic invertebrates seems to be crucial since it can provide useful information on the ecological quality of the marine coastal waters.

**Η ΠΑΡΑΓΩΓΗ H₂O₂ ΚΑΤΑ ΤΗ ΚΥΤΤΑΡΟΦΑΓΙΑ ΤΗΣ *E.coli* ΑΠΟ ΤΑ
ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΤΑ ΠΟΛΥΜΟΡΦΟΠΥΡΗΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ
ΑΝΘΡΩΠΟΥ, ΕΞΑΡΤΑΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΟ ΜΟΝΟΠΑΤΙ
FAK/MAPK**

**Καραγιάννης Φ., Καποδίστρια Κ., Λάμπρου Ε., Λαμπροπούλου Μ.,
Μαρμάρας Β.Ι.**

Εργαστήριο Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών

Στα θηλαστικά, τα πολυμορφοπύρηνα (ουδετερόφιλα) και τα μονοκύτταρα του αίματος, εμπλέκονται στις εγγενείς ανοσοαποκρίσεις. Μία από τις κύριες ανοσοαποκρίσεις στην οποία εμπλέκονται τα κύτταρα αυτά είναι και η κυτταροφαγία. Κατά την κυτταροφαγία παράγονται διάφορες μορφές δραστικού οξυγόνου (ROS) και αζώτου (RNS), με κύριες το H₂O₂ και NO αντίστοιχα. Οι παραγόμενες ROS και RNS συμμετέχουν ως μόρια μεταγωγής σήματος σε διάφορα ενδοκυτταρικά σηματοδοτικά μονοπάτια που ρυθμίζουν την κυτταροφαγία από τα λευκοκύτταρα. Όμως τα βιβλιογραφικά δεδομένα στο πεδίο αυτό είναι λιγοστά. Στην εργασία αυτή μελετήθηκε η αλληλεπίδραση μεταξύ της κινάσης εστιακής προσκόλλησης (FAK) και των πρωτεϊνικών κινασών που επάγονται από μιτογόνα (MAPK), που είναι κύρια σηματοδοτικά μόρια για την κυτταροφαγία αφ' ενός και του H₂O₂ που παράγεται από τα κύτταρα λόγω της παρουσίας *E. coli*, αφ' ετέρου. Με κυτταρομετρία ροής και τη χρήση του εξειδικευμένου φθοροχρώματος διυδροροδα-μίνη (DHR), πιστοποιήθηκε η παραγωγή H₂O₂ από τα μονοκύτταρα και τα πολυμορφοπύρηνα κύτταρα του αίματος, παρουσία *E. coli*. Η ενεργός συμμετοχή του παραγόμενου H₂O₂ αποδείχτηκε όταν η μείωση της παραγωγής υπεροξεικών ανιόντων με τη χρήση του εξειδικευμένου αναστολέα N-εθυλεν-μαλεϊμίδιο (NEM), μείωσε την πρόσληψη βακτηρίων από τα κύτταρα. Στα αιμοκύτταρα του εντόμου *C. capitata* έχει δείχτει η συμμετοχή της κινάσης εστιακής προσκόλλησης (FAK) στην κυτταροφαγία *E. coli*. Για να ελεγχθεί εάν η κινάση αυτή παίζει ένα παρόμοιο ρόλο και στον άνθρωπο, έγινε καλλιέργεια απομονωμένων λευκών αιμοσφαιρίων παρουσία siRNA για τη FAK. Παρατηρήθηκε μείωση του παραγόμενου H₂O₂ κατά την κυτταροφαγία, τουλάχιστον στα πολυμορφοπύρηνα. Στη συνέχεια, με τη χρήση αναστολέων της φωσφορυλίωσης των MAP κινασών διαπιστώθηκε ότι οι MAP κινάσες (ERK, JNK, p38) ρυθμίζουν την παραγωγή H₂O₂ τόσο στα μονοκύτταρα όσο και στα πολυμορφοπύρηνα. Ειδικότερα, η αναστολή της φωσφορυλίωσης της ERK και της p38 αναστέλλει την παραγωγή H₂O₂ ενώ της JNK την επάγει. Τα δεδομένα αυτά υποστηρίζουν την άποψη ότι η παραγωγή H₂O₂ κατά τη κυτταροφαγία στα πολυμορφοπύρηνα και στα μονοκύτταρα, εξαρτάται από το σηματοδοτικό μονοπάτι FAK/MAPK.

**THE PRODUCTION OF H₂O₂ BY THE HUMAN MONOCYTES AND
POLYMORPHONUCLEARS DURING *E.coli* PHAGOCYTOSIS, DEPENDS ON
FAK/MAPK SIGNALING PATHWAY**

Karagiannis F., Kapodistria K., Lamprou I., Lampropoulou M., Marmaras V.J.

Laboratory of Biology, Department of Biology, University of Patras, Greece

Polymorphonuclear cells (neutrophils) and monocytes of the blood are involved in native immune responses in mammals. Phagocytosis is a major immune response, which these cells are involved in. During phagocytosis, several reactive oxygen (ROS) and nitrogen (RNS) species are produced. H₂O₂ and NO are two important such species, respectively. These reactive species act as signal transduction molecules and participate in several intracellular signaling pathways, which regulate phagocytosis, by the white blood cells. Even though, there is a limited amount of data in the literature, on the role of ROS and RNS in phagocytosis. In the present work, the interaction between focal adhesion kinase (FAK) and mitogen activated protein kinases (MAPK), major signaling molecules of phagocytosis and on the other hand, H₂O₂, which is produced by the cells in the presence of *E. coli*, was investigated. Flow cytometry analysis with the use of the specific fluorochrome dihydrorhodamine (DHR) revealed the production of H₂O₂ in the presence of *E. coli*, by the polymorphonuclear blood cells. The active role of the produced H₂O₂ was shown when the reduction of the produced superoxide anions, due to the presence of the specific inhibitor N-ethylen-maleimide (NEM), decreased the uptake of bacteria by the white blood cells. It has been shown that the focal adhesion kinase (FAK) participates in *E. coli* phagocytosis by the hemocytes of the insect *C. capitata*. To clarify whether FAK plays a similar role in humans, isolated white blood cells were cultured in the presence of FAK siRNA. It was revealed that the produced H₂O₂ was decreased during phagocytosis, at least in the polymorphonuclear blood cells. Finally, the use of specific inhibitors of the MAP kinases phosphorylation showed that ERK, JNK and p38 regulate the production of H₂O₂ in monocytes as well as in polymorphonuclear cells. Particularly, the inhibition of ERK and p38 phosphorylation inhibits the production of H₂O₂, while, the inhibition of JNK phosphorylation induces it. This data supports the idea that the production of H₂O₂ by the monocytes and polymorphonuclear cells, during phagocytosis, depend on the FAK/MAPK signalling pathway.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ *hurp* ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΠΟΝΤΙΚΟΥ

Καρακατσάνη Α., Κόφφα Μ. και Μ. Γρηγορίου

Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης,
Δήμητρας 19, 68100 Αλεξανδρούπολη E-mail: mgrigor@mbg.duth.gr

Οι μηχανισμοί που εξασφαλίζουν την ανάπτυξη απαιτούν την ακριβή ρύθμιση μεταξύ του κυτταρικού κύκλου και της κυτταρικής διαφοροποίησης. Η διερεύνηση των μοριακών μηχανισμών μέσω των οποίων επιτυγχάνεται ο συντονισμός των δύο παραπάνω διαδικασιών αποτελεί βασική προϋπόθεση για την κατανόηση της ανάπτυξης, αλλά και της αναγέννησης. Η HURP (*hepatoma up-regulated protein*) έχει χαρακτηριστεί ως μία πρωτεΐνη που υπερεκφράζεται σε καρκινικά κύτταρα του ανθρώπινου ήπατος και της ουροδόχου κύστεως. Πρόκειται για μια φωσφοπρωτεΐνη, που εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα κατά τη φάση G₂/M του κυτταρικού κύκλου και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην συγκρότηση της μιτωτικής ατράκτου. Σε πειράματα που έχουν γίνει *in vitro* έχει δειχθεί ότι κατά το σχηματισμό της μιτωτικής ατράκτου η HURP προάγει *de novo* το πολυμερισμό των μικροσωληνίσκων τους οποίους και σταθεροποιεί. Επίσης, *in vivo*, έχει αποδειχθεί ότι η HURP σταθεροποιεί τους μιτωτικούς μικροσωληνίσκους, προάγει τον πολυμερισμό τους και το σχηματισμό της διπολικής ατράκτου. Απόκλιση της έκφρασης της πρωτεΐνης από τα φυσιολογικά επίπεδα οδηγεί σε μη λειτουργική άτρακτο και σε προβληματικό διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων των θυγατρικών κυττάρων. Παρά τον ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο που διαδραματίζει η HURP στη μίτωση τίποτα δεν είναι γνωστό σχετικά με την έκφρασή της κατά την ανάπτυξη. Μελετήσαμε το χωροχρονικό πρότυπο έκφρασης του γονιδίου *hurp* με πειράματα υβριδοποίησης *in situ* σε άθικτα έμβρυα ποντικού των αναπτυξιακών σταδίων E9.5 - E11.5 καθώς και σε τομές των σταδίων E12.5 - E13.5. Στα στάδια αυτά η έκφραση του γονιδίου *hurp* εντοπίζεται σε διαιρούμενα κύτταρα στον νευρικό και μεσεγχευματικό ιστό. Πιο συγκεκριμένα, στο αναπτυσσόμενο νευρικό σύστημα του ποντικού, κατά την E9.0- E11.5 το γονίδιο *hurp* εκφράζεται στο νευροεπιθήλιο του προσεγκεφάλου, του μεσεγκεφάλου, του οπίσθιου εγκεφάλου αλλά και του νωτιαίου μυελού. Στα επόμενα αναπτυξιακά στάδια, κατά την E12.5 και E13.5 η έκφραση του *hurp* ανιχνεύεται στην κοιλιακή ζώνη του φλοιού των ημισφαιρίων, στην κοιλιακή και υποκοιλιακή ζώνη των γαγγλιονικών προεξοχών του τελεγκεφάλου καθώς και στη κοιλιακή ζώνη του μεσεγκεφάλου του οπίσθιου εγκεφάλου και του νωτιαίου μυελού. Το γονίδιο *hurp* είναι επίσης μεταγραφικά ενεργό σε μεσεγχευματικά παράγωγα της νευρικής ακρολοφίας. Έκφραση του *hurp* εντοπίζεται στο μεσέγχευμα του πρώτου βραγχιακού τόξου σε όλα τα στάδια που μελετήθηκαν, από την E9.0 έως και την E13.5. ενώ χαμηλά επίπεδα έκφρασης του ανιχνεύονται στο κεφαλικό μεσέγχευμα και στο μεσέγχευμα της ρινικής καταβολής. Η έκφραση της HURP σε περιορισμένο αριθμό διαιρούμενων κυττάρων του νευρικού ιστού και του μεσεγχεύματος της κεφαλής υποδεικνύει ότι το μόριο αυτό πιθανόν να διεκπεραιώνει εξειδικευμένο ρόλο κατά την ανάπτυξη.

EXPRESSION OF *hurp* DURING MOUSE DEVELOPMENT

Karakatsani A., Koffa M., and M. Grigoriou

Department of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace, Dimitras 19,
68100 Alexandroupolis. E-mail: mgrigor@mbg.duth.gr

Development requires the precise coordination of cell cycle and cell differentiation, through molecular mechanisms that remain largely unknown. The unravelling of these mechanisms is of fundamental importance for the understanding of development and regeneration. HURP (hepatoma up-regulated protein) is a protein associated with hepatocellular and urinary bladder transitional cell carcinomas. It is a cell cycle regulated phosphoprotein that is highly expressed during the G₂/M phase and plays important role in the assembly of the mitotic spindle. It has been shown *in vitro* that HURP stabilizes and bundles the microtubules *de novo* by reducing the rate of dissociation of tubulin α/β dimers. *In vivo* HURP stabilizes microtubule polymerization and bipolar spindle formation and decreases the turnover rate of the mitotic spindle. Changes in the physiological levels of HURP result in spindle malformation and aberrant segregation of the chromosomes to the daughter cells. Despite its established role in mitosis the expression of *hurp* during development is not known. To determine the spatial and temporal expression of *hurp* during the mouse development, we performed a series of *in situ* hybridization experiments between E9.0 – E13.5. During these stages *hurp* expression was detected in dividing neural and mesenchymal cells. More specifically between E9.0 and E11.5 *hurp* mRNA was detected in the neuroepithelium of the forebrain, the midbrain, the hindbrain and the spinal cord. Later in development, at E12.5 and E13.5 *hurp* expression was detected in the ventricular zone of the cortex, in the ventricular and subventricular zones of the ganglionic eminence and in the ventricular zone of the midbrain, the hindbrain and the spinal cord. *hurp* is also transcribed in mesenchymal neural crest derived tissues. In all stages that we studied *hurp* mRNA was detected in the ectomesenchyme of the first branchial arch, the cephalic mesenchyme and in the mesenchyme of the nasal process. The restricted expression of *hurp* to a limited number of dividing cells of the neural tissue and head mesenchyme indicates that this molecule may play a specific role during development.

**ΟΙ ΔΕΣΜΙΔΕΣ ΜΙΚΡΟΣΩΛΗΝΙΣΚΩΝ ΤΩΝ ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ
ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *Asplenium nidus* ΟΡΓΑΝΩΝΟΝΤΑΙ ΜΕ ΣΥΓΚΡΟΤΗΣΗ ΝΕΩΝ
ΜΙΚΡΟΣΩΛΗΝΙΣΚΩΝ ΚΑΙ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ MAP65 ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ**

Καραλή Δ.-Α., Παντερός Ε.

*Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Βιολογίας,
Τομέας Βοτανικής, 541 24 Θεσσαλονίκη*

Η μορφογένεση των επιδερμικών κυττάρων του περικλίσκου του *Asplenium nidus* ελέγχεται από τη δημιουργία δεσμιδών περιφερειακών μικροσωληνίσκων (ΜΣ). Οι δεσμίδες αυτές ορίζουν την παράλληλη με αυτές απόθεση μικροϊνιδίων κυτταρίνης στο κυτταρικό τοίχωμα και οι τοπικές παχύνσεις που δημιουργούνται εμποδίζουν την αύξηση των κυττάρων στα σημεία αυτά οδηγώντας σε κυματοειδή μορφή. Επιδράσεις με ουσίες που επηρεάζουν τους ΜΣ (ταξόλη, κολχικίνη και CIPC) έδειξαν ότι ο σχηματισμός των δεσμιδών των περιφερειακών ΜΣ δεν οφείλεται σε πλευρική μετακίνηση ήδη υπάρχοντων ΜΣ αλλά σε σχηματισμό νέων, σε συγκεκριμένα σημεία της κυτταρικής περιφέρειας, που λειτουργούν ως Κέντρα Οργάνωσης ΜΣ. Το CIPC κατέστρεψε ακόμα και τις δεσμίδες που είχαν ήδη δημιουργηθεί, γεγονός που καταδεικνύει ότι οι δεσμίδες παραμένουν δυναμικές, με ΜΣ που πιθανά εμφανίζουν συμπεριφορά ατέρμονα ανασχηματισμού. Επίδραση με κυτοχλασίνη-Β, που καταστρέφει τα μικρονημάτια ακτίνης, έδειξε ότι αυτά δεν συμμετέχουν στην ομαδοποίηση των περιφερειακών ΜΣ και κατ' επέκταση στη διαδικασία της μορφογένεσης των επιδερμικών κυττάρων του υπο μελέτη φυτού. Ανοσοσήμανση πρωτεϊνών της οικογένειας MAP65 έδειξε ότι αυτές συνεντοπίζονται με τις δεσμίδες των περιφερειακών ΜΣ. Η ύπαρξη των MAP65 πρωτεϊνών σε αυτά τα σημεία πιθανώς συμβάλλει στη δημιουργία και τη σταθεροποίηση των ΜΣ μέσω εγκάρσιων συνδέσεων.

THE MICROTUBULE BUNDLES IN PAVEMENT CELLS OF *Asplenium nidus* ARE ORGANIZED BY NEW MICROTUBULE ASSEMBLY AND CONTRIBUTION OF MAP65 PROTEINS

Karali D.-A., Panteris E.

Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-541 24 Thessaloniki, Greece

The morphogenesis of the pavement cells of the fern *Asplenium nidus* is controlled by cortical microtubule (MT) bundles. These bundles determine the deposition of cellulose microfibril bundles at certain sites of the anticlinal cell walls. This local reinforcement of the cell wall results in differential growth of pavement cells that achieve sinuous anticlinal contour. Taxol, colchicine and CIPC treatment in young leaves showed that the MT bundles are not formed by lateral recruitment of pre-existing cortical MTs but by the generation of new ones, at certain sites of the cell cortex, which probably function as Microtubule Organizing Centers. CIPC destroyed all cortical MT bundles, even those that were already formed, proving the dynamic nature of the MT bundles. In cells treated with cytochalasin-B, actin filaments (AF) were disrupted but the organization of cortical MT bundles was not affected, proving that AFs do not participate in *Asplenium nidus* pavement cell morphogenesis. MAP65 proteins are found to co-localise with cortical MT bundles by cross-bridging MTs, suggesting a probable role in their assembly and maintenance.

ΔΟΜΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΟΥ ΧΟΡΙΟΥ ΤΩΝ ΩΘΥΛΑΚΙΩΝ ΤΩΝ ΜΕΤΑΞΟΣΚΩΛΗΚΩΝ ΚΑΙ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ-ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΤΟΥΣ ΚΑΙ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΤΟΥΣ

Καραμάνος Θ.Κ., Παπανδρέου Ν.Χ., Οικονομίδου Β.Α., Χαμόδρακας Σ.Ι.

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Αθήνα 157 01, E-mail: veconom@biol.uoa.gr, shamodr@biol.uoa.gr*

Το χόριο είναι το κύριο συστατικό του κελύφους των ωθυλακίων των μεταξοσκωλήκων. Είναι κυρίως πρωτεϊνικής φύσεως, και λόγω των εξαιρετικών του ιδιοτήτων, προστατεύει το ωκύτταρο και το αναπτυσσόμενο έμβρυο από περιβαλλοντικούς κινδύνους. Έχουμε ήδη δείξει ότι πεπτίδια-ανάλογα ολόκληρης ή τμημάτων της κεντρικής συντηρητικής περιοχής των οικογενειών Α και Β των πρωτεϊνών του χορίου δημιουργούν ινίδια με αμυλοειδή χαρακτηριστικά, γεγονός που μας οδήγησε να προτείνουμε ότι το χόριο είναι ένα φυσικό προστατευτικό αμυλοειδές. Αν και τα αμυλοειδή ινίδια έχουν συσχετισθεί με πλήθος ασθeneιών, φαίνεται ότι υπάρχουν οργανισμοί που 'εκμεταλλεύονται' αυτή την ενδογενή ιδιότητα των πρωτεϊνών και των πεπτιδίων να φτιάχνουν τέτοιες δομές κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες, και με τον τρόπο αυτό παράγουν νέες, διαφορετικές βιολογικές λειτουργίες. Με σκοπό την μελέτη των ιδιοτήτων των ινιδίων, αλλά και γενικά την μελέτη της δομής του χορίου, σε συνδυασμό με πειραματικά δεδομένα, χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές συγκριτικής προτυποποίησης και κατασκευάστηκαν δομικά μοντέλα για όλες τις διαθέσιμες πρωτεΐνες του χορίου, αλλά και για τις κεντρικές συντηρητικές τους περιοχές ειδικότερα. Οι αλληλεπιδράσεις των πρωτεϊνών διερευνήθηκαν με τη βοήθεια των παραπάνω μοντέλων και τεχνικών αγκυροβόλησης πρωτεϊνών (docking). Προτείνονται μοντέλα για τα πειραματικώς παρατηρηθέντα ινίδια από συνθετικά πεπτίδια-ανάλογα των πρωτεϊνών, καθώς και για τον τρόπο αλληλεπίδρασης των πρωτεϊνών στο φυσικό χόριο. Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι οι πρωτεΐνες του χορίου υιοθετούν την δομή αντιπαράλληλου β-πτυχωτού φύλλου και είναι δυνατόν να πακεταριστούν τόσο παράλληλα όσο και αντιπαράλληλα σε απόσταση περίπου 10Å, σχηματίζοντας ινίδια με διάμετρο ~30Å. Οι παραπάνω μελέτες σε συνδυασμό με πειραματικά δεδομένα ίσως ρίξουν φως στην κατανόηση της ελικοειδούς αρχιτεκτονικής του χορίου, καθώς και στην ερμηνεία των παθολογικών και μη ιδιοτήτων των αμυλοειδών ινιδίων.

STRUCTURAL MODELS OF SILKMOTH CHORION PROTEINS AND PEPTIDES-ANALOGUES AND THEIR INTERACTIONS

Karamanos T.K., Papandreou N.C., Iconomidou V.A., Hamodrakas S.J.

*Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 157 01,
E-mail: veconom@biol.uoa.gr, shamodr@biol.uoa.gr*

Chorion is the major component of silkmoth eggshell. It is largely proteinaceous and due to its extraordinary properties, it protects the oocyte and the developing embryo from environmental hazards. We have previously shown that peptide-analogues of the whole and of parts of the central conservative domain of the A and B classes of chorion proteins form fibrils with amyloid characteristics. This led us to propose that silkmoth chorion is a natural protective amyloid. Although amyloid fibrils have been associated with many diseases known as amyloidoses, it seems that several living organisms take advantage of the inherent ability of proteins and peptides, to form such structures under certain conditions and generate novel and diverse biological functions. In order to investigate the structural properties of the amyloid-like fibrils and the architecture of chorion in general, in conjunction with experimental data, homology modeling was used to construct structural models of all available chorion proteins, as well as their central conservative domains, which seems to play a significant structural role. Chorion protein and peptide packing interactions were investigated theoretically, applying protein docking techniques to the constructed models. In this work, we propose models for all the experimentally observed fibrils from synthetic chorion peptide-analogues, and also a model of the way that the proteins pack in natural, intact chorion. Our results suggest that chorion proteins fold as antiparallel β -pleated sheets, may pack in a parallel or antiparallel manner, with packing distance of 10 Å and form fibrils of ~30 Å in diameter. These studies, along with experimental data, may enlighten our understanding of chorion helicoidal architecture and may shed some light to the pathogenic and non-pathogenic properties of amyloid fibrils.

**ΕΠΙΛΟΓΗ ΧΡΗΣΗΣ ΧΕΡΙΟΥ ΣΕ ΦΥΣΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΔΑΣΥΤΡΙΧΩΝ
ΠΙΘΗΚΩΝ (*LAGOTHRIX ROEPPIGII*)**

Καραντάνης Ν.-Ε., Γιουλάτος Δ.

*Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124
Θεσσαλονίκη. E-mails: nkaranta@bio.auth.gr ; dyoul@bio.auth.gr*

Η επιλογή χρήσης του δεξιού ή αριστερού χεριού στα πρωτεύοντα είναι ένας επιστημονικός χώρος, ο οποίος δραστηριοποιείται έντονα την τελευταία δεκαετία κυρίως για την κατανόηση της εξέλιξης του ανθρώπινου εγκεφάλου. Ωστόσο, οι περισσότερες μελέτες που έχουν γίνει αφορούν πρωτεύοντα σε συνθήκες αιχμαλωσίας, αλλά αυτές οι συνθήκες ενδέχεται να αλλοιώνουν τα αποτελέσματα. Αντίθετα, λίγα είναι γνωστά για αυτή τη συμπεριφορά σε φυσικούς πληθυσμούς πρωτευόντων, κυρίως λόγω προβλημάτων παρατήρησης και τεχνικής υποστήριξης. Η παρούσα εργασία ερευνά την επιλογή χρήσης χεριού και την σχέση της με συγκεκριμένες οργανισμικές και περιβαλλοντικές παραμέτρους κατά τη διάρκεια της τροφοληψίας, σε ένα φυσικό πληθυσμό δασύτριχων πιθήκων (*Lagothrix roeppigii*) από το Εθνικό Πάρκο Yasuni στο βορειοανατολικό Εκουαδόρ. Τα δεδομένα αφορούν τρία ενήλικα θηλυκά και δύο ενήλικα αρσενικά άτομα, τα οποία είχαν συστηματικά βιντεογραφηθεί στο πεδίο. Κατά τη διάρκεια της ανάλυσης των βιντεογραφημένων στιγμιότυπων τροφοληψίας καταγράφηκαν η επιλογή χεριού, η στάση του ζώου, το μέγεθος του κλαδιού και ο τύπος, η απόσταση και ο τρόπος συλλογής της τροφής. Η ολική συχνότητα επιλογής χεριού και οι επιμέρους συχνότητες σε σχέση με τις διάφορες παραμέτρους εκτιμήθηκε μέσω του δείκτη επιλογής χεριού (HI) και ελέγχθηκε μέσω του διωνυμικού μοντέλου. Από όσο γνωρίζουμε, αυτή είναι η πρώτη μελέτη της επιλογής χρήσης χεριού σε αυτό το είδος και στην οικογένεια στην οποία ανήκει. Τα αποτελέσματα μας δείχνουν ότι δεν υπάρχει ιδιαίτερη προτίμηση για κάποιο χέρι ανάμεσα στα άτομα, ότι η ένταση της προτίμησης μπορεί να ποικίλει, και ότι εξαρτάται από τις κατηγορίες των καταγεγραμμένων παραμέτρων. Αυτές οι παρατηρήσεις συμφωνούν με αντίστοιχες άλλων μελετών σε φυσικούς πληθυσμούς άλλων πρωτευόντων. Ωστόσο, ο μικρός αριθμός παρατηρούμενων ατόμων (<6) δεν μας επιτρέπει την εξαγωγή συμπερασμάτων τόσο για τον πληθυσμό όσο και για το είδος.

**HANDEDNESS IN FREE RANGING SILVERY WOOLLY MONKEYS
(LAGOTHRIX POEPPIGII)**

Karantanis N.-E., Youlatos D.

*Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-54124
Thessaloniki, Greece. E-mails: nkaranta@bio.auth.gr ; dyoul@bio.auth.gr*

Handedness in nonhuman primates is a field that is receiving attention in the last decade based on its importance in human evolution. So far there has been a great amount of research on captive primates but it appears that the captive setting may bias the results. However, little is known of this behavior in free-ranging primate species mainly due to logistic and observational inadequacies. In this context, the present study investigates handedness and related behaviors during feeding in a group of wild silvery woolly monkeys (*Lagothrix poeppigii*) inhabiting the Yasuni National Park in northeastern Ecuador. The data presented here concern three identified adult females and two adult males that were intensively video recorded in the wild. During video analysis of feeding bouts we recorded hand preference and related posture, branch size, and the type, distance, and acquisition mode of food items. Overall handedness and within related context was estimated through the handedness index (HI) and was tested by two-tailed binomial tests. To our knowledge, this is the first study of this kind for the species and the family. Our results indicate that there is no specific hand preference among individuals, and the strength of that preference varies. Moreover, for most individuals, this preference shifts depending on the specific task. These results are in accordance with the findings of most studies on wild primates, however, due to the lack of adequate number of individuals (<6), no population- or species-level conclusions can be drawn.

**ΣΥΝΔΥΑΣΤΙΚΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΕΝΙΣΧΥΣΗΣ ΤΗΣ *IN VIVO* ΑΝΤΙΚΑΡΚΙ-
ΝΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ ΦΟΝΙΚΩΝ (NK) ΚΥΤΤΑΡΩΝ**

**Καραχάλιου Χ.Ε.¹, Μπιρμπίλης Α.¹, Ιωάννου Κ.¹, Σκοπελίτη Μ.¹, Al-Abed Υ.²,
Τσιτσιλώνη Ο.¹**

¹Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ

²The Feinstein Institute for Medical Research, New York.

Τα φυσικά φονικά (NK) κύτταρα αποτελούν κυτταροτοξικό υποπληθυσμό των λεμφοκυττάρων με ιδιαίτερο ρόλο στην ανοσολογική άμυνα έναντι καρκινικών κυττάρων. Σημαντικοί παράγοντες ενεργοποίησης και καταστολής της δραστηρότητας τους είναι οι κυτταροκίνες ιντερλευκίνη (IL)-12 και MIF αντίστοιχα, οι οποίες εκκρίνονται από ενεργοποιημένα μονοκύτταρα/ μακροφάγα. Στόχος μας ήταν να διεγείρουμε τα μονοκύτταρα/μακροφάγα ώστε να εκκρίνουν υψηλά ποσά IL-12, αναστέλλοντας συγχρόνως τη δράση του MIF. Για το σκοπό αυτό, χρησιμοποιήθηκαν το ανοσοενισχυτικό πολυπεπτίδιο προθυμοσίνη α (προΤα) και το δραστικό της πεπτίδιο προΤα(100-109) σε συνδυασμό με συνθετικούς αναστολείς του MIF, τους ISO-1, KFIII-53Y, KFIII-54W και KFIII-55Y. Βασιζόμενοι στα *in vitro* δεδομένα μας, εφαρμόσαμε το πρωτόκολλο και σε *in vivo* μοντέλα όγκου. Ποντίκια των φυλών Balb/C και C57BL/6 ενοφθαλμίστηκαν με συγγενικά κύτταρα καρκίνου του εντέρου (CT26) και μελανώματος (B16) αντίστοιχα, εμβολιάστηκαν θεραπευτικά με προΤα ή προΤα(100-109) και τους αναστολείς του MIF και παρακολούθηθηκαν ως προς την ανάπτυξη των όγκων και την επιβίωσή τους. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι η προΤα και το προΤα(100-109) καθυστέρησαν το ρυθμό ανάπτυξης των όγκων και παρέτειναν την επιβίωση των ποντικών, ενώ ακόμη καλύτερα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν με τη συνεργιστική δράση προΤα ή προΤα(100-109) και των 3 από τους 4 αναστολείς του MIF. Συμπερασματικά, φάνηκε ότι το παραπάνω συνδυαστικό πρωτόκολλο μπορεί να ενισχύει τη λυτική ικανότητα κυτταροτοξικών λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών και *in vivo*, επιβραδύνοντας την ανάπτυξη των όγκων και συμβάλλοντας στην παράταση του ποσοστού βιωσιμότητας των πειραματοζώων.

Χρηματοδότηση: ΓΓΕΤ Διακρατική συνεργασία Ελλάδας-ΗΠΑ (05 NON EU-404)

**COMBINED PROTOCOL FOR ENHANCING THE *IN VIVO* ANTICANCER
EFFECTIVENESS OF NATURAL KILLER (NK) CELLS**

**Karachaliou X.E.¹, Birmpilis A.¹, Ioannou K.¹, Skopeliti M.¹, Al-Abed Y.²,
Tsitsiloni O.¹**

¹*Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens,* ²*The
Feinstein Institute for Medical Research, New York*

Natural killer cells (NK) represent a cytotoxic lymphocyte subpopulation with important role in the immunological defence against cancer cells. Significant factors for their activation and suppression are the cytokines IL-12 and MIF, respectively, both secreted by activated monocytes/ macrophages. Our aim was to trigger monocytes/macrophages in order to produce high amounts of IL-12 and concurrently inhibit the action of MIF. For this, we used the immunoenhancing polypeptide prothymosin α (proT α) and its immunoreactive peptide proT α (100-109) in combination with the synthetic MIF inhibitors, ISO-1, KFIII-53Y, KFIII-54W and KFIII-55Y. Based on *in vitro* data, we tested our protocol in *in vivo* tumor models. Balb/c and C57BL/6 mice were inoculated with syngeneic colon cancer cells (CT26) and melanoma (B16), respectively, administered therapeutically with proT α or proT α (100-109) and MIF inhibitors and followed for tumor growth and their overall survival. Our results showed that proT α and proT α (100-109) retarded tumor growth rate and prolonged murine survival, whereas better results were observed after the synergistic activity of proT α or proT α (100-109) with 3 of the 4 MIF inhibitors. Taken altogether, it seems that the afore mentioned combined protocol can enhance the lytic ability of cytotoxic lymphocyte subpopulations *in vivo*, retarding tumor growth and augmenting the percentage of viable animals.

Funding: GSRT, Bilateral cooperation between Greece-USA (05 NON EU-404)

ΣΧΗΜΑ ΟΥΡΑΙΟΥ ΠΤΕΡΥΓΙΟΥ ΓΙΑ ΟΡΙΣΜΕΝΑ ΕΙΔΗ ΨΑΡΙΩΝ

Καραχλέ Π.Κ., Στεργίου Κ.Ι.

*Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστή-
μιο Θεσσαλονίκης, Τ.Θ. 134, 54124 Θεσσαλονίκη.
E-mail: pkarachl@bio.auth.gr και kstergio@bio.auth.gr*

Το ουραίο πτερύγιο χρησιμοποιείται από τα ψάρια κατά την κολύμβηση ως πηδάλιο και για προώθηση. Το σχήμα του μπορεί να διαφέρει και μπορεί να δώσει πολλές πληροφορίες για τον τρόπο ζωής, το ενδιαίτημα των ψαριών και τις τροφικές τους συνήθειες. Στην παρούσα εργασία, περιγράφηκε το σχήμα του ουραίου πτερυγίου για 61 είδη ψαριών από το Β-ΒΔ Αιγαίο, σύμφωνα με τα 7 βασικά σχήματα που δίνονται στη βιβλιογραφία. Έτσι, 28 είδη (45,9%) βρέθηκε να έχουν διχαλωτό ουραίο πτερύγιο, 10 είδη (16,4%) στρογγυλεμένο, 9 είδη (14,8%) ευθύ, 7 είδη (11,5%) οξύληκτο, 5 είδη (8,2%) κοίλο, ενώ ημισελήνοειδές και ετερόκερκο μόνο από ένα είδος (1,6% και στις δυο περιπτώσεις). Επιπρόσθετα, έγινε σχηματική παράσταση της επιφάνειας ουραίου πτερυγίου, σε πραγματικές διαστάσεις και για TL≈15 cm, για κάθε λειτουργική τροφική ομάδα (δηλαδή: φυτοφάγα, παμφάγα με προτίμηση το ζωικό υλικό, σαρκοφάγα με προτίμηση στα δεκάποδα και στα ψάρια, και σαρκοφάγα με προτίμηση στα ψάρια και τα κεφαλόποδα) και κάθε τύπο ενδιαίτηματος (πελαγικά, βενθοπελαγικά και παραβενθικά). Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι όσο κινούμαστε στη στήλη του νερού από την πελαγική ζώνη προς τον πυθμένα, αλλά και από τα παμφάγα προς τα σαρκοφάγα ψάρια, το ουραίο πτερύγιο σταδιακά χάνει το διχαλωτό του σχήμα και τείνει να γίνεται πιο στρογγυλεμένο ή οξύληκτο.

TAIL SHAPE OF VARIOUS FISHES

Karachle P.K., Stergiou K.I.

Laboratory of Ichthyology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Box 134, 54124 Thessaloniki, Greece.

E-mail: pkarachl@bio.auth.gr and kstergio@bio.auth.gr

Fishes use their tail when swimming, mainly as a steering gear and for acceleration. Tail shape can provide important information with respect to fish habitat and feeding habits. The aim of the present study is the description of the tail shape for 61 fishes from the N-NW Aegean Sea. All 7 different shapes, previously presented in the literature, were identified: 28 species (45.9%) had forked tail, 10 species (16.4%) rounded, 9 species (14.8%) truncated, 7 species (11.5%) pointed, 5 species (8.2%) emarginated, whereas lunated and heterocercal tail was described for only one species, respectively (1.6% both cases). Additionally, tail area was estimated and presented, in real dimensions and for total body length \approx 15 cm, per functional trophic group (i.e.: herbivores, omnivores with preference to animal material, carnivores with preference to decapods and fishes, and carnivores with preference to fishes and cephalopods) and per habitat type (i.e. pelagic, benthopelagic and demersal). The results showed that from the sea surface (pelagic) to the sea floor (demersal) and from herbivores to carnivores, tail gradually lost its forked shape and tended to be more rounded or pointed.

**ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΑΜΥΛΟΕΙΔΟΓΕΝΩΝ ΚΑΘΟΡΙΣΤΩΝ ΣΕ
ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΠΟΥ ΔΗΜΙΟΥΡΓΟΥΝ ΑΜΥΛΟΕΙΔΗ ΙΝΙΔΙΑ**

Καρλετίδη Κ.Σ., Παπανδρέου Ν.Χ., Οικονομίδου Β.Α., και Χαμόδρακας Σ.Ι.

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρων και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Αθήνα 157 01, e-mail: veconom@biol.uoa.gr, shamodr@biol.uoa.gr*

Πρωτεΐνες και πεπτίδια, υπό ορισμένες συνθήκες, μεταπίπτουν από τη διαλυτή τους μορφή σε αυτή των αμυλοειδών ινιδίων. Αμυλοειδή είναι αδιάλυτα πρωτεϊνικά συσσωματώματα αμυλοειδών ινιδίων που εναποτίθενται σε όργανα και ιστούς και συσχετίζονται με πλήθος ασθενειών, γνωστές ως αμυλοειδώσεις. Πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν ότι υπάρχει προδιάθεση για τη δημιουργία αμυλοειδών ινιδίων ανάλογα με την αλληλουχία μιάς πρωτεΐνης και μικρά τμήματά της μπορεί να ευθύνονται για την αμυλοειδογένεση. Για την πρόγνωση των πιθανών αυτών περιοχών, που πιθανόν δρουν ως αμυλοειδογενείς καθοριστές, σε συγκεκριμένες αμυλοειδογενείς πρωτεΐνες, χρησιμοποιήθηκε μία συναινετική μέθοδος πρόγνωσης της 'αμυλοειδογενούς προδιάθεσης', το εργαλείο AMYLPRED, το οποίο αναπτύχθηκε πρόσφατα στο εργαστήριο μας (<http://biophysics.biol.uoa.gr/AMYLPRED/>). Από τις πρωτεΐνες που χρησιμοποιήθηκαν, οι 19 έχουν 31 πειραματικά προσδιορισμένες αμυλοειδογενείς περιοχές, πολλές από τις οποίες προβλέφθηκαν με τη συναινετική μέθοδο πρόγνωσης. Στις περισσότερες από τις πρωτεΐνες που χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη, η μέθοδος υποδεικνύει και επιπλέον πεπτίδια ως πιθανούς αμυλοειδογενείς καθοριστές, σε περιοχές για τις οποίες δεν υπάρχουν πειραματικά δεδομένα. Χρησιμοποιώντας τον αλγόριθμο DSSP και το πρόγραμμα RYMOL για 12 πειραματικά λυμένες δομές, διαπιστώθηκε ότι το 82% των πειραματικά γνωστών αμυλοειδογενών περιοχών και το 73% των επιπλέον που υποδεικνύονται με τη μέθοδο, βρίσκονται στην επιφάνεια των δομών. Η παρατήρηση αυτή ενισχύει την υπόθεση ότι η δημιουργία αμυλοειδών και η συσσωμάτωσή τους σχετίζεται με αυτά τα μικρά πεπτίδια, τα οποία πιθανόν είναι ικανά να παίζουν το ρόλο 'διακόπτη', για ενδεχόμενη αποδιάταξη της πρωτεΐνης, πριν από την δημιουργία αμυλοειδών ινιδίων. Οι παραπάνω παρατηρήσεις, σε συνδυασμό με επιπλέον, λεπτομερείς πειραματικές μελέτες στους πιθανούς αμυλοειδογενείς καθοριστές, ίσως βοηθήσουν στην κατανόηση των ιδιοτήτων και των μηχανισμών της δημιουργίας αμυλοειδών ινιδίων και, κατά συνέπεια, των αμυλοειδώσεων.

PREDICTION AND PROPERTIES OF AMYLOIDOGENIC DETERMINANTS IN AMYLOID FIBRIL-FORMING PROTEINS

Karletidi K.S., Papandreou N.C., Iconomidou V.A., and Hamodrakas S.J

*Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 157 01,
E-mail: npapand@biol.uoa.gr; veconom@biol.uoa.gr, shamodr@biol.uoa.gr*

Proteins or peptides convert, under certain conditions, from their soluble forms into ordered fibrillar structures, called amyloid fibrils. Amyloids are insoluble fibrous protein aggregates of amyloid fibrils, which are abnormally deposited extracellularly or intracellularly in organs/tissues and have been related to many diseases, called amyloidoses. Recent studies suggest that there is a sequence propensity for amyloid fibril formation and, also, that short peptides may be responsible for the amyloidogenicity of several proteins. For the prediction of these potential amyloidogenic determinants in specific proteins, a consensus method for amyloid propensity prediction was used, the tool AMYLPRED, which was recently developed in our lab (<http://biophysics.biol.uoa.gr/AMYLPRED/>). From the proteins that were used, 19 have 31 experimentally investigated amyloidogenic regions, and several of them were also predicted as such by this tool. In most of the proteins that were used overall, the method suggests additional peptides as potential amyloidogenic determinants, in regions without experimentally determined data. The algorithm DSSP and the software PYMOL were used for 12 experimentally solved structures of amyloidogenic proteins, and it has been found that 82% of the experimentally investigated amyloidogenic regions and 73% of the additional peptides, that are predicted as possible amyloidogenic determinants by the method, reside on the proteins' surface. This may reinforce the hypothesis that amyloid fibril formation and aggregation is mediated via such short aminoacid stretches, which probably may act as 'switches' for protein unfolding and subsequent aggregation. These observations, combined with more detailed experimental studies on potential amyloidogenic determinants, may enlighten our understanding of the properties of amyloid fibrils and amyloid formation.

ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ 1 ΤΗΣ ΜΕΛΑΝΟΚΟΡΤΙΝΗΣ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥΣ ΜΕ ΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

Καρναούρη Α.Χ.¹, Παπανδρέου Ν. Χ.¹, Χαμόδρακας Σ.Ι.¹ και Μπάγκος Π.Γ.²

¹Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 01, E-mail: anthi6@gmail.com, npapand@biol.uoa.gr, shamodr@biol.uoa.gr

²Τμήμα Πληροφορικής με Εφαρμογές στη Βιοϊατρική, Πανεπιστήμιο Στερεάς Ελλάδας, Παπασιοπούλου 2-4, Λαμία 35100, E-mail: pbagos@ucg.gr

Ο υποδοχέας τύπου 1 της μελανοκορτίνης (MC1R) είναι ένας διαμεμβρανικός GPCR υποδοχέας που εντοπίζεται στην επιφάνεια των μελανοκυττάρων και των κερατινοκυττάρων, και σχετίζεται με τον καθορισμό του τύπου μελάγχρωσης. Η ενεργοποίηση του MC1R από την ορμόνη α-MSH οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα του ενδοκυτταρικού cAMP, καταλήγοντας σε αύξηση της σύνθεσης της σκουρόχρωμης φωτοπροστατευτικής χρωστικής ευμελανίνης. Περισσότεροι από 65 μη-συνώνυμοι πολυμορφισμοί του MC1R έχουν αναφερθεί σε πληθυσμούς Καυκασίων. Σε μια προσπάθεια συνεκτίμησης όλων των δεδομένων που έχουν παρουσιαστεί από τις επιμέρους μελέτες που συσχετίζουν το MC1R με την εμφάνιση καρκίνου του δέρματος (μελανωματικοί και μη μελανωματικοί τύποι), προχωρήσαμε σε μια μετα-ανάλυση επιδημιολογικών μελετών. Στη μελέτη μας συμπεριλήφθηκαν 19 έρευνες οι οποίες συγκέντρωναν πληροφορίες για συνολικά 5985 ασθενείς και 7566 υγιή άτομα (μάρτυρες). Μελετήθηκαν εννέα πολυμορφισμοί για τους οποίους συλλέχθηκαν επαρκή δεδομένα (V60L, D84E, V92M, R142H, R151C, I155T, R160W, R163Q and D294H). Η μελέτη μας έγινε με χρήση μοντέλων τυχαίων επιδράσεων (random effects models). Βρέθηκε σημαντική συσχέτιση των πολυμορφισμών με την εμφάνιση και των δυο τύπων της ασθένειας. Οι περισσότεροι από τους πολυμορφισμούς εντοπίζονται στις ενδοκυτταρικές περιοχές του υποδοχέα και πιθανόν επηρεάζουν την αλληλεπίδρασή του με τις G-πρωτεΐνες, μειορρυθμίζοντας την παραγωγή του cAMP και οδηγώντας σε απώλεια της λειτουργίας του μορίου, ή και αλλοιώνοντας την ικανότητα του για σύζευξη με τις G-πρωτεΐνες.

MELANOCORTIN 1 RECEPTOR GENE VARIANTS AND THEIR ASSOCIATION WITH SKIN CANCER

Karnaouri A.C.¹, Papandreou N.C.¹, Hamodrakas S.J.¹, and Bagos P.G.²

¹*Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 15701, E-mail: anthi6@gmail.com, npapand@biol.uoa.gr, shamodr@biol.uoa.gr*

²*Department of Informatics with Applications in Biomedicine, University of Central Greece, Papasiopoulou 2-4, Lamia 35100, Greece. E-mail: pbagos@ucg.gr*

Melanocortin-1-receptor (MC1R), a seven-pass transmembrane G-protein coupled receptor, which is expressed in melanocytes and keratinocytes, is one of the major proteins that determine skin pigmentation. Stimulation of MC1R by α -melanocyte-stimulating hormone (α -MSH) leads to enhanced adenylate cyclase and cAMP activity, resulting in the synthesis of the black photoprotective pigment eumelanin rather than of the non-protective red pigment phaeomelanin. MC1R is highly polymorphic in Caucasian populations, with more than 65 variants being reported. Some loss-of-function variants of MC1R have been shown to play an important role in determining the risks of skin cancer. We conducted a meta-analysis concerning the association of MC1R variants with melanoma and non-melanoma-skin cancer. We identified 19 eligible studies summarizing information about 5985 cases and 7566 healthy controls. Nine polymorphisms, which were reported in more than 10 studies, were examined (V60L, D84E, V92M, R142H, R151C, I155T, R160W, R163Q and D294H). Using random-effects methods we found significant evidence for association of the various allele frequencies with skin cancer. As most of the MC1R variants are found in the intracellular loops of the receptor, they have been demonstrated to alter the coupling with G-proteins, decreasing cAMP production and thus leading to lower production of eumelanin. Further studies are required to obtain more information about the molecule's loss of function.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΥΡΩΣΤΙΑΣ ΤΟΥ ΜΠΑΚΑΛΙΑΡΟΥ *MERLUCCIUS*
MERLUCCIUS (Linnaeus, 1758) ΣΤΟ ΘΕΡΜΑΙΚΟ ΚΟΛΠΟ**

Καρύδας Θ. & Γ. Μίνος

*Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης, Παράρτημα Ν. Μουδανιών,
Τμήμα Τεχνολογίας Αλιείας και Υδατοκαλλιέργειών, Τ.Θ. 157, Ν. Μουδανιά 63200.
E-mail: gminos@aquateithe.gr*

Η παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε στο Θερμαϊκό κόλπο από τον Οκτώβριο του 2006 έως και τον Μάιο του 2007. Συλλέχθηκαν 421 άτομα του μπακαλιάρου (*Merluccius merluccius* Linnaeus, 1758) σε τρεις διαφορετικές, ως προς το βάθος και την αλιευτική δράση, περιοχές αλιείας Α, Β και Γ. Στην περιοχή Α, όπου απαγορεύεται η αλιεία με τράτα βυθού σε όλη τη διάρκεια του χρόνου και με βάθος <35m, η συλλογή των δειγμάτων διενεργήθηκε με στατικό δίχτυ (απλάδι) ανοίγματος 52mm. Στις περιοχές Β και Γ, όπου επιτρέπεται η αλιεία με τράτα βυθού από 1 Οκτωβρίου έως 31 Μαΐου, με βάθη 36-70m και >70m αντίστοιχα, η συλλογή των δειγμάτων έγινε από τράτα βυθού με άνοιγμα ματιού στο σάκο 40mm. Η διαφορά των δύο περιοχών, πέρα από το βάθος είναι ότι στην περιοχή Β ασκείται εντονότερη αλιευτική δραστηριότητα από ότι στη Γ η οποία αλιεύεται περισσότερο το Χειμώνα. Εκτιμήθηκε ο δείκτης ευρωστίας του Fulton $K_n = 100 (W/L^3)$ ανά περιοχή και εποχή. Ο δείκτης ευρωστίας θεωρείται δείκτης προσαρμογής ενός ιχθυοπληθυσμού σε μια περιοχή. Προέκυψαν πιο εύρωστα ψάρια στην περιοχή Α (μέση τιμή $K_n \pm SE = 0,81 \pm 0,160$) από την περιοχή Γ (μέση τιμή $K_n \pm SE = 0,76 \pm 0,006$) και την περιοχή Β (μέση τιμή $K_n \pm SE = 0,75 \pm 0,006$) (ANOVA: $F = 6,56$, $P = 0,0016$). Και στις τρεις περιοχές τα ψάρια εμφάνισαν την χαμηλότερη τιμή το Φθινόπωρο, ενώ η υψηλότερη τιμή εμφανίστηκε το Χειμώνα στις περιοχές Α και Β και την Άνοιξη στη Γ. Οι μπακαλιάροι εμφανίζουν καλύτερη προσαρμογή στη περιοχή Α που έχει μικρότερα βάθη και απαγορεύεται η αλιεία με τράτα βυθού όλο το χρόνο. Η επόμενη εύρωστη περιοχή Γ με το μεγαλύτερο βάθος, δέχεται μικρότερη αλιευτική πίεση από τη Β, το Φθινόπωρο και την Άνοιξη στις οποίες εμφανίζονται υψηλότερες τιμές. Πιθανόν η έντονη αλιευτική δραστηριότητα είναι ένας σημαντικός παράγοντας στη διαμόρφωση της ευρωστίας των αλιευμάτων του μπακαλιάρου από ότι το βάθος του νερού.

**STUDY ON THE CONDITION FACTOR OF HAKE *MERLUCCIUS*
MERLUCCIUS (Linnaeus, 1758) IN THERMAIKOS GULF**

Karidas Th. & G. Minos

*Alexander Technological Educational Institute Thessalonikis, Department of Aquaculture and
Fisheries Technology, P.O. Box: 157, N. Moudania 63200. E-mail: gminos@aqu.teithe.gr*

The present work was performed in the Thermaikos gulf from October 2006 to May 2007. There were collected 421 individuals of cod (*Merluccius merluccius* Linnaeus, 1758) in three different fishery regions A, B and G, according to the water depth and the fishing activity. In region A, where the fishery is prohibited with bottom trawl and with depths lower than 35m, the collection of the samples was performed with gill nets (stretched codend mesh size 52mm). In regions B and G, with depths ranging from 36 to 70m and deeper than 70m respectively, the fishery is allowed with bottom trawls from 1 October until 31 May. In the above regions, the samples were collected using a commercial bottom trawler (stretched codend mesh size 40 mm). The differences between the two regions A and G, is not only the depth but in region B a more intense fishing activity is exercised than in region G which is exploited more during the winter. The Fulton's Condition Factor $Kn = 100 (W/L^3)$ was estimated per area and season. It is known that the condition factor kn is an indicator for the adaptation of a fish population in a given area. In our study appeared more robust fishes in region A (average value of $Kn \pm SE = 0,81 \pm 0,160$) than in region G (average value of $Kn \pm SE = 0,76 \pm 0,006$) and region B (average value of $Kn \pm SE = 0,75 \pm 0,006$) (ANOVA: $F = 6,56$, $P = 0,0016$). In all of the regions, the lower values of Kn were recorded in the autumn. The higher values were recorded in the winter for regions A and B and in spring for region G. It seems that the cod population presents better adaptation in region A which has lower depths and the fishery with bottom trawl is prohibited all over the year. In the next deeper region G, according to Kn values, the fishing pressure is lower than in region B, in the autumn and spring that were presented higher values. Perhaps, the intense fishing activity is a crucial factor affecting the condition factor of cod than the water depth.

ΔΟΜΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ RPE65 ΜΕ ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΠΡΟΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΎΦΑΝΣΗ

Καστρίτης Π.Α., Παπανδρέου Ν.Χ. & Χαμόδρακας Σ.Ι.

Τομέας Βιολογίας Κυττάρων και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Αθήνα 157 01. E-mail: pkastrit@gmail.com; nrapand@biol.uoa.gr; shamodr@biol.uoa.gr

Η trans-cis ισομερίωση της ρετινόλης, το τελικό βήμα του κύκλου της όρασης των θηλαστικών, δεν είναι δυνατόν να ολοκληρωθεί χωρίς τη δράση της πρωτεΐνης RPE65: Η RPE65 είναι απαραίτητη για την αναγέννηση της 11-cis ρετινόλης γιατί προσδένει τον all-trans ρετινοϊκό εστέρα και τον μεταφέρει στην ισομερούδρωσή. Είναι γνωστό ότι, γονιδιακές μεταλλάξεις σε ειδικές θέσεις απενεργοποιούν τη δράση της, προκαλώντας τελικά ασθένειες κληρονομικού χαρακτήρα, όπως η νόσος LCA (Leber's congenital amaurosis) και η νόσος AR-RP (Μελαγχρωστική αμφιβληστροειδοπάθεια, Retinitis pigmentosa). Αν και είναι γνωστός τόσο ο βιοχημικός ρόλος όσο και η αλληλουχία της πρωτεΐνης, η τρισδιάστατη, και κατά συνέπεια, η λειτουργική δομή του μορίου, παραμένει άγνωστη: Προκειμένου να διαλευκανθεί ο μηχανισμός δράσης της, δημιουργήθηκε τρισδιάστατο μοντέλο της RPE65 του ανθρώπου, με τη χρήση τεσσάρων διαφορετικών αλγόριθμων συγκριτικής προτυποποίησης (homology modeling) και ύφανσης (threading). Τα μοντέλα που προέκυψαν, ελέγχθηκαν, και επιλέχθηκε μοντέλο το οποίο βελτιστοποιήθηκε, χρησιμοποιώντας δυναμικά CHARMM27. Το τελικό μοντέλο της RPE65 μελετήθηκε εκτενώς σε δομικό επίπεδο. Από τη μελέτη προκύπτει πως η RPE65, που μοιάζει δομικά με την πειραματικά προσδιορισμένη δομή της ACO (Apo-carotenoid cleavage oxygenase), που χρησιμοποιήθηκε ως δομή-οδηγός, υιοθετεί το δίπλωμα β-προπέλας με 7 λεπίδες. Επομένως, σ' αυτή τη μελέτη προτείνεται μια διαφορετικού τύπου δομή για την RPE65, σε αντίθεση με το μοντέλο που προτάθηκε προηγουμένως, με δομή-οδηγό την Amine dehydrogenase, η οποία είναι πιθανόν ικανή να ερμηνεύσει τη λειτουργία της σε ατομικό επίπεδο.

STRUCTURAL MODEL OF THE RPE65 PROTEIN BASED ON COMPARATIVE MODELLING AND THREADING

Kastritis P.L., Papandreou N.C. & Hamodrakas S.J.

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 157 01.

E-mail: pkastrit@gmail.com; npapand@biol.uoa.gr; shamodr@biol.uoa.gr

Trans-cis isomerization of retinol, the final step in the mammalian retinal cycle cannot be completed without the presence of a protein called RPE65. RPE65 is a critical component for the regeneration of 11-cis retinol since it binds the all-trans retinyl ester and transports it to isomerohydrolase. It is known that mutations of key residues inactivate the protein, causing diseases such as Lebers congenital amaurosis (LCA) and autosomal recessive retinitis pigmentosa (AR-RP). Although its biochemical role and its primary structure have been thoroughly studied, the functional three-dimensional structure of the enzyme remains unknown: In order to clarify the mechanism of action of RPE65, a model of the protein was constructed, utilizing four different program tools that perform comparative modelling or threading. The derived models were evaluated and after implementation of CHARMM27 force fields, the selected model structure was optimized. The structure of the final model was studied extensively. The results of this work show that RPE65, which shares structural similarity with the experimentally determined structure of the Apocarotenoid cleavage oxygenase (ACO) that was used as template, adopts a 7-bladed β -propeller fold. Consequently, this work suggests a different type of 3D-structure for RPE65, which may explain in detail its function at atomic resolution, in contrast to a previously proposed model, utilizing as template structure the protein Amine dehydrogenase.

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΟΡΓΑΝΩΣΗΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΣΩΛΗΝΙΣΚΩΝ ΣΕ
ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΜΕ SSU/ITS ΑΚΟΛΟΥΘΙΕΣ ΣΤΑ ΧΛΩΡΟΦΥΚΗ *URONEMA SP.*,
Uronema sp., *Klebsormidium flaccidum*, *Klebsormidium subtilissimum* ΚΑΙ
*Stichococcus bacillaris***

Κατσαρός Χ.¹, Küpper F.², Βαμβαράκης Β.¹ και C. Gachon²

¹Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη,
Αθήνα 157 84, E-mail: christos.katsaros@biol.uoa.gr

²Culture Collection of Algae and Protozoa (CCAP), Scottish Association for Marine Science (SAMS),
Oban, Scotland, UK, E-mail: Frithjof.Kuepper@sams.ac.uk

Στην εργασία αυτή μελετήθηκε με τη χρήση τεχνικών ανοσοεντόπισης της σωληνίνης και ηλεκτρονικού μικροσκοπίου (ΗΜ) η οργάνωση των μικροσωληνίσκων (ΜΣ) σε μεσοφασικά και διαιρούμενα κύτταρα των Χλωροφυκών *Uronema sp.*, *Klebsormidium flaccidum*, *Klebsormidium subtilissimum* και *Stichococcus bacillaris*. Κατά τη μεσόφαση όλα τα εξετασθέντα είδη φέρουν ένα καλά οργανωμένο περιφερειακό σύστημα ΜΣ, που αποτελείται από παράλληλες δέσμες με διαφορετικό προσανατολισμό. Στο φύκος *Uronema sp.*, οι περιφερειακοί ΜΣ προσανατολίζονται παράλληλα, ενώ στα τρία άλλα είδη κάθετα προς τον κατά μήκος άξονα των κυττάρων. Διαφορές στην οργάνωση των ΜΣ παρατηρήθηκαν επίσης κατά τα στάδια της μίτωσης, ιδιαίτερα κατά την προπρόφαση, καθώς και την κυτοκίνηση. Στο φύκος *Uronema sp.* ένας ιδιαίτερος ακτινωτός σχηματισμός ΜΣ οργανώνεται κατά την προπρόφαση - πρόφαση, ο οποίος δεν παρατηρήθηκε στα άλλα είδη. Η κυτοκίνηση στο φύκος *Uronema sp.* και πιθανώς στο *S. bacillaris* πραγματοποιείται με τη συμμετοχή φυκοπλάστη, ενός σχηματισμού ΜΣ παράλληλων προς το επίπεδο της κυτοκίνησης. Στα άλλα δύο είδη δεν παρατηρήθηκε φυκοπλάστης. Επίσης βρέθηκε ότι στην *Uronema sp.* το κεντροσωμάτιο λειτουργεί ως κέντρο οργάνωσης ΜΣ κατά τη διάρκεια της μίτωσης, ενώ δεν έχει κάποιον τέτοιο ρόλο κατά τη μεσόφαση και την κυτοκίνηση. Η πιθανή φυλογενετική ή/και ταξινομική σημασία των παραπάνω διαφορών συζητάται σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα της ανάλυσης ακολουθιών SSU/ITS και τα υπάρχοντα μοριακά δεδομένα.

**COMPARATIVE IMMUNOFLUORESCENCE AND ULTRA-STRUCTURAL
ANALYSIS OF MICROTUBULE ORGANIZATION COMBINED WITH SSU/ITS
SEQUENCING IN *Uronema sp.*, *Klebsormidium flaccidum*, *Klebsormidium
subtilissimum* AND *Stichococcus bacillaris* (CHLOROPHYTA)**

Katsaros C.¹, Küpper F.², Varvarigos V.¹ and C. Gachon²

¹Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 157 84,
E-mail: christos.katsaros@biol.uoa.gr

²Culture Collection of Algae and Protozoa (CCAP), Scottish Association for Marine Science (SAMS),
Oban, Scotland, UK, E-mail: Frithjof.Kuepper@sams.ac.uk

A detailed comparative examination of microtubule (MT) organization in interphase and dividing cells of *Uronema sp.*, *Klebsormidium flaccidum*, *Klebsormidium subtilissimum* and *Stichococcus bacillaris* was made using tubulin immunofluorescence and transmission electron microscopy. A completely different pattern of MT organization was found between *Uronema* and the other three species. During interphase all the above species bear a well organized cortical MT system, consisting of parallel bundles with different orientations. In *Uronema sp.* the cortical MT bundles are longitudinally oriented, whereas in *K. flaccidum*, *K. subtilissimum* and *S. bacillaris* they are aligned transversely to the axis of the cells. Considerable differences in MT organization are observed also during stages of mitosis, mainly preprophase, as well as cytokinesis. In *Uronema sp.*, a particular radial MT assembly is organized during preprophase-early prophase, which was not observed in the other species. A phycoplast participates in cytokinesis in *Uronema sp.* and, probably, in *S. bacillaris* but not in the other species examined. It was found that in *Uronema sp.* the centrosome functions as a microtubule organizing center during mitosis, but not during interphase and cytokinesis. The possible taxonomic and/or phylogenetic significance of these differences is discussed in combination with SSU/ITS sequencing, as well as existing molecular data.

**ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΕΝΤΑΣΗΣ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΠΕΔΙΟΥ ΣΕ ΚΑΤΟΙΚΙΕΣ ΠΛΗΣΙΟΝ
ΓΡΑΜΜΩΝ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΥΨΗΛΗΣ ΤΑΣΗΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΤΩΝ-
ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ**

**Κατσαρού Α., Αργύρη Ε., Κέφαλος Π., Κοκκαλιάρης Κ., Κοντογιάννη Γ.,
Κορρέ Π., Κοτσίδα Π., Κούμπου Α., Κουρουζίδου Α., Σαββάκη Μ.,
Σταυροπούλου Ε., Συκιώτη Β., Σχίζα Δ., Φραγκοπούλου Α., Χαβδούλα Ε.,
Παναγόπουλος Δ. και Δ.Χ. Μαργαρίτης**

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα 15784*

Μια νέα μορφή κινδύνου, η «ηλεκτρομαγνητική ρύπανση», έχει κάνει την εμφάνισή της τα τελευταία χρόνια προκαλώντας έντονα το επιστημονικό ενδιαφέρον. Η μη ιονίζουσα, ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία είναι ιδιαίτερα διεισδυτική και φαίνεται να ενοχοποιείται για ποικίλες βλάβες στα βιολογικά συστήματα. Στο χαμηλότερο όριο συχνοτήτων των ακτινοβολιών (50 Hz ή 50 κύκλοι/sec) έχουμε τη δημιουργία μαγνητικού πεδίου από την κατανάλωση ηλεκτρικού ρεύματος. Η Διεθνής Επιτροπή Προστασίας από τη Μη Ιονίζουσα Ακτινοβολία, (ICNIRP), πρότεινε το 1998 όριο “αποδεκτής” έκθεσης του πληθυσμού σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία, τιμή 1000 mGauss, ωστόσο αυτή δεν αποτελεί εγγύηση για μακρά έκθεση στις ακτινοβολίες αυτές. Να σημειωθεί ότι κάθε χώρα έχει διαμορφώσει τα δικά της όρια ασφαλείας κρίνοντας από τα υπάρχοντα επιστημονικά δεδομένα και πειράματα. Η ερευνητική μας ομάδα πραγματοποίησε μετρήσεις έντασης του μαγνητικού πεδίου σε κατοικίες και σχολικά συγκροτήματα κοντά σε πυλώνες υψηλής και υπερυψηλής τάσης, καθώς και σε υποσταθμούς της ΔΕΗ. Ενδεικτικές τιμές των μετρήσεών μας είναι αυτές των 10 – 15 mG εντός σχολικών συγκροτημάτων, καθώς και κοντά στα 50 mG εντός αυλών πολυκατοικιών. Επιδημιολογικές μελέτες έχουν καταδείξει συσχέτιση καρκινογένεσης (ιδίως παιδικής λευχαιμίας) και εκφυλιστικών νόσων του νευρικού συστήματος σε άτομα που διαμένουν κοντά σε γραμμές μεταφοράς υψηλής τάσης. Για τους λόγους αυτούς θεωρούμε την ύπαρξη μαγνητικού πεδίου δυνητικά επικίνδυνη για όσους κατοίκους ακτινοβολούνται πολλές ώρες την ημέρα και πολύ περισσότερο για τα παιδιά στα σχολεία. Εκτιμούμε ως αποδεκτό όριο ασφαλείας τα 4 mG. Προτείνουμε η Πολιτεία να ορίσει εκ νέου νέα χαμηλότερα όρια.

*Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του
Πανεπιστημίου Αθηνών προς τον καθηγητή Δ.Χ. Μαργαρίτη.*

MAGNETIC FIELD INTENSITY MEASUREMENTS IN HOUSES NEAR HIGH VOLTAGE POWER LINES AND TRANSFORMERS- HEALTH RISK ESTIMATION

Katsarou A., Argyri E., Kefalos P., Kokkaliaris K., Kontogianni G., Korre P., Kotsila P., Koumpou A., Kourouzidou A., Savvaki M., Stavropoulou E., Sykioti V., Schiza D., Fragopoulou A., Chavdoula E., Panagopoulos D., Margaritis L.H.

Faculty of Biology, Department of Cell Biology and Biophysics, University of Athens, Panepistimiopolis, 15784 Zografou, Athens.

A new form of danger, the "electromagnetic pollution", has made its appearance over the last years causing extended scientific interest. The non-ionizing, electromagnetic radiation penetrates easily and it appears to be responsible for various effects in biological systems. In the lower limit of frequencies radiation (50 Hz or 50 circles / sec) magnetic field is created by the consumption of electricity. The *International Commission on Radiation Protection (ICNIRP)*, proposed in 1998 the so-called 'acceptable' limits of people's exposure to electromagnetic fields (1000 mGauss). However, this value does not guarantee safety for long term exposure of people. It is notable that each country has put its own limits based on the current research which is suggesting a safety limit of 4 mGauss. Our research group has made magnetic field measurements in houses and schools near high voltage power lines. Indicative values are about 10 –15 mGauss inside school yards or about 50 mGauss in other public places. As far as the environmental consequences are concerned, it has been reported that there are health problems for the people living in the vicinity of the power lines. Epidemiological studies have shown cross-correlation of carcinogenesis (mainly children's leukaemia) and degenerative illnesses of the nervous system in people that reside near high voltage power lines. For these reasons we consider the existence of magnetic field above 4 mGauss as potentially dangerous for all residents and especially for the children in schools. We strongly suggest that the safety limits should change into lower values in our Country.

This work has been supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to Professor L.H.Margaritis

ΤΑΣΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΤΗΣ ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΗΣ ΛΙΜΝΗΣ ΚΑΣΤΟΡΙΑΣ

Κατσιάπη Μ.¹, Βαρδάκα Ε.², Κορμάς Κ.³, Μουστάκα-Γούνη Μ.^{1*}

¹ Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τ.Θ 109, 541 24 Θεσσαλονίκη (*E-mail: mmustaka@bio.auth.gr) ² Τμήμα Τεχνολογίας Αλιείας & Υδατοκαλλιέργειών, Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης, Παράρτημα Ν. Μουδανιών, Τ.Θ. 157, 632 00 Ν. Μουδανιά ³ Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας & Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας,, 383 34 Νέα Ιωνία, Βόλος

Η διερεύνηση μεταβολών στην οικολογική κατάσταση της Λίμνης Καστοριάς με βάση το φυτοπλαγκτό, κατά την περίοδο μείωσης των εξωτερικών φορτίων θρεπτικών λόγω εκτροπής των αστικών λυμάτων από τη λίμνη. Η εργασία στηρίχθηκε σε δεδομένα πεδίου της περιόδου 1994-2008 που αφορούν σε παραμέτρους (σύνθεση, αφθονία, βιομάζα φυτοπλαγκτού) εκτίμησης της οικολογικής κατάστασης σύμφωνα με την Οδηγία 2000/60/ΕΚ. Από το 1994 μέχρι σήμερα, παρατηρήθηκαν εμφανείς μεταβολές στη δομή και δυναμική της φυτοπλαγκτικής κοινότητας της λίμνης: α) η συνολική βιομάζα του φυτοπλαγκτού παρουσίασε σταδιακή μείωση κατά τη θερμή περίοδο όταν κυριαρχούν τα κυανοβακτήρια, β) από τα κυρίαρχα είδη κυανοβακτηρίων, τα *Limnothrix redekei* και *Cylindrospermopsis raciborskii* παρουσίασαν σημαντική μείωση βιομάζας, ενώ το τοξικό είδος *Microcystis aeruginosa* εξακο-λούθησε να διατηρεί υψηλές τιμές βιομάζας και γ) η κυριαρχία των κυανοβακτηρίων υποχώρησε την τελευταία διετία κατά τη ψυχρή περίοδο όταν στο φυτοπλαγκτό της λίμνης επικρατούν τα διάτομα (*Asterionella formosa*, *Fragilaria crotonensis*, *Synedra acus*). Παρά την υψηλή βιομάζα του φυτοπλαγκτού και τα έντονα φαινόμενα άνθισης νερού κατά τη θερμή περίοδο, η μείωση της συνολικής βιομάζας του φυτοπλαγκτού και η επικράτηση των διατόμων τη ψυχρή περίοδο υποδηλώνουν βελτίωση της οικολογικής κατάστασης της λίμνης.

IMPROVEMENT INDICATION OF THE ECOLOGICAL STATUS OF LAKE KASTORIA

Katsiapi M.¹, Vardaka E.², Kormas K.³, Moustaka-Gouni M.^{1,*}

¹ Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-541 24 Thessaloniki, Greece (*e-mail: mmustaka@bio.auth.gr) ² Department of Fisheries and Aquaculture Technology, Alexander Technological Educational Institute of Thessaloniki, Campus of Nea Moudania, P.O. Box 157, GR-632 00 Nea Moudania, Greece. ³ Department of Ichthyology and Aquatic Environment, University of Thessaly, 384 46 Nea Ionia, Greece

This study aims to identify changes in the ecological status of Lake Kastoria based on phytoplankton after sewage diversion. The study was based on field data for the period 1994-2008 concerning phytoplankton parameters (composition, abundance and biomass) used for the ecological status assessment according to the Water Framework Directive (2000/60/EC). Since 1994, pronounced changes were observed in the structure and dynamics of the lake's phytoplankton: a) total phytoplankton biomass declined gradually during the warm period when cyanobacteria dominate, b) amongst the dominant cyanobacteria species, *Limnothrix redekei* and *Cylindrospermopsis raciborskii* biomass dropped to very low levels, whereas the toxic *Microcystis aeruginosa* biomass remained constantly high and c) cyanobacteria dominance receded the last couple of years during the cold period when diatoms prevailed (*Asterionella formosa*, *Fragilaria crotonensis*, *Synedra acus*). Despite high phytoplankton biomass and dense water blooms in the warm period, total phytoplankton biomass decline and diatom dominance in the cold period indicate an improvement of the lake's ecological status.

ΚΡΙΣΙΜΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΗΣ ΛΙΜΝΗΣ ΚΟΡΩΝΕΙΑΣ

Κατσιάπη Μ.¹, Γενίτσαρης Σ.¹, Παντελιδάκης Κ.¹, Μιχαλούδη Ε.^{2*},
Μουστάκα-Γούνη Μ.^{1**}

¹Τομέας Βοτανικής, ²Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο
Θεσσαλονίκης. E-mail: * tholi@bio.auth.g r ** mmustaka@bio.auth.gr)

Στόχος: Η αναγνώριση κρίσιμων λιμνολογικών παραγόντων για την εφαρμογή μέτρων αποκατάστασης της Λίμνης Κορώνειας με βάση τη θεμελιώδη γνώση για το σύστημα.

Μεθοδολογία-Προσέγγιση: Η εργασία στηρίχθηκε σε δεδομένα πεδίου και σε ανασκόπηση μεθόδων αποκατάστασης. Τα δεδομένα πεδίου αφορούν στη σύνθεση (ειδών και ομάδων), αφθονία, βιομάζα και διαδοχή φυτοπλαγκτού και ζωοπλαγκτού καθώς και στη δομή του πλαγκτικού τροφικού πλέγματος σε σχέση με φυσικές και χημικές παραμέτρους του νερού την περίοδο 1985-2008.

Αποτελέσματα: Οι κρίσιμοι παράγοντες για την αποκατάσταση της Λίμνης Κορώνειας είναι: 1) η εξαιρετικά χαμηλή βιοποικιλότητα φυτοπλαγκτού και ζωοπλαγκτού με τάση περαιτέρω μείωσης, 2) η υπέρμετρη αύξηση -ιδιαίτερα κατά τη θερμή περίοδο του έτους- γνωστών τοξικών ειδών φυτοπλαγκτού (*Anabaenopsis arnoldii*, *Arthrospira fusiformis*, *Microcystis aeruginosa*, *Prymnesium parvum*) που συνέπεσε με φαινόμενα μαζικών θανάτων παρυδάτιων πτηνών και ψαριών την τελευταία πενταετία, 3) η υπέρμετρη αύξηση μη τοξικών ειδών φυτοπλαγκτού γνωστών από την επικράτησή τους σε συνθήκες υψηλής οργανικής ρύπανσης, όταν το βάθος της λίμνης ξεπερνά το 1 m, 4) η κατάρρευση του τροφικού πλέγματος με κατακόρυφη πτώση του μεγάλωσωμου ζωοπλαγκτού και ιδιαίτερα του είδους *Daphnia magna* σε σύνδεση με την αύξηση των τοξικών κυανοβακτηρίων ή/και την αύξηση του pH του νερού. Το είδος *D. magna* θεωρείται στη διεθνή βιβλιογραφία οργανισμός «κλειδί» για την αποκατάσταση αβαθών λιμνών και 5) η ραγδαία συσσώρευση νεκρής βιομάζας φυτοπλαγκτού στον πυθμένα της λίμνης όπου διατηρούνται διαχευόμενα στάδια φυτοπλαγκτικών οργανισμών, τοξικών και μη. Η ανάπτυξη των οργανισμών αυτών επιτεύχθηκε στο εργαστήριο και μόνο με την προσθήκη νερού στη νεκρή βιομάζα.

Περιορισμοί της έρευνας: Η έρευνα στηρίχθηκε σε δεδομένα πεδίου που συλλέχθηκαν με διαφορετική συχνότητα, ενώ ήταν αδύνατη η λήψη δειγμάτων από τη στήλη νερού το 2008.

Αξία-Πρακτική εφαρμογή: Η παρούσα εργασία υπογραμμίζει τις ραγδαίες μεταβολές που διαδραματίζονται την τελευταία δεκαετία στο τροφικό πλέγμα της Λίμνης Κορώνειας, με αποτέλεσμα την επιδείνωση της κατάστασής της, και αναδεικνύει τους κρίσιμους λιμνολογικούς παράγοντες για την ιεράρχηση και εφαρμογή μέτρων αποκατάστασης της λίμνης.

CRITICAL FACTORS FOR THE RESTORATION OF LAKE KORONIA

Katsiapi M.¹, Genitsaris S.¹, Pantelidakis K.¹, Michaloudi E.^{2*}, Moustaka-Gouni M.^{1**}

¹Department of Botany, ²Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki. E-mail: * tholi@bio.auth.gr ** mmustaka@bio.auth.gr)

Objective: This study aims to highlight critical limnological factors for the implementation of appropriate restoration measures of Lake Koronia based on the fundamental knowledge of the system.

Methodology-Approach: The study was based on field data and literature review of restoration methods. Field data refer to phytoplankton and zooplankton composition (species and groups), abundance, biomass and succession as well as the structure of the planktic food web in relation to physical and chemical parameters of the water during 1985-2008.

Results: The critical factors for the restoration of Lake Koronia are: 1) the extremely low biodiversity of phytoplankton and zooplankton with a tendency for further decrease, 2) the mass growth – particularly during the warm months – of known toxic phytoplankton species (*Anabaenopsis arnoldii*, *Arthrospira fusiformis*, *Microcystis aeruginosa*, *Prymnesium parvum*) that have coincided with mass kill episodes of birds and fish during the last 5 years, 3) the mass growth of non-toxic phytoplankton species known for their dominance in heavily polluted waters, when the maximum lake depth exceeds 1 m, 4) the collapse of the food web with the considerable decrease of the large zooplankton and especially the species *Daphnia magna* in relation to the increase of toxic cyanobacteria or/and the increase of pH of the water. *D. magna* is widely considered, a key organism for the restoration of shallow lakes, 5) the rapid accumulation of dead phytoplankton biomass on the bottom of the lake where resting stages of toxic or non-toxic phytoplankton species persist. The development of these species has been achieved in the laboratory with the addition of water to the dead biomass.

Limitations of the study: The field data of the study were obtained on a variable time resolution basis, whereas water column samples were impossible to be collected in 2008.

Practical value: The present study underlines the rapid changes that have been taking place during the last decade in the food web of Lake Koronia, resulting in further deterioration of its ecological status and highlights the critical factors for the prioritization and implementation of restoration measures of the lake.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΧΑΛΚΟΥ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΦΥΛΛΩΝ ΝΕΑΡΩΝ
ΦΥΤΩΝ ΧΑΡΟΥΠΙΑΣ**

Κατσίγιαννη Α.¹, Μελετίου-Χρήστου Μ.-Σ.²

*Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη 15784
Αθήνα. ¹E-mail: taniabiol@yahoo.gr ²E-mail: mmeleti@biol.uoa.gr*

Σκοπός της εργασίας αυτής ήταν η μελέτη της επίδρασης του χαλκού στην αύξηση νεαρών φυτών χαρουπιάς καθώς και στη σύσταση των φύλλων σε λιπίδια, φαινόλες, χλωροφύλλες και ασκορβικό οξύ. Καλλιεργήθηκαν 75 φυτά χωρισμένα σε 5 κατηγορίες ανάλογα με τα διαλύματα με τα οποία ποτίζονταν για χρονικό διάστημα 2 μηνών: Απεσταγμένο νερό - 0,01μM CuSO₄ - 5μM CuSO₄ - 10μM CuSO₄ - 50μM CuSO₄. Από τις παραμέτρους αύξησης που μετρήθηκαν, φαίνεται ότι τα μεγαλύτερα συμπτώματα καταπόνησης εμφάνισαν τα φυτά της μεταχείρισης 5μM CuSO₄. Τα ολικά λίπη των φύλλων μειώνονταν αυξανόμενης της συγκέντρωσης χαλκού. Επίσης, παρατηρήθηκε επικράτηση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων στα γλυκολιπίδια (κύρια συστατικά των μεμβρανών των χλωροπλαστών) Ακόμη, η παρουσία των κορεσμένων λιπαρών οξέων με μικρού μήκους αλυσίδα (12:0, 14:0) και η αύξηση της συμμετοχής τους, αυξανόμενης της συγκέντρωσης χαλκού, ίσως αποτελεί ένδειξη μείωσης του πάχους και της ρευστότητας της μεμβράνης. Στο ίδιο συμπέρασμα μπορούμε να καταλήξουμε και από την παρατήρηση ότι ο λόγος ακόρεστα/ κορεσμένα λιπαρά οξέα μειώνεται αυξανόμενης της συγκέντρωσης χαλκού. Τέλος, ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στα φύλλα δεν έδειξε κάποια αξιοσημείωτη διαφορά στις τιμές μεταξύ των διαφορετικών μεταχειρίσεων.

EFFECTS OF COPPER ON GROWTH AND LEAF DEVELOPMENT OF CAROB YOUNG PLANTS

Katsigianni A.¹, Meletiou-Christou M.-S.²

Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, 157 84 Athens, Greece. ¹E-mail: taniabiol@yahoo.gr ²E-mail: mmeleti@biol.uoa.gr

The impact of copper on the growth of young *Ceratonia siliqua* plants and their leaves' composition in lipids, phenols, chlorophyll and ascorbic acid was studied. Seventy five plants were grown during a period of 2 months. The plants were divided in 5 groups according to the watering solution: Distilled water – 0,01 μ M CuSO₄ – 5 μ M CuSO₄ - 10 μ M CuSO₄ - 50 μ M CuSO₄. The growth factors, that were measured, showed that the most stressed plants were those that were treated with 5 μ M CuSO₄. The amount of total lipids was decreasing, as the concentration of copper increased. A predominance of the polyunsaturated fatty acids of the glycolipids (main compounds of the membrane of the chloroplasts) was observed. Moreover, the presence of saturated fatty acids with short-length chains (12:0, 14:0), as well as the increase of their participation along with the increase of copper concentration, indicated that the membrane decreased in thickness and fluidity. The same presumption arose from the observation that the ratio of unsaturated to saturated fatty acids decreased as the concentration of copper increased. Finally, the concentration of phenolic compounds of the leaves did not show any significant variation among the different treatments of the plants.

ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΛΕΥΚΙΝΗΣ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ

Κιοσσέ Θ.¹, Μιγλή Α.¹, Κολλιός Γ.²

¹Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

²Διδάκτορ Βιοχημείας, Βιοχημικό Εργαστήριο, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο
Ιωαννίνων

E-mail: f_kiosse@yahoo.gr, anastbetmir@hotmail.com, gkollios@cc.uoi.gr

Η λευκίνη είναι ένα απαραίτητο αμινοξύ που μαζί με τη βαλίνη και την ισο-λευκίνη ανήκουν στην κατηγορία αμινοξέων διακλαδισμένης αλυσίδας. Εκτός από τον φυσιολογικό μεταβολισμό της λευκίνης, έχουν ταυτοποιηθεί περιπτώσεις, στις οποίες παρουσιάζονται προβλήματα στη λειτουργία των ενζύμων του μεταβολισμού. Στις περιπτώσεις αυτές συναντώνται υψηλές συγκεντρώσεις ενδιάμεσων μεταβολιτών και παραπροϊόντων, που είναι τοξικές για τον άνθρωπο. Τα αποτελέσματα τους είναι η εμφάνιση ασθενειών που αναφέρονται ως δυσλειτουργίες του μεταβολισμού της λευκίνης και είναι από ήπιες έως θανατηφόρες. Οι δυο βασικότερες ασθένειες που σχετίζονται με τον μεταβολισμό της λευκίνης, είναι η ασθένεια με ούρα σαν σιρόπι σφενδάμου και η ισοβαλερική οξυαιμία. Η βιοχημική βάση στις ασθένειες αυτές είναι σφάλματα στην λειτουργία του συμπλέγματος της αφυδρογονάσης των α-κετοξέων με διακλαδισμένη αλυσίδα και δυσλειτουργία ή πλήρης έλλειψη του ενζύμου αφυδρογονάση του ισοβαλέριου συνενζύμου A, αντίστοιχα. Κληρονομούνται ως αυτοσωμικές υπολειπόμενες ενώ ταυτοποιήθηκαν αρκετές διαφορετικές μεταλλάξεις στα εμπλεκόμενα γονίδια. Ο τυπικός έλεγχος για αυτές τις δυσλειτουργίες, διενεργείται σε αίμα, ούρα και εγκεφαλονωτιαίο υγρό νεογνών. Επιπλέον, ελέγχεται η υπολειπόμενη λειτουργικότητα των πολυενζυμικών συμπλόκων που συμμετέχουν στο μονοπάτι αυτό. Σημαντικό ρόλο στην θεραπεία, παίζει η ηλικία διάγνωσης και ο μεταβολικός έλεγχος που εφαρμόζεται στον ασθενή. Μέθοδος θεραπείας είναι η μακροχρόνια διαχείριση διατροφής ενώ συχνά, επιβάλλεται η θεραπεία οξείας φάσης για την αντιμετώπιση των μεταβολικών κρίσεων και η παροχή καρνιτίνης.

THE PATHOLOGY OF LEUCINE METABOLISM IN HUMAN

Kiosse Th.¹, Mirli A.¹, Kollios G.²

¹*Department of Biological Applications and Technologies, University of Ioannina, Ioannina Greece*

²*Phd in Biochemistry, Biochemical Laboratory, University General Hospital of Ioannina*

E-mail: f.kiosse@yahoo.gr ; anastbetmir@hotmail.com ; gkollios@cc.uoi.gr

Leucine is an important amino acid and along with valine and isoleucine belong to the branched chain amino acids. Apart from the normal metabolic procedure, there have been identified cases in which problems arise due to functional problems in the enzymatic activity of the metabolism. In these cases, high concentrations of intermediate metabolites and by-products appear that are toxic for human. As a result diseases arise that are referred to as leucine metabolism disorders and can be mildly symptomatic or lethal. The two most important diseases of this pathway are maple syrup urine disease and isovaleric acidaemia. They are caused by a deficiency in the branched-chain α -keto acid dehydrogenase and malfunction or full deficiency in isovaleryl coenzyme-A accordingly. They are both inherited as autosomal recessive diseases and mutations have been identified for all related genes. Typical control protocols in leucine metabolism disorders are implemented in neonates blood, urine and cerebrospinal fluid of neonates. Cell cultures help test for the residual activity of the multienzyme compounds in this pathway. Important role in therapy plays the age of diagnosis along with the metabolic control that is implemented. An essential treatment method is long-term dietary management, while in many occasions acute-phase management is necessary to cope with patients' metabolic crisis. Carnitine is supplied, as it assists the elimination of by-products in the organism.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΤΩΝ ΤΥΛΩΝ ΣΥΖΕΥΞΗΣ ΤΩΝ ΑΜΦΙΒΙΩΝ *Bombina variegata*, *Rana dalmatina* & *Rana graeca* ΜΕ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ ΣΑΡΩΣΗΣ ΚΑΙ ΟΠΤΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ

Κλαδίσκος Ν., Κυριακοπούλου-Σκλαβούνου Π.

Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, ΤΚ 541 24 Θεσσαλονίκη. E-mail: Kyriakop@bio.auth.gr

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν η εξωτερική μορφολογία και η ιστολογική δομή των τύλων σύζευξης των άνουρων αμφιβίων *Bombina variegata*, *Rana dalmatina* & *Rana graeca*. Οι τύλοι σύζευξης είναι δερμικοί δευτερεύοντες φυλετικοί χαρακτήρες που εμφανίζονται κατά την περίοδο αναπαραγωγής μόνο στα αρσενικά άτομα ως σκουρόχρωμες και ισχυρά κερατινοποιημένες διογκώσεις της επιδερμίδας στην πλευροκοιλιακή όψη του πρώτου δακτύλου (*Rana*) ή των τριών δακτύλων των πρόσθιων μελών και την εσωτερική επιφάνεια των αντιβραχίων (*Bombina*). Φαίνεται ότι διευκολύνουν το αγκάλιασμα του θηλυκού από το αρσενικό κατά το ζευγάρωμα και η επιφανειακή τους δομή παρέχει την απαραίτητη τριβή για τη συγκράτηση του θηλυκού μέσα στο νερό. Λεπτομερείς παρατηρήσεις με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) έδειξαν ότι η επιδερμίδα φέρει πολλές μικρές θηλοειδείς προεξοχές που προβάλλουν πάνω στην επιφάνεια του τύλου. Αυτές οι προεξοχές είναι σχεδόν αποστρωγγυλεμένες στα δύο συγγενικά είδη *R. dalmatina* & *R. graeca* και κωνικές που καταλήγουν σε άγκιστρο στο είδος *B. variegata*. Οι θηλοειδείς προεξοχές αποτελούνται από πολυάριθμες μικροπροεξοχές που διατάσσονται σε ομάδες δίνοντας έτσι μια διαφορετική εικόνα μοναδική για κάθε είδος. Αυτές οι διαφορετικές εικόνες δεν είναι ορατές με το οπτικό μικροσκόπιο. Οι ιστολογικές τομές των τύλων σύζευξης των ειδών *R. dalmatina* & *R. graeca* που παρατηρήθηκαν με το οπτικό μικροσκόπιο παρουσιάζουν παρόμοια εικόνα, ενώ διαφέρουν αρκετά από το είδος *B. variegata*. Οι διαφορές εντοπίζονται όχι μόνο στη μορφή των πολλών κερατινοποιημένων επιδερμικών στιβάδων αλλά και στο σχήμα και τη μορφή των υποκείμενων εκκριτικών αδένων.

STUDY OF STRUCTURE OF NUPTIAL PADS OF THE AMPHIBIANS *Bombina variegata*, *Rana dalmatina* & *Rana graeca* WITH SCANNING ELECTRON MICROSCOPE AND OPTICAL MICROSCOPE

Kladisios N., Kyriakopoulou-Sklavounou P.

Department of Zoology, School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, GR-54124 Thessaloniki. E-mail: Kyriakop@bio.auth.gr

In the present work were studied the external morphology and histological structure of the nuptial pads of the anuran amphibians *Bombina variegata*, *Rana dalmatina* & *Rana graeca*. Nuptial pads are cutaneous secondary sexual characteristics of males that appear during the breeding season as dark and strongly keratinized swellings on the ventrolateral aspect of the first finger (*Rana*) or on the first three fingers and the inside of the forearms (*Bombina*). Nuptial pads are thought to facilitate the male's grip on the female during amplexus and the surface structure provides the friction necessary for clasping the smooth body of the female. Under scanning electron microscope (SEM) numerous small elevations were observed rising above pad's surface; they were almost rounded in *R. dalmatina* & *R. graeca* and conical with hooks in *B. variegata*. These small elevations were consisted of microprocesses, which are organised in groups giving a different picture unique for each species. These different pictures are not visible with the optical microscope. The histological sections of nuptial pads of *R. dalmatina* & *R. graeca* observed under the optical microscope showed almost a similar picture and differ considerably from those of *B. variegata*. These differences are located not only in the form of the multiple keratinized epidermal layers but also in the form and structure of the underlying secretory glands.

ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΤΟΠΙΚΗΣ ΚΟΙΝΩΝΙΑΣ ΣΤΗΝ ΠΡΟΣΤΑ-ΤΕΥΟΜΕΝΗ ΠΕ- ΡΙΟΧΗ ΔΕΛΤΑ ΑΞΙΟΥ-ΛΟΥΔΙΑ-ΑΛΙΑΚΜΟΝΑ

Κλεφτογιάννη Β.¹, Αμπακούμκιν Γ.², Βώκου Δ.¹

¹Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΠΤΘ 119, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο,
54124 Θεσσαλονίκη. E-mails: vklefto@bio.auth.gr vokou@bio.auth.gr

²Παιδαγωγικό Τμήμα Προσχολικής Εκπαίδευσης, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας,
Αργοναυτών & Φιλελλήνων, 382 21 Βόλος. E-mail: gabak@uth.gr

Η καταγραφή των γνώσεων, στάσεων και απόψεων των τοπικών κοινωνιών στις προστατευόμενες περιοχές αποτελεί χρήσιμο εργαλείο για το σχεδιασμό αποτελεσματικής περιβαλλοντικής πολιτικής στο πλαίσιο της συμμετοχικής και προσαρμοζόμενης διαχείρισης. Η προστατευόμενη περιοχή των Δέλτα Αξιού-Λουδία-Αλιάκμονα είναι μια εκτεταμένη περιοχή που εμπίπτει στα όρια τριών Νομαρχιών και 10 Δήμων, αλλά μέχρι σήμερα δεν έχουν οριστικοποιηθεί τα όριά της. Με χρήση ερωτηματολογίου εξετάσαμε γνώσεις και απόψεις της τοπικής κοινωνίας σχετικά με την προστατευόμενη περιοχή και τις κύριες πιέσεις που ασκούνται επάνω της, καθώς και το ενδιαφέρον για πρόσθετη ενημέρωση και για συνεισφορά είτε χρόνου είτε χρηματικού ποσού για την προστασία της. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι ένας στους τέσσερις δε γνωρίζει ότι η περιοχή βρίσκεται υπό καθεστώς προστασίας. Οι γυναίκες φαίνεται να το γνωρίζουν σε μικρότερο βαθμό από τους άντρες, όπως και οι νέοι κάτω των 21 ετών σε σχέση με τους μεγαλύτερους, ενώ η αναλογία αυτών που το γνωρίζουν αυξάνεται αντιστρόφως ανάλογα με την απόσταση του τόπου κατοικίας από τα προτεινόμενα όρια της περιοχής. Ως προς τις περιβαλλοντικές πιέσεις, η συντριπτική πλειοψηφία πιστεύει πως υπάρχουν αρνητικές επιπτώσεις στο φυσικό περιβάλλον της περιοχής από τα βιομηχανικά απόβλητα (95%), τα φυτοφάρμακα (90%), τα λιπάσματα (85%) και το κυνήγι (60%). Λιγότεροι από τους μισούς αναγνωρίζουν επιπτώσεις από τις αμμοληψίες (44%) και ένας στους τρεις από την αύξηση των μονάδων μυδοκαλλιέργειας και τη βόσκηση, τουλάχιστον όπως ασκείται σήμερα. Οι απόψεις των ερωτώμενων σχετικά με τις περιβαλλοντικές πιέσεις σχετίζονται με την επαγγελματική τους δραστηριότητα. Μικρό ποσοστό του συνολικού δείγματος γνωρίζει ότι λειτουργεί Κέντρο Πληροφόρησης (26%), από αυτούς οι μισοί το έχουν επισκεφθεί, ενώ ένας στους τέσσερις έχει παρακολουθήσει ενημερωτική εκδήλωση. Η ενημέρωσή τους αυξάνεται με το επίπεδο εκπαίδευσής τους. Η μεγάλη πλειοψηφία θα ήθελε να ενημερωθεί περισσότερο για την περιοχή (80%), θα πλήρωνε ένα μικρό χρηματικό ποσό (74%) και θα αφιέρωνε χρόνο για την προστασία της (61%). Η πρόθεση για ενημέρωση και αφιέρωση χρόνου αυξάνεται όσο αυξάνεται η ηλικία των ερωτώμενων, ενώ τα άτομα χαμηλότερης εκπαίδευσης φαίνονται περισσότερο πρόθυμα να διαθέσουν χρόνο από εκείνα υψηλότερης. Θεωρώντας τις θετικές απαντήσεις για περισσότερη ενημέρωση και συμβολή χρόνου ή χρήματος ως ένδειξη φιλοπεριβαλλοντικής στάσης της τοπικής κοινωνίας, θεωρούμε ότι παρά τις υπάρχουσες τριβές υπάρχουν αισιόδοξα σημάδια για την υποστήριξη του θεσμού και την προστασία στην πράξη.

ANALYZING ASPECTS OF THE LOCAL SOCIETY IN THE PROTECTED AREA OF AXIOS-LOUDIAS-ALIAKMONAS ESTUARIES

Kleftoyanni V.¹, Abakoumkin G.², Vokou D.¹

¹*Department of Ecology, School of Biology, Aristotle University, Thessaloniki, GR-54124, Greece. E-mail: vklefto@bio.auth.gr; vokou@bio.auth.gr*

²*Department of Preschool Education, University of Thessaly, Argonafton & Filellinon, GR-38221, Volos, Greece. E-mail: gabak@uth.gr*

Assessing the knowledge, perceptions and attitudes of people living near protected areas, before any management is applied, is a very important practice, as it provides valuable background information. The protected area of Axios, Loudias, and Aliakmonas estuaries is an extensive area that belongs in three Prefectures and 10 Municipalities; nevertheless, its exact boundaries are not defined officially yet. We assessed local people's knowledge of the designation of the protected area, their perceptions about environmental stresses being imposed on it, their interest to increase their knowledge and awareness as well as their willingness to contribute to the protection of the area. Results show that one in four respondents is not aware of the protection status. Women seem to be less aware than men and young people under 21 years less than the rest. Knowledge about the area seems to increase conversely to the distance from respondents' residence to the protected area boundaries (the ones officially proposed). The great majority of respondents believe that there are negative impacts on the natural environment of the protected area from industrial wastes (95%), pesticides (90%), fertilizers (85%), and hunting (60%). Less than half believe that there are impacts from sand extraction (44%), whereas one in three from the expansion of mussel culture and grazing (as it is currently conducted). Their perceptions regarding major impacts seem to relate to their occupation. Only a small part (26%) is aware that there exists an Informational Centre in the area, half of those have visited it, whereas one in four has attended a relevant information/awareness event. Awareness about the Centre relates positively to education level. The great majority of respondents expressed their interest in getting more information about the area (80%) and their willingness to devote time or pay a little amount of money for protection. Their willingness to have more information and also to offer time or money for protection increases with age; people of lower education score higher in their willingness to devote time than those of higher education. Considering positive answers for information and time or money contribution for the protection of the area as an indication of pro-environmental attitude, we believe that despite the existing conflicts, there is ground for enactment of the protection status and for protection in practice.

**ΜΟΡΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ DRB ΤΟΥ ΜΕΙΖΟΝΟΣ
ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ ΙΣΤΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ (MHC) ΣΤΟ ΕΙΔΟΣ *Ovis aries***

**Κόκκαλης Α., Κουτσογιαννούλη Ε., Σταμάτης Κ., Μούτου Κ., Σαραφίδου Θ.,
Μπιλίνης Χ.¹, Μαμούρης Ζ.**

*Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πλούτωνος 26 και
Αιόλου, 41221 Λάρισα, E-mail: evkouts@gmail.com*

¹*Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τρικάλων 224, 43100, Καρδίτσα*

Το μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας (MHC) αποτελείται από ένα σύνολο στενά συνδεδεμένων γονιδίων, διαδραματίζει το σημαντικότερο ρόλο στην ανοσοαπάντηση και έχει μελετηθεί ιδιαίτερα, λόγω της μεγάλης ποικιλομορφίας που παρουσιάζει. Στόχος της μελέτης, ήταν η προκαταρκτική διερεύνηση του γενετικού πολυμορφισμού του γονιδίου DRB1 του MHC τάξης II του είδους *Ovis aries*, προκειμένου να εξεταστεί ο ρόλος της δράσης της επιλογής, του γενετικού ανασυνδυασμού και η επίδραση της φυλογενετικής προέλευσης των ζώων, με σκοπό τη γενετική βελτίωση των φυλών. Η ανάλυση έγινε σε 58 άτομα του *Ovis aries* χρησιμοποιώντας τη μέθοδο SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism, ανάλυση πολυμορφισμού διαμόρφωσης μονού κλώνου) σε συνδυασμό με την άμεση αλληλούχιση. Βρέθηκαν δεκαπέντε αλληλόμορφα. Παρατηρήθηκε υψηλό ποσοστό ετεροζυγωτίας (67.5%), ενώ ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η φυλογενετική μελέτη των αλληλομόρφων, η σύγκρισή τους με αλληλόμορφα του DRB1 που ήδη έχουν δημοσιευτεί καθώς και αλληλόμορφα άλλων ειδών προβάτων. Τα αποτελέσματα αυτά αναλύονται σε σχέση με το γενετικό υπόβαθρο καθώς και την εξελικτική θέση του είδους.

MOLECULAR ANALYSIS OF DRB GENE OF MAJOR HISTOCOMPATIBILITY COMPLEX (MHC) IN *Ovis aries*

Kokkalis A., Koutsogiannouli E., Stamatis C., Moutou K., Sarafidou Th., Mpilinis C.¹, Mamuris Z.

Dept of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Ploutonos 26 & Aiolou str, Larissa

¹Faculty of Veterinary Sciences, University of Thessaly, Trikalon 224, 43100, Karditsa

The major histocompatibility complex (MHC) is composed of closely linked genes, plays the most important role in immunological response and has been intensively studied due to the great polymorphism that it displays. The purpose of our study is the analysis of the genetic polymorphism of the MHC class II *DRB1* gene of *Ovis aries* in order to determine the role of the action of the selection, genetic recombination and influence of the phylogenetic descentance of the animals, aiming to the genetic improvement of the races. We analysed *DRB* gene in 58 *Ovis aries* individuals, using Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP) combined with direct sequencing and identified 15 different alleles. We detected a highly heterozygosity (67.5%), whereas of special interest is the phylogenetic study of the alleles, their comparison with alleles that have already been published as well as alleles of different sheep races. These results have been analysed in relation to the genetic background as well as the evolutionary taxonomy of the race.

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ
ΕΚΘΕΣΗΣ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ GSM900MHz
ΚΙΝΗΤΩΝ ΤΗΛΕΦΩΝΩΝ ΣΤΗΝ ΩΟΓΕΝΕΣΗ ΤΟΥ ΔΙΠΤΕΡΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ
Drosophila virilis.**

Κοκκαλιάρης Κ.Δ., Σχίζα Δ. και Μαργαρίτης Λ.Χ.

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας Ε.Κ.Π.Α.

Η Διεθνής Επιτροπή Προστασίας από τη Μη Ιονίζουσα Ακτινοβολία, ICNIRP, και ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας, WHO, θέσπισαν το 1998 όρια "αποδεκτής" έκθεσης στην ακτινοβολία, εντός των οποίων η χρήση κινητών τηλεφώνων θεωρητικά δεν εγκυμονεί κινδύνους. Στόχος της παρούσας εργασίας είναι να ελεγχθεί πιθανή ύπαρξη βιολογικών επιδράσεων της ακτινοβολίας σε οργανισμούς, εντός των μέχρι σήμερα ισχυρόντων ορίων "ασφαλούς" έκθεσης. Η πειραματική διάταξη που χρησιμοποιήθηκε σχεδιάστηκε με σκοπό τη διερεύνηση των επιδράσεων των RF παλμικών πεδίων της GSM ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας κινητών τηλεφώνων, με φέρουσα συχνότητα 900 MHz στην ωογένεση του εντόμου *Drosophila virilis*. Χρησιμοποιήθηκαν δύο σειρές εντόμων με ειδοποιό διαφορά τη διάρκεια και τις δόσεις στην ακτινοβολία: 12 λεπτά ανά μία ώρα για τρεις φορές την ημέρα για τρεις μέρες σε σύγκριση με 6 λεπτά αντί για 12. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε συγκριτική ανάλυση με χρήση τεχνικών χρώσης με πορτοκαλί της ακριδίνης και επακόλουθη παρατήρηση σε μικροσκόπιο φθορισμού αλλά και σε συνεστιακό σαρωτικό μικροσκόπιο laser. Διαπιστώθηκε σαφής αύξηση του φαινομένου του κυτταρικού θανάτου κατά την ωογένεση σε έντομα που είχαν εκτεθεί στην ακτινοβολία κινητού τηλεφώνου (4 φορές και 7 φορές αύξηση αντίστοιχα), σε σχέση με τα αντίστοιχα που δεν είχαν ακτινοβοληθεί. Τα πειραματικά αποτελέσματα αυτά σε συνδυασμό με άλλα αποτελέσματα του εργαστηρίου μας συνηγορούν υπέρ μίας πιο συνετής χρήσης της τεχνολογίας των κινητών τηλεφώνων, η οποία κρίνεται απαραίτητη, καθώς ολοένα και περισσότερα παρόμοια αποτελέσματα έρχονται στο φως.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς τον καθηγητή Λ.Χ. Μαργαρίτη

COMPARATIVE AND DIFFERENTIAL STUDY OF EXPOSURE TO GSM900 MHz MOBILE PHONE RADIATION ON THE OOGENESIS OF *DROSOPHILA VIRILIS*

Kokkaliaris C.D., Schiza D. and Margaritis L.H.

Dept of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, Athens University

The extended presence of mobile phones and their technology in our every-day life is a widespread phenomenon. The issue of public safety is a matter which is under careful consideration. The *International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP)* (1998) and the *World Health Organisation (WHO)* has established certain "reference levels" that are prescribed in order not to engrave danger upon users of mobile phones. The purpose of the herein study is to reveal possible biological effects in organisms, by the radiation emitted by cellular phones. Our experiments were conducted to study the impact of GSM radiation (non-ionizing radiation), having a carrier frequency at 900 MHz, on the oogenesis of the insect *Drosophila virilis*. The duration and repetition used was as follows: 12 min/hr three times a day for three days and same as before but 6 min.. The exposure dependent effect was analyzed comparatively. The experimental protocol included the use of staining techniques, such a staining with acridine and consequent monitoring in fluorescence and confocal laser scanning microscope. The results show a pure 4fold and 7fold increase respectively in the level of programmed cell death occurring during oogenesis in the exposed insects. These results, among other analogous results of our lab, are considered sufficient to alert the scientific community and lead to a sensible use of mobile phones and of the consequential technology.

This work has been supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to Professor L.H.Margaritis

**ΚΑΤΑΧΩΡΗΣΗ ΣΕ ΔΙΑΔΙΚΤΥΑΚΗ ΒΑΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΤΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ
ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΕΙΔΩΝ ΤΩΝ ΑΜΦΙΒΙΩΝ
(AMPHIBIA), ΤΩΝ ΕΡΠΕΤΩΝ (REPTILIA) ΚΑΙ ΤΩΝ ΠΤΗΝΩΝ (AVES) ΤΗΣ
ΕΛΛΑΔΑΣ**

**Κολοβός Π.¹, Λαμπαδά Α.¹, Καλαμπούκας Σ.¹, Κίτσος Μ.-Σ.², Μαβίδης Μ.²,
Κούκουρας Α.² & Γ.Ν. Θωμόπουλος¹**

¹Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 541 24 Θεσσαλονίκη.

²Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 541 24
Θεσσαλονίκη.

Στόχος της παρούσας έρευνας ήταν η καταγραφή των υπάρχοντων βιβλιογραφικών δεδομένων πάνω στη γενετική και κυτταρική ποικιλότητα των ειδών των αμφιβίων, των ερπετών και των πτηνών της Ελλάδας και η καταχώρηση όλων των σχετικών πληροφοριών σε μια βάση δεδομένων, προσβάσιμης δια μέσου του διαδικτύου.

Η βάση δεδομένων ονομάζεται "Ελληνική Βιοποικιλότητα" και βρίσκεται στην ηλεκτρονική διεύθυνση <http://greek-biodiversity.bio.auth.gr/>. Η ανάλυση των σχετικών καταχωρημένων δεδομένων έδειξε πως, σε κυτταρικό - ιστολογικό επίπεδο υπάρχουν πληροφορίες για το 72,7% του συνόλου των ελληνικών ειδών αμφιβίων (16 από τα 22 είδη) και για το 36,1% των ερπετών (22 από τα 61 είδη). Σε γενετικό επίπεδο υπάρχουν πληροφορίες: (α) για το 95,5% των ελληνικών ειδών αμφιβίων (21 από τα 22 είδη)· (β) για το 86,9% των ελληνικών ειδών ερπετών (53 από τα 61 είδη) και (γ) για το 83,1% των ειδών πτηνών της Ελλάδας (353 από τα 425 είδη).

Η έρευνα αυτή υποστηρίχτηκε από το ερευνητικό πρόγραμμα του Ε.Π.Ε.Α.Ε.Κ. ΙΙ, "Πυθαγόρας ΙΙ, ενίσχυση ερευνητικών ομάδων στα Πανεπιστήμια" που συγχρηματοδοτείται από το ΥΠ.Ε.Π.Θ. και την Ευρωπαϊκή Ένωση.

REGISTRATION IN AN INTERNET DATABASE OF THE GENETIC AND CELLULAR DIVERSITY OF THE AMPHIBIAN (AMPHIBIA) REPTILE (REPTILIA) AND BIRD (AVES) SPECIES OF GREECE

Kolovos P.¹, Lampada A.¹, Kalampoukas S.¹, Kitsos M.-S², Mavidis M., Koukouras A.² & G.N. Thomopoulos¹

¹Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 541 24 Thessaloniki.

²Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 541 24 Thessaloniki

The main aim of this study was to record the existing literature data on the genetic and cellular diversity of the Greek amphibian, reptile and bird species and to register the relevant information in a database, accessible through the internet.

The name of the database is "Greek Biodiversity" and is found at the following address <http://greek-biodiversity.bio.auth.gr/>. The analysis of the relevant registered data showed that at the cellular-tissue level, there is information for 72.7% of the Greek amphibian species (16 out of 22) and for 36.1% (22 από τα 61 species) of the Greek reptiles. Concerning the genetic level, there is information for: (a) 95.5% of the Greek amphibian species (21 out of 22); (b) 86.9% of the Greek reptile species (53 out of 61) and (c) 83.1% of the Greek bird species (353 out of 425).

This study was supported by the Operational Program for Education and Initial Vocational Training (EPEAEK II), action "PYTHAGORAS II" (co-funded by the Ministry of Education and Religious Affairs of Greece and the European Union).

ΑΝΟΣΟΑΠΟΚΡΙΣΗ ΣΤΟΝ ΕΝΤΕΡΙΚΟ ΒΛΕΝΝΟΓΟΝΟ ΕΠΕΙΤΑ ΑΠΟ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΑΠΟΣΤΕΙΡΩΜΕΝΟΥ ΝΕΡΟΥ ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΕΙ ΕΝΔΟΤΟΞΙΝΗ

Κοντάνα Α., Παπαδημητρίου Χ.*, Σαμαράς Π.†, Ζδράγκας Α.* & Γιάγκου Μ.

*Τομέας Γενετ., Ανάπ. και Μορ. Βιολ., Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ *Τμήμα Τεχνολογίας
Αντιρύπανσης ΤΕΙ Δυτικής Μακεδονίας *Εργ. Περιβαλ. και Ενερ. Διεργ., Τεχνολογικό
Πάρκο-Θεσσαλονίκη *Εθν. Ίδρυμα Αγροτ. & Γεωργ. Ερευνών, Θέρμη, Θεσ/νίκη*

Η ανάκτηση και επαναχρησιμοποίηση επεξεργασμένων υγρών αποβλήτων (ΕΥΑ) προτείνεται ως λύση στο πρόβλημα της αναζήτησης υδάτινων πόρων. Η λύση αυτή εμπεριέχει την πιθανότητα έκθεσης φυσικών πληθυσμών ανώτερων οργανισμών σε υπολείμματα ή παραπροϊόντα της επεξεργασίας. Στόχος της μελέτης είναι η χρησιμοποίηση ανοσολογικών παραμέτρων που επάγονται στον εντερικό βλεννογόνο, ως βιοδείκτες για την εκτίμηση της ποιότητας των ΕΥΑ που προήλθαν έπειτα από προχωρημένη, υψηλής ποιότητας τριτοβάθμια επεξεργασία και αποστείρωση. Το δευτεροβάθμια επεξεργασμένο λύμα (ΔΕΛ) υποβλήθηκε σε τριτοβάθμια επεξεργασία με διήθηση από φίλτρο ενεργού άνθρακα (ΕΑ) και απολύμανση με χλωρίωση (Χ), καθώς και WAO (wet air oxidation) σε αυτόκαυστο. Παρά τη δραματική μείωση ή το μηδενισμό των φυσικοχημικών και μικροβιολογικών χαρακτηριστικών, που αντικατοπτρίζουν άμεσα την ποιότητα του νερού, στα δείγματα ανιχνεύεται ενδοτοξίνη ικανή να επάγει *in vitro* τον πολλαπλασιασμό λεμφοκυττάρων. Η χορήγηση του νερού αυτού σε ποντικούς έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση ανοσοαποκρίσεων στο έντερο, που εκφράζεται με αύξηση του αριθμού των κυττάρων που παράγουν αντισώματα τάξης IgA, TNF α , τους παράγοντες φλεγμονής Cox-1 και Cox-2, καθώς και τους υποδοχείς TLR-4 και TLR-2. Από την άλλη, οι κυτοκίνες του εντέρου IL-10, IFN γ καθώς και οι υποδοχείς TLR-6 και TLR-9 δε φαίνεται να επηρεάζονται. Τα παραπάνω αποτελέσματα δείχνουν ότι οι ποσότητες της ενδοτοξίνης που εμπεριέχεται στο Χ-WAO και ΕΑΧ-WAO νερό είναι ικανές να επάγουν ανοσοβιολογικές αποκρίσεις στο βλεννογόνο του εντέρου. Για το λόγο αυτό, η μέτρηση της ενδοτοξίνης θα πρέπει να συμπεριληφθεί ως μέτρηση ρουτίνας στην αξιολόγηση της ποιότητας των ανακτημένων υγρών.

IMMUNE RESPONSE IN INTESTINAL MUCOSA POST ADMINISTRATION OF AUTOCLAVED WATER CONTAINING ENDOTOXIN

Kontana A., Papadimitriou C.* , Samaras P.# , Zdragas A.+ & Yiangou M.

*Dept. Genet., Dev. & Mol. Biol., Sch. Biol., Aristotle Univ. Thes/niki *Chem. Proc. Eng. Res. Inst., Centre Res. & Technology-Thessaloniki #Sch. Technology, TEI West Macedonia +Nat. Agricult. Res. Found..Inst. of Veterinary Res., Thessaloniki*

Wastewater reclamation and reuse is recommended as a solution to the management of water resources. However, there is always the possibility of exposure of natural populations of higher organisms on emerging contaminants. The aim of this study is the use of immunological parameters, induced in the intestinal mucosa, as biomarkers in order to evaluate the quality of highly treated, autoclaved wastewater. Secondary treated wastewater was objected to adsorption on Granular Activated Carbon (GAC), disinfection with chlorination (Chl), as well as Wet Air Oxidation (WAO) by autoclave. In the above samples endotoxin levels, capable to induce *in vitro* lymphocyte proliferation, are detected, despite the dramatic reduce or elimination of the physicochemical and microbiological parameters that can directly and easily assess wastewater quality. The administration in mice of the above highly treated water, results in the induction of immune responses in the intestinal mucosa, which is characterized by increase in the number of cells producing IgA antibodies, TNF α , inflammatory mediators such as Cox-1 and Cox-2 and expressing the receptors TLR-2 and TLR-4. On the other hand, intestinal cytokine levels of IL-10 and IFN γ as well as the receptors TLR-6 and TLR-9 remain constant. The above data indicate that the amounts of endotoxin present in the Chl-WAO and GAC-Chl-WAO samples are able to induce immune responses in the intestinal mucosa. Thus, endotoxin assessment should be incorporated in the legislation, applied for the quality evaluation of the reclaimed wastewater.

IN VITRO ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ ΤΟΥ NICOTIANA TABACUM L. CV. SAMSUN

Corduk Nursen και Cuneyt Aki

*Canakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Sciences and Arts, Department of Biology,
17020, Canakkale, TURKEY,*

E-mail: nursencorduk@comu.edu.tr ; cuneytaki@comu.edu.tr

Η *in vitro* αναγέννηση μεταμορφωμένων φυτών είναι ένα από τα πιο σημαντικά στάδια της μεταφοράς των γονιδίων και τη δημιουργία διαγονιδιακών φυτών. Συνεπώς, για την αναγέννηση των φυτών, χρειάζεται να βελτιωθούν οι περιβαλλοντικές συνθήκες ανάπτυξης για κάθε φυτικό είδος και έκφυτο. Σε αυτή την παρουσίαση, βελτιώθηκε το σύστημα αναγέννησης του *Nicotiana tabacum L. cv. Samsun* κάτω από *in vitro* συνθήκες. Η οργανογένεση πραγματοποιήθηκε από έκφυτα φύλλων καπνού. Η καλλογένεση έγινε από έκφυτα φύλλων, σε υπόστρωμα MS (Murashige and Skoog, 1962) με διαφορετικές συγκεντρώσεις ρυθμιστών φυτικής ανάπτυξης (NAA και BAP), 3% σουκρόζη και 0.8% αγαρόζη. Τα έκφυτα αναπτύχθηκαν σε θαλάμους ανάπτυξης φυτών κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες, 26±2°C και 16/8 φωτοπεριόδου με 72W/m² ένταση φωτός. Οι καλύτερες συνθήκες καλλογένεσης επιτεύχθηκαν σε υπόστρωμα MS με 2.0 mg/L NAA και 0.2 mg/L BAP. Η αύξηση του κάλλου πραγματοποιήθηκε μετά από σειρές ανακαλλιέργειών και η αναγέννηση των βλαστών επιτεύχθηκε από καλλιέργεια κάλλων σε MS υπόστρωμα με προσθήκη 2.0 mg/L BAP, 0.5 mg/L NAA. Η ριζογένεση επιτεύχθηκε σε καλλιέργεια σε MS υπόστρωμα χωρίς την προσθήκη ρυθμιστών φυτικής ανάπτυξης. Μετά από μικρό χρονικό διάστημα τα *in vitro* αναγεννημένα φυτά μεταφυτεύθηκαν στο χώμα, σκληραγωγήθηκαν σε *ex vivo* συνθήκες και αναπτύχθηκαν κανονικά.

IN VITRO REGENERATION OF NICOTIANA TABACUM L. CV. SAMSUN

Corduk Nursen and Cuneyt Aki

Canakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Sciences and Arts, Department of Biology, 17020, Canakkale, TURKEY,

E-mail: nursencorduk@comu.edu.tr ; cuneytaki@comu.edu.tr

In vitro regeneration of transformed plants is the most important stage of gene transformation study. Therefore, for plant regeneration, environmental conditions are need to be optimize for plant species and explants. In this research, *Nicotiana tabacum* L. cv. Samsun regeneration system had been improved *in vitro* conditions. Organogenesis were directly realized from the tobacco leaf explants. Callogenesis induced from the leaf explants, on Murashige and Skoog (Murashige and Skoog,1962) medium supplemented with different concentration of plant growth regulators (naphthaleneacetic acid and benzylaminopurine). All culture medium consisted MS basal medium, 3% sucrose and 0.8 % agar. Explants were incubated in plant growth chamber under controlled conditions $26\pm 2^{\circ}\text{C}$ and 8/16 photoperiod with 72 W/m^{-2} light. At the end of comparatively callogenesis studies in different induction medium, best callus induction were obtained in MS medium which supplemented with 2.0 mg/L NAA and 0.2 mg/L BAP. Callus growth were realized in this optimum medium with subculture series and shoot regeneration were obtained from callus in MS medium which supplemented with 2.0 mg/L BAP, 0.5 mg/L NAA and roots formed on basal MS medium without plant growth regulators. After a while *in vitro* regenerated plants were transplanted to soil and acclimatized to *ex vivo* conditions. At the end of the research we claimed that all regenerated plants adapted *ex vivo* conditions and grew healthy.

**ΟΙΚΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΔΥΟ ΕΙΔΩΝ ΧΕΡΣΑΙΩΝ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΩΝ
ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΘΕΡΙΣΗ: ΕΥΚΑΙΡΙΑΚΕΣ ΚΑΙ ΠΑΓΙΩΜΕΝΕΣ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΕΣ;**

Κοτσάκιοζη Π.¹, Γκιώκας Σ.², Παφίλης Π.^{3,4} & Ε.Δ. Βάλακος¹

¹Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, 15784
Πανεπιστημιούπολη Αθήνα ²Τομέας Βιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο
Πάτρας, 26500 Πάτρα ³School of Natural Resources and Environment, Dana Hall, 440 Church
St., University of Michigan, Ann Arbor, MI 48109-1041, USA ⁴Modern Greek Program, Dept of
Classical Studies, Angell Hall, 435 S. State, Univ. of Michigan, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA

Τα χερσαία σαλιγκάρια συνήθως ακολουθούν κυκλικό πρότυπο δραστηριότητας κατά το οποίο η περίοδος δραστηριότητάς τους ακολουθείται από μια περίοδο διάπαυσης (διαχείμαση / διαθέριση). Η μετάβαση από τη μια κατάσταση στην άλλη συνοδεύεται από ποικιλία συμπεριφορικών και φυσιολογικών προσαρμογών με σκοπό την εξασφάλιση της επιβιώσής τους κάτω από αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες. Εξετάσαμε τα εποχικά πρότυπα στην βιοχημική σύσταση του σώματος σε σχέση με την οικολογία της συμπεριφοράς και τις κλιματικές συνθήκες σε τρεις πληθυσμούς χερσαίων σαλιγκαριών. Συγκεκριμένα σε ένα ηπειρωτικό και σε ένα νησιωτικό πληθυσμό του ευρέως εξαπλωμένου χερσαίου σαλιγκαριού *Helix aspersa* και σε ένα νησιωτικό πληθυσμό του *Helix figulina* το οποίο είναι αγριακό είδος με πολύ περιορισμένη κατανομή. Και στους τρεις πληθυσμούς παρατηρήθηκε ότι οι αποθεματικές ουσίες (γλυκογόνο, λιπίδια, πρωτεΐνες) και το νερό συσσωρεύονταν πριν το καλοκαίρι (περίοδο κατά την οποία τα ζώα βρίσκονται σε διάπαυση) και στη συνέχεια μειωνόταν γρήγορα. Το υδατικό περιεχόμενο δεν εμφάνισε σημαντική μεταβολή κατά τη διάρκεια του έτους. Η LDH στον ηπειρωτικό πληθυσμό του *Helix aspersa* παρουσίασε σημαντική πτώση κατά τη διάρκεια της διάπαυσης, υποδεικνύοντας την απουσία αναερόβιων μονοπατιών, ενώ στον νησιωτικό πληθυσμό του ίδιου είδους οι μεταβολές της δεν φαίνεται να ακολουθούν κάποιο εποχικό πρότυπο. Αντίθετα στο *Helix figulina* παρουσιάστηκε σαφής αύξηση της LDH κατά τους καλοκαιρινούς μήνες υποδηλώνοντας την ύπαρξη αναερόβιων μονοπατιών. Το συμπέρασμα της μελέτης μας ήταν η ξεκάθαρη διάκριση της καλοκαιρινής περιόδου διάπαυσης και για τους τρεις πληθυσμούς που μελετήθηκαν. Οι φυσιολογικές αποκρίσεις του *Helix aspersa* φαίνεται να είναι αποτελεσματικές και να αντισταθμίζουν τις αντίξοες συνθήκες κατά τη διάρκεια της διάπαυσης. Ίσως η συμπεριφορική και φυσιολογική οικολογία του είδους αυτού να είναι ομορτουμιστική. Το *Helix figulina* φαίνεται να ακολουθεί μια πιο παγιωμένη στρατηγική διαθέρισης που αν και φαίνεται αποτελεσματική για την επιβίωση του είναι πιο ευαίσθητη στις συνέπειες ενδεχόμενων αλλαγών στις περιβαλλοντικές συνθήκες.

Μέρος αυτής της μελέτης χρηματοδοτήθηκε από το πρόγραμμα Καποδίστριας (ΕΚΠΑ)

ECOPHYSIOLOGICAL RESPONSES IN TWO LAND SNAIL SPECIES DURING AESTIVATION: OPPORTUNISTIC AND FIXED STRATEGIES?

Katsakiozi P.¹, Giokas S.², Pafilis P.^{3,4}, & E.D. Valakos¹

¹Section of Animal & Human Physiology, Department of Biology, University of Athens, GR-15784, Athens, Greece, tel/fax: + 30-210-7274376, E-mail: evalakos@biol.uoa.gr

²Section of Animal Biology, Department of Biology, University of Patras, GR-26500, Patras, Greece, tel/fax: + 30-2610-969218, E-mail: sinosg@upatras.gr ³ School of Natural Resources and Environment, Dana Hall, 440 Church St., University of Michigan, Ann Arbor, MI 48109-1041, USA ⁴Modern Greek Program, Department of Classical Studies, Angell Hall, 435 S. State, University of Michigan, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA

Land snails usually exhibit cycles of activity in which the period of activity is followed by a period of aestivation or hibernation. The transition between these two states is accompanied by a range of behavioural and physiological adaptations to ensure their survival under adverse environmental conditions. We examined the seasonal biochemical composition patterns in relation to behavioural ecology and climatic conditions in three land snails' populations: a mainland population and an insular population of the wide-spread land snail *Helix aspersa* and an insular population of *Helix figulina* which is an aegean species with very narrow distribution. In all populations was observed that fuel reserves (glycogen, lipids, proteins) and water were accumulated prior to summer (when the animals aestivate), but subsequently were rapidly depleted. Water content did not exhibit substantial fall during the year. LDH in the mainland population of *Helix aspersa* exhibited a substantial fall during aestivation, suggesting the absence of anaerobic pathways, while in the insular population of the same species, LDH changes do not seem to follow any seasonal pattern. On the contrary in *Helix figulina* LDH increase was evident, suggesting the existence of anaerobic pathways. The outcome of our study was the clear distinction of the aestivation summer period in all the studied populations. The physiological responses of *H. aspersa* seemed to be effective and compensate the effect of adverse conditions during aestivation. Perhaps, the behavioural and physiological ecology of this species is opportunistic. *Helix figulina* seems to follow a different more fixed aestivation strategy that even though seems effective for its survival is more liable to the effects of changing environmental conditions.

Part of this project is funded by Kapodistrias project (NKUA)

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΧΡΟΝΟΥ ΕΚΘΕΣΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ GSM 900 MHz ΚΑΙ DCS
1800 MHz ΚΙΝΗΤΗΣ ΤΗΛΕΦΩΝΙΑΣ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΑΡΑ-ΓΩΓΙΚΗ
ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ *Drosophila melanogaster***

Κοτσιλά Π.Ι., Χαβδούλα Ε.Δ., Παναγόπουλος Δ.Ι., Μαργαρίτης Λ.Χ.

¹Τομέας Βιολογίας Κυττάρων και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Πανεπιστημιούπολη 157 84 Αθήνα. E-mail: lmargar@biol.uoa.gr

Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία που εκπέμπεται από GSM (Global System for Mobile Telecommunications) και DCS (Digital Cellular System) κινητά τηλέφωνα με φέρουσα συχνότητα στα 900 MHz και 1800 MHz αντίστοιχα, διαμορφωμένη από την φωνή του καλούντος κατά τη διάρκεια των πειραμάτων (ομιλούσα εκπομπή) και για διαφορετικούς χρόνους έκθεσης, μειώνει την αναπαραγωγική ικανότητα του εντόμου *Drosophila melanogaster* έως και 28,32%, όπως έχουμε δείξει σε προηγούμενα πειράματα [1]. Στην εργασία αυτή, τα έντομα εκτίθεντο σε απόσταση 20 cm και 30 cm από το κινητό τηλέφωνο, για DCS και GSM ακτινοβολία αντίστοιχα. Η έκθεση γινόταν σε νεοεκδυθέντα έντομα για τα πρώτα 5 εικοσιτετράωρα της ενήλικης ζωής τους σύμφωνα με προγενέστερα πειράματα του εργαστηρίου μας [1,2,3], ενώ η διάρκεια της έκθεσης ήταν 1 min, 6 min και 11 min ημερησίως, για 3 διαφορετικές ομάδες εκτεθειμένων εντόμων αντίστοιχα. Η μείωση της αναπαραγωγικής ικανότητας των εντόμων που εκτέθηκαν στα πεδία της DCS ακτινοβολίας ήταν μέγιστη στα 11 min έκθεσης ενώ για την GSM ακτινοβολία μεγαλύτερη μείωση είχαμε στα 6 min έκθεσης. Τα αποτελέσματα αφ' ενός επιβεβαιώνουν τη μείωση στην αναπαραγωγική ικανότητα των εντόμων λόγω έκθεσης στις παραπάνω ακτινοβολίες που όπως είχαν δείξει προηγούμενα πειράματα του εργαστηρίου μας οφείλεται σε επαγόμενο κυτταρικό θάνατο στα αναπαραγωγικά κύτταρα του εντόμου [3] και αφ' ετέρου μας δίνουν μια πρώτη εκτίμηση της επίδρασης του χρόνου έκθεσης στο βιολογικό μας σύστημα. Από τα πρώτα αυτά πειράματα φαίνεται πως όσον αφορά τουλάχιστον την βραχυπρόθεσμη έκθεση λίγων λεπτών ημερησίως, οι ακτινοβολίες κινητής τηλεφωνίας GSM και DCS, μπορούν να λειτουργήσουν συσσωρευτικά ως προς τα βιολογικά τους αποτελέσματα σε σχέση με τη διάρκεια επίδρασής τους.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς τον καθηγητή Λ.Χ. Μαργαρίτη

**EFFECT OF DURATION OF EXPOSURE TO GSM 900 MHz
AND DCS 1800 MHz MOBILE PHONE RADIATION ON THE REPRODUC-
TIVE CAPACITY OF *Drosophila melanogaster***

Kotsila P.J., Havdoula E.D., Panagopoulos D.J., Margaritis L.H.

*Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens,
Panepistimiopolis 157 84, Athens. E-mail: lmargar@biol.uoa.gr*

Electromagnetic radiation emitted by GSM (Global System for Mobile Telecommunications) 900 MHz and DCS (Digital Cellular System) 1800 MHz mobile phone radiation, modulated by the voice of the calling person during the experiments ("speaking emission") and for different exposure durations, decreases the reproductive capacity of the insect *Drosophila melanogaster* up to 28,32 %, as shown in previous experiments [1]. During this project, the insects were exposed at a distance of 20 cm and 30 cm from the mobile phone, correspondingly for DCS and GSM radiation. We exposed newly eclosed insects for the first 5 days of their adult lives, according to previous experiments of our laboratory, [1,2,3]. The exposures took place for 1 min, 6 min and 11 min daily, correspondingly for the 3 different groups of exposed insects. The decrease in the reproductive capacity of the insects exposed to DCS radiation was maximum at 11 min of exposure while for GSM radiation maximum decrease was found for 6 min of exposure. These results on one hand confirm the decrease in the insect's reproductive capacity, due to the above mentioned radiations which as shown in previous experiments of our laboratory is a result of induced death in the reproductive cells of the insect, [3] and on the other hand give us a first estimation of the exposure duration effect, upon our biological system. From these first experiments it seems that, at least for short term exposure of few minutes daily, GSM and DCS mobile phone radiations may produce cumulative biological effects, in regards to the duration of their influence.

References:

1. Panagopoulos, D.J., Karabarbounis A., Margaritis L.H. (2004) Effect of GSM 900-MHz mobile phone radiation on the reproductive capacity of *Drosophila melanogaster*. *Electromagnetic Biology & Medicine*, vol23, nr.1, 29-43, 2004
2. Panagopoulos, D.J., Chavdoula E., Karabarbounis A., Margaritis L.H. (2007) Comparison of bioactivity between GSM 900MHz and DCS 1.800MHz mobile telephony Radiation. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 26, 33-44
3. Panagopoulos, D.J. Chavdoula, E. Nezis, I., Margaritis, L.H. (2007) Cell death induced by GSM 900MHz and DCS 1.800MHz mobile telephony Radiation. *Mutation Research* 626, 69-78

This work has been supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to Professor L.H.Margaritis

**ΜΟΡΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΙ ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΩΝ
ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΩΝ ΤΩΝ ΑΣΚΟΜΥΚΗΤΩΝ**

Κουβέλης Β.Ν., Μ.Α. Τύπας

*Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Πανεπιστημιούπολη 15701 Αθήνα, E-mail: matypas@biol.uoa.gr*

Η πλειονότητα των μυκήτων μεγάλης οικολογικής, οικονομικής και βιοτεχνολογικής σημασίας ανήκει στο φύλο των Ασκομυκήτων. Για την ταξινόμηση ειδών και εύρεση φυλογενετικών σχέσεων χρησιμοποιούνται κυρίως πληροφορίες προερχόμενες από την πυρηνική ριβοσωμική επανάληψη (rDNA). Τα τελευταία χρόνια, η χρήση μιτοχονδριακών γονιδίων και η συγκριτική μελέτη μιτοχονδριακών γονιδιωμάτων (mtDNAs) συνέβαλαν επιπρόσθετα στην επίλυση φυλογενετικών αμφιβολιών και έδωσαν εργαλεία μοριακής ταυτοποίησης (genetic fingerprinting) πολλών μυκήτων. Κατά την τελευταία επταετία, απομονώθηκαν και αναλύθηκαν στο Εργαστήριο μας τα mtDNAs εντομοπαθογόνων (*Beauveria bassiana*, *B. brongniartii*, *Lecanicillium muscarium* και *Metarhizium anisopliae*), φυτοπαθογόνων μυκήτων (*Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahliae*), και αντιπροσώπων κλινικής (*Aspergillus fumigatus*) και βιοτεχνολογικής σημασίας (*Candida zemplinina*, *Hanseniaspora uvarum*). Με εξαίρεση το γονιδίωμα της ζύμης *H. uvarum* όλα τα υπόλοιπα χαρτογραφούνται ως κυκλικά μόρια. Το μέγεθός τους διαφέρει λόγω ποικιλομορφίας στις διαγονιδιακές τους περιοχές και διαφορετικού αριθμού εσωνίων εντός των γονιδίων *rnl*, *cox1*, *cox2*, *cob* και *nad1*. Έχουν παρόμοια δομή και οργάνωση με όλους τους γνωστούς ασκομύκητες και φέρουν 14 γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες εμπλεκόμενες στην αναπνοή και παραγωγή ATP, 2 γονίδια rRNA και 24-26 γονίδια tRNAs. Παρουσιάζουν ομάδες συνταϊνικότητας που δίνουν πληροφορία για τη διαλεύκανση της φυλογένεσης τους, ενώ η συγκριτική μελέτη των αλληλουχιών των 14 μιτοχονδριακών πρωτεϊνών αναδεικνύει τις εξελικτικές τους σχέσεις και επιλύει ταξινομικά προβλήματα. Τέλος, τα μιτοχονδριακά γονιδιώματα και ιδίως η ποικιλομορφία των διαγονιδιακών περιοχών αποδείχθηκαν χρήσιμο εργαλείο για την προσέγγιση της μοριακής ενδο- και δια-ειδικής διαφοροποίησης.

**MOLECULAR ANALYSIS AND COMPARATIVE STUDY OF THE
MITOCHONDRIAL GENOMES OF ASCOMYCOTA**

Kouvelis V.N., M.A. Typas

*Department of Genetics and Biotechnology, Faculty of Biology, University of Athens,
Panemistiopolis, Athens 15701, Greece, E-mail: matypas@biol.uoa.gr*

A large number of ecologically, economically and biotechnologically important members of fungi are placed in the phylum of Ascomycota. During the last two decades, the nuclear ribosomal rRNA gene-complex repeat (rDNA) has become the "standard" tool in taxonomy and phylogenetic studies. More recently, the addition of sequences from mitochondrial (mt) genes or the comparative analysis of complete mitochondrial genomes (mtDNAs) have significantly contributed to resolve taxonomic or phylogenetic ambiguities. In the past seven years, our laboratory isolated and analysed the complete mt genomes from entomopathogenic (*Beauveria bassiana*, *B. brongniartii*, *Lecanicillium muscarium* and *Metarhizium anisopliae*), phytopathogenic (*Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahliae*), as well as representatives from biotechnologically (*Candida zemplinina*, *Hanseniaspora uvarum*) and clinically (*Aspergillus fumigatus*) important fungi. These fungal mtDNAs were compared with all corresponding genomes from public databases to show that with the exception of *H. uvarum* they are all circularly mapped and that size differences are attributed to the variation of intergenic regions and the different number of introns present in the *rnl*, *cox1*, *cox2*, *cob* και *nad1* genes. Gene content and organization are typical for all fungi; they carry fourteen genes coding for proteins that participate in respiration and production of ATP, two rRNA and twenty four to twenty six tRNA genes. Gene order comparisons revealed characteristic stretches of synteny that provide valuable information on fungal phylogeny. A comparative study of the 14 mtDNA-encoded proteins showed their phylogenetic relations and solved several taxonomic problems. Finally, certain mitochondrial genes and especially variable intergenic regions proved to be excellent molecular tools for inter- and intra-specific differentiation, as well as for "barcoding" and fingerprinting of fungi.

**ΕΠΟΧΙΚΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ ΛΥΣΟΣΩΜΙΚΩΝ ΚΑΙ ΛΙΠΙΔΙΑΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ
ΣΤΟΝ ΠΕΠΤΙΚΟ ΑΔΕΝΑ ΤΟΥ ΜΥΔΙΟΥ *Mytilus galloprovincialis***

Κουκουζίκια Ν. και Δημητριάδης Β.Κ

*Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο, 54124 Θεσσαλονίκη, E-mail: vdimitr@bio.auth.gr*

Εξετάζοντας μύδια σε τρεις διαφορετικές εποχές του έτους μελετήθηκε η εποχική μεταβολή των χαρακτηριστικών του λυσοσωμικού συστήματος, καθώς και η διακύμανση του ποσού των λιπιδίων και των λιποφουσκινών στον πεπτικό αδέννα μυδιών *Mytilus galloprovincialis*. Τα μύδια συλλέχθηκαν από 5 σταθμούς δειγματοληψίας του Θερμαϊκού Κόλπου, τρεις φορές το χρόνο. Ο σταθμός της Ολυμπιάδας χρησιμοποιήθηκε ως σταθμός αναφοράς. Στην αρχή του καλοκαιριού, στον πεπτικό αδέννα των μυδιών εντοπίστηκε ένα ιδιαίτερα ενεργό λυσοσωμικό σύστημα, ιδιαίτερα μειωμένο ποσό λιποφουσκινών και μέτρια ποσότητα λιπιδίων. Στην αρχή του χειμώνα, η λειτουργία του λυσοσωμικού συστήματος έδειξε να καταστέλλεται, ενώ ταυτόχρονα οι λιποφουσκίνες αυξήθηκαν και ιδιαίτερα μειωμένο ποσό λιπιδίων εντοπίστηκε στον πεπτικό αδέννα. Στην αρχή της άνοιξης τα λυσοσώματα επανεμφάνισαν σημάδια ενεργοποίησης. Παράλληλα, ανιχνεύθηκε μεγάλη ποσότητα λιποφουσκινών, ενώ και τα λιπίδια αύξησαν το μέγεθός τους, σε σχέση με το χειμώνα. Τα αποτελέσματα ενισχύουν την άποψη ότι το καλοκαίρι αποτελεί την καταλληλότερη περίοδο για την πραγματοποίηση δειγματοληψιών σε μελέτες βιοπαρακολούθησης που στηρίζονται σε παραμέτρους του πεπτικού αδέννα των μυδιών. Επιπρόσθετα, εξετάστηκε η ταυτόχρονη παρουσία λιπιδίων και ενζυμικής αντίδρασης στο εσωτερικό των λυσοσωμάτων του πεπτικού αδέννα. Στις περιπτώσεις που εντοπίστηκε αυξημένη ποσότητα ενδολυσοσωμικών λιπιδίων, η αντίδραση για το ένζυμο Ν-ακετυλο-β-εξοζαμινιδάση ήταν ιδιαίτερα ασθενής. Η αλληλεπίδραση μεταξύ των παραγόντων αυτών θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη σε μελέτες βιοπαρακολούθησης, ώστε να γίνεται καλύτερη ερμηνεία των αποτελεσμάτων κυτταροχημικών τεχνικών, που βασίζονται στις παραμέτρους αυτές για την εκτίμηση της θαλάσσιας ρύπανσης.

SEASONAL VARIATION OF LYSOSOMAL AND LIPID PARAMETERS IN THE DIGESTIVE GLAND OF THE MUSSEL *Mytilus galloprovincialis*

Koukouzika N., and Dimitriadis V.K.

Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle University, 54124 Thessaloniki, E-mail: vdimitr@bio.auth.gr

By examining mussels in three different periods of the year, additional information was provided regarding the seasonal influence on the function of the lysosomal system as well as, on the variation of lipid material and the accumulation of lipofuscins in the digestive gland of mussels *Mytilus galloprovincialis*. The mussels were collected from five stations along Thermaikos Gulf. A station near Olympiada in Strymonikos Gulf was selected as a reference area. Early winter, early spring and early summer were the sampling periods under examination. The parallel examination of these biological parameters indicated that, in early summer there was a very active lysosomal system together with extremely decreased lipofuscins and moderate amount of lipids in the digestive gland of mussels. In early winter, the lysosomal system displayed signs of inactivation and at the same time raised lipofuscin content and limited amount of lipid inclusions occurred. In early spring, lysosomes became active again and concurrently high lipofuscin material was detected, whereas lipids showed an increasing tendency in respect to winter. The results lead to the conclusion that summer could preferentially be used as sampling period in biomonitoring studies dealing with digestive gland parameters in mussels. In addition, aim of the present research was to further clarify the relationship between the lysosomal enzymatic content and neutral lipid accumulation into the digestive gland lysosomes. By using mussels displaying an extreme accumulation of lipids into the lysosomes, a poor reaction for the lysosomal enzyme N-acetyl- β -hexosaminidase was revealed. The latter fact could possibly have an effect on the results of cytochemical techniques based on the above mentioned parameters. Therefore, this information should be taken into consideration, in biomonitoring studies for the better interpretation of the results.

ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΤΟΥ *Arabidopsis thaliana* ΜΕ ΧΡΗΣΗ *Escherichia coli* ΩΣ ΦΟΡΕΑ ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΩΝ

Κουμπενά Β.Ε.¹, Χαραλαμπίδης Κ.², Παππά Κ.Μ.¹

¹Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιούπολη
15701, Αθήνα, E-mail: valentinagael@gmail.com ; kmppapas@biol.uoa.gr

²Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιούπολη 15701, Αθήνα,
E-mail: kharalamp@biol.uoa.gr

Ο μετασχηματισμός δικότυλων φυτών διεκπεραιώνεται ευρέως με χρήση του *Agrobacterium tumefaciens*, το οποίο μεταφέρει φυσικά ή τεχνητά τμήματα DNA (T-DNA) στο φυτικό πυρήνα. Στην παρούσα εργασία ο μετασχηματισμός του *Arabidopsis thaliana* (Columbia 1) επιτεύχθηκε με χρήση στελέχους *E. coli*, αντί του *A. tumefaciens*, ως φορέα μεταφερόμενων γονιδίων (διαγονιδίων). Το στέλεχος *E. coli* είναι παράγωγο του DH5α και έχει κατασκευαστεί έτσι ώστε να φέρει συζευκτικό σύστημα *traN*-τύπου και δυαδικό πλασμιδιακό φορέα, που παρακινείται από το *traN* σύστημα και διαθέτει ως T-DNA εδραζόμενο διαγονίδιο, δείκτη ανθεκτικότητας σε καναμυκίνη (*nrpII*). Η επιμόλυνση του *A. thaliana* επιτεύχθηκε με εμφύσηση ανθικών μεριστωμάτων (floral dip) φυτών κατάλληλης ανάπτυξης, σε μείγματα βακτηριακών εναιωρημάτων του παραπάνω *E. coli* δότη και διαφορετικών αφοπλισμένων στελεχών *A. tumefaciens* (T-DNA⁻, *vir*⁺). Τα τελευταία συμμετείχαν στη διαδικασία επιμόλυνσης ως *in situ* συζευκτικοί δέκτες του δυαδικού φορέα από τους *E. coli* δότες και συγχρόνως ως διακομιστές του *nrpII* δείκτη στο φυτό. Αποδοτικότερο στέλεχος για μετασχηματισμό του *A. thaliana* καθώς και άριστος δέκτης του δυαδικού φορέα σε βακτηριακές συζεύξεις αποδείχτηκε το *A. tumefaciens* GV3101. Σε επανειλημμένες δοκιμασίες επιμόλυνσης του *A. thaliana* σημειώθηκαν χαμηλές συχνότητες μετασχηματισμού για τον *nrpII* δείκτη (0.004%), που ωστόσο βελτιώθηκαν κατά μία τουλάχιστον τάξη μεγέθους όταν τα βακτήρια αφέθηκαν να συζευχθούν πριν από την εμφύσηση. Μεγιστοποίηση των συχνοτήτων μεταφοράς του δυαδικού φορέα ανάμεσα στα βακτήρια, και άρα αύξηση της απόδοσης του μετασχηματισμού, μπορεί περαιτέρω να επιτευχθεί μέσω τροποποιήσεων σε συζευκτικούς παραμέτρους όπως διάρκεια, θρεπτικό μέσο και θερμοκρασία συνεύρεσης των κυττάρων. Η δυνατότητα του *E. coli* να συμμετέχει σε *in planta* μετασχηματισμό φυτών ανακοινώνεται για πρώτη φορά και κρίνεται ιδιαίτερα χρήσιμη στη διαγονιδιακή τεχνολογία καθώς καταργεί την ανάγκη κατασκευής αγροβακτηριακών στελεχών και εξασφαλίζει την καλή διατήρηση μεγαλομοριακών τμημάτων DNA, κατά τη μεταφορά τους στο φυτό.

***Arabidopsis thaliana* TRANSFORMATION BY USE OF AN *Escherichia coli* TRANSGENE DONOR**

Koumpena V.E.¹, Haralampidis K.², Pappas K.M.¹

¹Department of Genetics and Biotechnology, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 15701, Greece, E-mail: valentinagael@gmail.com ; kmpappas@biol.uoa.gr

²Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 15701, Greece, E-mail: kharalamp@biol.uoa.gr

Agrobacterium tumefaciens is well known for its ability to mediate in dicot plant transformation via transferring DNA (the so-called T-DNA) to the host plant cell and its nucleus. In the present work, *Arabidopsis thaliana* (Columbia 1) was successfully transformed using *E. coli*, instead of *A. tumefaciens*, as a transgene donor. The *E. coli* donor was a strain DH5 α derivative, which bore the *traN* conjugal transfer system as well as a binary vector, mobilizable by the *traN* system and carrying a kanamycin resistance marker, *nptII*, as the T-DNA harbored transgene. *A. thaliana* transformation was conducted by floral dipping of suitably grown plants in bacterial suspension mixtures of the aforementioned *E. coli* transgene donor and any of two different disarmed (T-DNA⁻, *vir*⁺) *A. tumefaciens* strains. The latter acted as *in situ* conjugal recipients of the binary vector from the *E. coli* donors and as concurrent mediators of *nptII* transfer to the plant. Amongst *A. tumefaciens* strains tested, GV3101 proved optimal for *A. thaliana* transformation as well as an excellent recipient of the binary vector in matings with the *E. coli* donors. Overall transformation of *A. thaliana* for the *nptII* marker by the bacterial co-infection technique described, was relatively low (0.004%), however it improved markedly upon bacterial pre-mating prior to infection. Frequencies of *E. coli* - *A. tumefaciens* conjugal matings, directly affecting the subsequent transformation success, are amenable to enhancement via modifications in temperature, donor-recipient ratio, as well as medium and duration of incubation. This is the first report implicating *E. coli* in plant transgenic technology as an *in planta* transformation vector and its importance derives from the fact that it simplifies strain construction procedures and provides for better maintenance of large and unstable DNA fragments in the course of their transfer to the plant.

**ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΣΕ ΣΧΟΛΕΙΑ ΚΑΙ
ΚΑΤΟΙΚΙΕΣ ΠΛΗΣΙΟΝ ΣΤΑΘΜΩΝ ΒΑΣΗΣ ΚΙΝΗΤΗΣ ΤΗΛΕΦΩΝΙΑΣ –
ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ**

**Κούμπου Α., Αργύρη Ε., Κατσαρού Α., Κέφαλος Π., Κοκκαλιάρης Κ.,
Κοντογιάννη Γ., Κορρέ Π., Κοτσιλά Π., Κουρουζίδου Α., Σαββάκη Μ.,
Σταυροπούλου Ε., Συκιώτη Β., Σχίζα Δ., Φραγκοπούλου Α., Χαβδούλα Ε.,
Παναγόπουλος Δ. και Λ.Χ. Μαργαρίτης**

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα 15784*

Η εμφάνιση του κινητού τηλεφώνου το 1970 ακολουθείται από εκρηκτική εξάπλωση ανά τον κόσμο ώστε σήμερα να αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι της καθημερινότητας. Για να υποστηριχθεί τέτοιο ευρύ δίκτυο επικοινωνίας είναι απαραίτητη η ύπαρξη κεραιών-σταθμών βάσης προκαλώντας την ανησυχία των κατοίκων που διαμένουν πλησίον τέτοιων πηγών ακτινοβολίας. Το 1998 θεσπίστηκαν “αποδεκτά” όρια έκθεσης σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία από τη Διεθνή Επιτροπή Προστασίας από τη Μη Ιονίζουσα ακτινοβολία (ICNIRP), τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO) και την Διεθνή Επιτροπή Προστασίας από την Ακτινοβολία. Πρέπει όμως να τονιστεί, ότι διάφορες χώρες υιοθέτησαν διαφορετικά “όρια ασφαλείας”. Η ερευνητική μας ομάδα πραγματοποίησε μετρήσεις έντασης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας με εξειδικευμένα πεδιόμετρα σε κατοικίες και σχολεία κοντά σε σταθμούς βάσης στο λεκανοπέδιο Αττικής, αλλά και αλλού, π.χ. Λάρισα. Η ερευνητική μας ομάδα έχει πραγματοποιήσει επι σειράν ετών εκατοντάδες μετρήσεις σε οικίες και σε σχολεία που ευρίσκονται κοντά σε κεραιές βάσης. Ανάλογα με την απόσταση από την κεραιά βάσης και τον προσανατολισμό του «λοβού εκπομπής» παρατηρήθηκαν τιμές ακτινοβολίας μέχρι και 6,5V/m εντός οικιών και μέχρι 3,5V/m σε σχολεία. Οι τιμές αυτές βρίσκονται εντός των θεσπισμένων από το ελληνικό κράτος «ορίων αποδεκτής έκθεσης», όμως υπερβαίνουν τα όρια άλλων χωρών (π.χ. Αυστρία, 0,2 V/m). Επιδημιολογικές έρευνες σε άτομα που διαμένουν κοντά σε σταθμούς βάσης έδειξαν συμπτώματα όπως διαταραχή μνήμης, συγκέντρωσης, ύπνου, εξάντληση, πονοκεφάλους κ.λπ.. Με τα δεδομένα αυτά αλλά και τα πειράματα της ερευνητικής μας ομάδας, θεωρούμε τέτοια επίπεδα ακτινοβολίας μακροπρόθεσμα επικίνδυνα για άτομα που ακτινοβολούνται πολλές ώρες την μέρα και ιδιαίτερα τα παιδιά.

*Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του
Πανεπιστημίου Αθηνών προς τον καθηγητή Λ.Χ. Μαργαρίτη.*

ELECTROMAGNETIC RADIATION MEASUREMENTS IN SCHOOLS AND HOUSES NEAR MOBILE PHONE BASE STATIONS – HEALTH RISK ESTIMATION

Koumpou A., Argyri E., Katsarou A., Kefalos P., Kokkaliaris K., Kontogianni G., Korre P., Kotsila P., Kourouzidou A., Savvaki M., Stavropoulou E., Sykioti V., Schiza D., Fragopoulou A., Chavdoula E., Panagopoulos D., Margaritis L. H.

Faculty of Biology, Department of Cell Biology and Biophysics, University of Athens, Panepistimiopolis, 15784 Zografou, Athens.

The appearance of the mobile phone in 1970 was followed by an explosive spread to all over the world so that today it constitutes an integral part of our modern style of living. In order to be supported such a wide network of communication the existence of mobile telephone base stations is necessary. Thus, the artificial electromagnetic fields came into our lives raising the interest of the scientific community for their biological effects and causing inquietude to people that live near the source of such radiation. In 1998 “acceptable” limits of exposure in electromagnetic fields were proposed by the International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP), the World Health Organization (WHO) and the International Radiation Protection Association (IRPA). However, it must be noticed, that different countries have adopted different “safety limits”. Our research team has conducted hundreds of measurements of electromagnetic radiation with specialized field meters in houses and schools near base stations inside the country of Attica and out of it as well, e.g. in the city of Larisa. In accordance to the distance from the base stations and the orientation of its “transmission lobe(s)” the values of electromagnetic radiation were reaching up to 6,5 V/m inside some houses and up to 3,5 V/m in some classrooms. These values fall within the so-called “acceptable exposure limits” that Greece has enacted, but they are over the limits that other countries have enacted (i.e. Austria, 0,2 V/m). Epidemiological studies in people living near base stations have shown symptoms such as memory loss, concentration, and sleep disturbance, fatigue and headaches. Based on that, we consider that these levels of radiation can be in the long run dangerous for people that receive that kind of radiation for many hours every day and especially for the children.

This work has been supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to Professor L.H. Margaritis.

**ΣΥΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΑΚΤΙΝΟ-
ΒΟΛΙΑΣ ΚΙΝΗΤΗΣ ΤΗΛΕΦΩΝΙΑΣ GSM 900 MHz ΑΠΟ BLUE TOOTH ΚΑΙ
ΚΙΝΗΤΟ ΤΗΛΕΦΩΝΟ ΣΤΗΝ ΩΟΓΕΝΕΣΗ ΤΟΥ ΔΙΠΤΕΡΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ
*DROSOPHILA MELANOGASTER***

Κουρουζίδου Α., Κοντογιάννη Γ., Χαβδούλα Ε., και Μαργαρίτης Α.Χ.

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα 15784*

Εισαγωγή: Η τεχνολογία Bluetooth αποτελεί σχετικά σύγχρονη εξέλιξη στο χώρο των ασύρματων επικοινωνιών και συνήθως χρησιμοποιείται για μικρής εμβέλειας συνδέσεις. Μία από αυτές είναι η σύνδεση κινητού τηλεφώνου με ακουστικό Bluetooth, έτσι ώστε ο χρήστης να μην έχει το κινητό στο αυτί του. Αν και αρχικά ο στόχος της χρήσης του τρόπου αυτού συνομιλίας δεν ήταν η μείωση της επικινδυνότητας της ακτινοβολίας που εισέρχεται στον εγκέφαλο, εν τούτοις επειδή η ισχύς του Bluetooth είναι περίπου 1 χιλιοστοβάττ σε σχέση με εκείνη του κινητού (περίπου 250-500 χιλιοστοβάττ), θεωρείται ως ασφαλής τρόπος κατά τη συνομιλία με κινητό τηλέφωνο.

Στόχος και μεθοδολογία: Ο στόχος της έρευνας αυτής είναι να εξακριβωθεί σε πειραματόζωα κατά πόσον η ακτινοβολία από συμβατικό Bluetooth επηρεάζει την ωογένεση στη *Drosophila melanogaster*. Για την προσέγγιση του στόχου αυτού σχεδιάστηκαν πειράματα ακτινοβολίας εντόμων σε επαφή με το Bluetooth, αλλά αρκετά μακριά από το κινητό τηλέφωνο.

Αποτελέσματα και συμπεράσματα: Η ανίχνευση των επιπτώσεων της ακτινοβολίας έγινε με δύο τρόπους, α) με μέτρηση των χρυσαλίδων και κατά συνέπεια της αναπαραγωγικής ικανότητας των εντόμων και β) με έλεγχο αποπτωτικών ωοθυλακίων στις ωοθήκες τους. Διαπιστώθηκε, α) μείωση της αναπαραγωγής κατά 40% στα άτομα εκτεθειμένα σε Bluetooth και μείωση 20% στα εκτεθειμένα σε κινητό σε σχέση με τα άτομα μάρτυρες, β) μικρή αύξηση αποπτωτικών ωοθυλακίων.

Κατά συνέπεια, θα μπορούσε να θεωρηθεί ότι δεν είναι απόλυτα ασφαλής η χρήση Bluetooth όταν αυτό βρίσκεται στο αυτί και για τους λόγους αυτούς προτείνεται ως περισσότερο ασφαλές το Bluetooth με καλώδιο, στο οποίο οι μετρήσεις δείχνουν σχεδόν μηδενική ένταση ακτινοβολίας στο ακουστικό, όμως αναμένονται να πραγματοποιηθούν και σχετικά πειράματα.

*Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του
Πανεπιστημίου Αθηνών προς τον καθηγητή Α.Χ. Μαργαρίτη*

**COMPARATIVE STUDY OF THE EFFECTS OF GSM 900 MHz MOBILE
PHONE RADIATION BETWEEN BLUETOOTH AND HANDSET ON
OOGENESIS OF *DROSOPHILA MELANOGASTER***

Kourouzidou A., Kontogianni, G., Chavdoula, E.D., and Margaritis L.H.

*Faculty of Biology, Department of Cell Biology and Biophysics, University of Athens,
Panepistimiopolis, 15784 Zografou, Athens.*

Introduction: The Bluetooth technology is an early development in the field of the wireless communications and is mostly used for small range connections. One of them is between a mobile phone with a Bluetooth headset, so that the user will not have the phone upon his ear. Although the aim originally, was not the reduction of the effect of the radiation that inserts the brain, since Bluetooth's power is about 1 mW compared to that of the mobile phone (approximately 250-500 mW), using Bluetooth is supposed to be a safe way of communication.

Aim and Method: The purpose of the present study is the establishment on experimental animals whether the radiation of the conventional Bluetooth has an impact on the oogenesis of *Drosophila melanogaster*. In order to do that, we designed experiments in which the insects were radiated close to the mobile phone (in various distances) and the Bluetooth as well. The distance between the mobile phone and the Bluetooth device was such, so that there was no interference between them.

Results and conclusion: The radiation's impact was detected using two methods: a) by counting pupae therefore calculating the reproductive capacity of the insects, b) by specific staining revealing apoptotic nuclei. The results were a) reduction of the reproduction by 40% on the insects exposed on the Bluetooth radiation, as opposed to these exposed to the mobile radiation (20% reduction) compared to control, b) slight increase of apoptotic cells during oogenesis.

As a conclusion, according to our results the use of Bluetooth cannot be considered as entirely safe when used on the ear. For that reason, the use of Bluetooth with a cable is suggested, as the measurements show near zero levels of radiation on the earpiece.

This work has been supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to Professor L. H. Margaritis.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΝΕΥΡΟΣΤΕΡΟΕΙΔΩΝ ΣΕ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Κούρτη Μ., Παπαζαφείρη Π.

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας,, Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 01 Ζαγιάφου Αθήνα*

Τα νευροστεροειδή, τα οποία συνθέτονται στο νευρικό σύστημα από τη χοληστερόλη, ασκούν προστατευτική δράση επιδρώντας σε μηχανισμούς κυτταρικής επιβίωσης. Επιπλέον, εμφανίζουν σημαντικές κλινικές ιδιότητες, ενώ ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει και η αντικαρκινική δράση μερικών νευροστεροειδών όπως της δεϋδροεπιανδροστερόνης (DHEA). Λαμβάνοντας υπόψη και το γεγονός ότι το σηματοδοτικό μονοπάτι επιβίωσης PI3K/Akt, καθώς και το μονοπάτι του μεταγραφικού παράγοντα HIF-1 παρουσιάζουν αυξημένη ενεργότητα στα καρκινικά κύτταρα, στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση της αποπτωτικής δράσης του DHEA, σε καρκινικά κύτταρα, καθώς και του ρόλου των δύο σηματοδοτικών μηχανισμών. Έτσι, στη παρούσα μελέτη, χρησιμοποιήθηκαν ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα μαστού, (MCF7), ορθού, (HT-29), και προστάτη, (PC3). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι και στις τρεις κυτταρικές σειρές το DHEA μειώνει τη βιωσιμότητα των κυττάρων όταν χρησιμοποιείται σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις (100- 400μM), χωρίς, όμως, να προκαλεί σημαντικές βλάβες στο γενετικό υλικό. Στα κύτταρα PC3, η επίδραση του DHEA στις ίδιες συνθήκες δε προκάλεσε σημαντική αλλαγή στα επίπεδα της Akt ή του HIF-1. Αντίθετα, στα κύτταρα MCF7 και HT-29 η DHEA επάγει σημαντική ενεργοποίηση της Akt χωρίς αυτή να συνοδεύεται από σημαντικές αλλαγές στα επίπεδα του HIF-1α. Συμπερασματικά, στα κύτταρα που χρησιμοποιήθηκαν, η δράση των νευροστεροειδών φαίνεται να συνδέεται με τον κυτταρικό κύκλο ενώ, τα υψηλά πρωτεϊνικά επίπεδα της p-Akt οφείλονται σε αυξημένη ευαισθησία των κυττάρων αυτών σε αυξητικούς παράγοντες. Τέλος, δε φαίνεται να υπάρχει σύνδεση των μονοπατιών της PI3K/Akt και του HIF-1α σε συνθήκες αναστολής του κυτταρικού πολλαπλασιασμού.

MECHANISM OF NEUROSTEROIDS ACTION IN CANCER CELLS

Kourti M., Papazafiri P.

Department of Animal and Human Physiology, School of Biology, Faculty of Sciences, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis 157 01 Athens Greece

Neurosteroids that are synthesized in the nervous system from cholesterol, can protect neuronal cells from various insults, affecting cellular survival pathways. Furthermore, neurosteroids have important clinical applications and the anticancer action for some of them, such as dehydroepiandrosterone (DHEA), is recognized. Taking into account the fact that PI3K/ Akt signaling pathway as well as HIF-1 pathway show increased activation in cancer cells, we investigated the apoptotic action of DHEA in various cancer cell lines, as well as the role of the two signalling pathways. We present the effects of DHEA on human breast cancer cell line, (MCF7), human colonic adenocarcinoma cell line, (HT-29) and prostate cancer cell line, (PC3). Our results showed that in these cell lines, treatment with high concentrations of DHEA, (100-400 μ M), induced a decrease of cell population but it did not cause significant damage at the genetic material. In PC3 cells, Akt protein levels or HIF-1a levels did not alter significantly in the presence of DHEA. On the contrary, in MCF7 and HT-29 cells, DHEA caused an important activation of Akt protein but this was not accompanied by considerable changes in HIF-1a levels. In conclusion, it seems that the action of neurosteroids is connected with the cell cycle, while the increased p-Akt protein levels are due to high sensitivity, of the cell lines used, to growth factors. Finally, it seems that there is no crosstalk between PI3K/ Akt and HIF-1a pathways in conditions where cell proliferation is inhibited.

**ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ ΤΗΣ ΦΥΤΟΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΥΜΗΤΤΟΥ –
ΤΡΑΠΕΖΑ ΣΠΕΡΜΑΤΩΝ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΕΚΠΑ**

Κουτσοβούλου Κ., Καλτσής Α., Θάνος, Κ.Α.

*Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 84
Αθήνα. E-mail: kkoutsou@biol.uoa.gr apkaltsis@biol.uoa.gr cthanos@biol.uoa.gr*

Σύμφωνα με διάφορες έρευνες, μελέτες και προγενέστερα προγράμματα (όπως έχουν καταχωρηθεί στην ηλεκτρονική Βάση Δεδομένων ΧΛΩΡΙΣ), ο Υμηττός (Περιοχή ΦΥΣΗ 2000, GR3000006) φιλοξενεί μία ιδιαίτερα πλούσια χλωρίδα. Το σύνολο των σημαντικών φυτών της περιοχής ανέρχεται σε 54 (εκ των οποίων 40 ενδημικά της Ελλάδας, 11 φυτικά taxa που προστατεύονται από το Προεδρικό Διάταγμα 67/81 και 13 απειλούμενα ή/και προστατευόμενα, μη ενδημικά). Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας εντοπίστηκαν και χαρτογραφήθηκαν (καταγραφή των γεωγραφικών συντεταγμένων και του υψομέτρου) οι πληθυσμοί για 30 (από τα 54) taxa. Μετά την σήμανση των πληθυσμών (και ατόμων σε ανθοφορία) ακολούθησε η συλλογή και μελέτη των σπερμάτων (βιομετρικά χαρακτηριστικά σπερμάτων/καρπών, φυτρωτική συμπεριφορά) από 11 taxa. Παράλληλα έγινε αποθήκευση σπερμάτων στην Τράπεζα Γενετικού Υλικού του Πανεπιστημίου Αθηνών (Τομέας Βοτανικής) κάτω από κατάλληλες συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας (-18 °C, 5-10% περιεχόμενη υγρασία σπέρματος). Σύμφωνα με τη Παγκόσμια Στρατηγική για τη Διατήρηση της Φύσης, έως το 2010 πρέπει το 60% των απειλούμενων φυτικών ειδών να ενταχθούν σε προσβάσιμες εκτός τόπου (*ex situ*) συλλογές (Βοτανικοί Κήποι, Τράπεζες Σπερμάτων, συλλογές ιστοκαλλιιεργειών), κατά προτίμηση στη χώρα προέλευσης ενώ τουλάχιστον 10% από αυτά να περιλαμβάνονται σε προγράμματα διάσωσης και αποκατάστασης. Οι Τράπεζες Σπερμάτων (περισσότερες από 1300 σε όλο τον κόσμο με πάνω από 6.000.000 συλλογές) αποτελούν το αποτελεσματικότερο εργαλείο για την υλοποίηση του ανωτέρου στόχου. Τα 'ορθόδοξα' σπέρματα (ανθεκτικά στην αφυδάτωση) αποτελούν την κύρια ομάδα ως προς την ικανότητα αποθήκευσης και μπορούν να διατηρήσουν τη βιωσιμότητά τους για πολλές δεκαετίες. Τα σπέρματα που διατηρούνται στις Τράπεζες Γενετικού Υλικού αποτελούν εγγύηση ενάντια στην εξαφάνιση φυτικών ειδών στη φύση και χρησιμεύουν (μεταξύ άλλων) ως υλικό για έργα επανεισαγωγής και αποκατάστασης.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτείται από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του ΕΚΠΑ (Πρόγραμμα ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΣ, Επιστ. Υπεύθ. Αν. Καθ. Κ.Α. Θάνος).

**PLANT DIVERSITY CONSERVATION OF MT. HYMETTUS –
SEED BANK UNKA**

Koutsovoulou k., Kaltsis A., Thanos C.A.

*Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis 157 84 Athens.
E-mail: kkoutsov@biol.uoa.gr, apkaltsis@biol.uoa.gr, cthanos@biol.uoa.gr*

According to various studies, research and previous projects (as registered in the electronic Database CHLORIS), Mt Hymettus (NATURA 2000 site, GR3000006) hosts a particularly rich flora. The total number of important plant species of the site is 54 (of which 40 Greek endemics, 11 plant taxa protected from the Presidential Decree 67/81 and 13 threatened and/or protected, not endemic). In the framework of the present study the populations of 30 (out of 54) taxa were located and mapped (recording of geographical coordinates and altitude). The populations (and flowering plants) were marked and in a later phase seeds were collected and studied (biometric characteristics of seeds/fruits, germination behavior) for 11 taxa. In parallel, seeds were stored in the Seed Bank of the University of Athens (Department of Botany) under suitable conditions of temperature and moisture (-18 °C, 5-10% seed moisture content). According to the Global Strategy for Plant Conservation, until 2010 60% of the threatened plant species ought to be integrated in accessible *ex situ* collections (Botanical Gardens, Seed Banks, plant tissue culture collections), preferably in the country of origin while at least 10% has to be included in conservation and restoration projects. The Seed Banks (more than 1300 worldwide with over 6.000.000 collections/accessions) constitute the most effective tool in the achievement of the above target. The 'orthodox' seeds (resistant to drying) represent the major group regarding storage ability and can preserve their viability for many decades. The seeds stored in Seed Banks constitute a guarantee against plant species extinction and are used (among others) as material for reintroduction and restoration projects.

This research is funded by the Special Account for Research Grants of UNKA (Project KAPODISTRIAS, Scientific responsible Assoc. Prof. C.A. Thanos).

ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ 1 ΤΗΣ ΜΕΛΑΝΟΚΟΡΤΙΝΗΣ (MC1R) ΚΑΙ ΤΟ ΧΡΩΜΑ ΤΟΥ ΤΡΙΧΩΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΧΟΙΡΩΝ

Κουτσογιαννούλη Ε., Σταμάτης Κ., Μούτου Κ., Σαραφίδου Θ., Μαμούρης Ζ.

Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πλούτωνος 26
και Αιόλου, 41221 Λάρισα, E-Mail: evkouts@gmail.com

Ο υποδοχέας 1 της μελανοκορτίνης παίζει ένα κεντρικό ρόλο στη ρύθμιση της σύνθεσης της ευμελανίνης (μαυρο/καφέ) και της φαιομελανίνης (κόκκινο/κίτρινο) μέσα στα μελανοκύτταρα των θηλαστικών και κωδικοποιείται από τον κλασικό γονιδιακό τόπο για το χρώμα του τριχώματος *Extension* (*E*). Είναι μέλος της οικογένειας των υποδοχέων που συνδέονται με G πρωτεΐνες και η λειτουργία του εντοπίζεται στην επιφάνεια των μελανοκυττάρων. Οι ευρωπαϊκοί αγριόχοιροι πιστεύεται ότι κατέχουν ένα μοναδικό αλληλόμορφο του MC1R το οποίο απαιτείται για την έκφραση του άγριου τύπου χρώματος στο τρίχωμα και αυτός ο υποδοχέας MC1R δε έχει βρεθεί σε καμία από τις εκτρεφόμενες φυλές. Ακόμη, έχουν βρεθεί διάφορα αλληλόμορφα σε χοίρους κάποια από τα οποία έχουν βρεθεί μόνο σε συγκεκριμένες φυλές και έτσι έχουν προταθεί ως δείκτες σε συστήματα ανίχνευσης. Στη συγκεκριμένη μελέτη γίνεται προσπάθεια για την εύρεση υβριδίων μεταξύ αγριόχοιρων με εκτρεφόμενες φυλές. Για το λόγο αυτό αναλύθηκαν 126 δείγματα αγριόχοιρων. Με τη χρήση της μεθόδου RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), βρέθηκαν 6 άτομα που είναι υβρίδια αγριόχοιρων με χοίρους της φυλής Large White. Ακόμη, βρέθηκε μόνο 1 δείγμα από την Πολωνία και 3 εκτρεφόμενοι χοίροι οι οποίοι δεν είναι καθαρόαιμα άτομα της φυλής Large White. Ο δείκτης MC1R μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εύρεση μη καθαρόαιμων αγριόχοιρων και για την εξέταση προϊόντων κρέατος τα οποία πωλούνται με την ένδειξη ότι προέρχονται από Ευρωπαϊκούς αγριόχοιρους.

MUTATIONS OF MELANOCORTIN RECEPTOR 1 (MC1R) AND COAT COLOUR IN PIGS

Koutsogiannouli E., Stamatis C., Moutou K., Sarafidou T., Mamuris Z.

University of Thessaly, Department of Biochemistry and Biotechnology, Ploutonos 26 & Aiolou Street, Larissa, E-mail: evkouts@gmail.com

The melanocortin receptor 1 (*MC1R*, alternatively called extension E) plays an important role in the regulation of eumelanin (black/brown) and phaeomelanin (red/yellow) synthesis in the melanocytes of mammals. It is a cell-surface melanocyte receptor, belonging to the MCR family (melanocortin receptor) of G protein-coupled receptors. So far, a unique *MC1R* allele (E+) has been identified in European wild boar, associated with the wild-type coat colour (variable shades of brown) and this *MC1R* receptor variant was not found in any of the domestic breeds. In addition, a series of alleles have been found in pigs some of which were observed only in particular breeds and so they have been proposed as markers in breed traceability systems. The current study is an effort for the determination of hybrids between wild boars and domestic races of pigs as well as the identification of no purebred races of pigs. For this purpose, 126 wild boars were analyzed, applying RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) method and 6 individuals were identified that are hybrids of wild boars with Large White pigs. In addition, the analysis of livestock pigs has led, so far, to the identification of four individuals that are not purebred Large White pigs. These results show that *MC1R* could be applied as a marker for distinguishing European wild boar from domestic breeds, testing meat products marketed as derived from European wild boar as well as detecting no purebred races of pigs.

**ΜΟΡΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ DRB ΤΟΥ ΜΕΙΖΟΝΟΣ
ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ ΙΣΤΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ (MHC) ΣΤΑ ΕΙΔΗ *Sus scrofa*
scrofa ΚΑΙ *Sus scrofa domestica***

Κουτσογιαννούλη Ε., Σταμάτης Κ., Μούτου Κ., Σαραφίδου Θ., Μαμούρης Ζ.

*Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πλούτωνος 26 και
Αιόλου, 41221 Λάρισα, E-mail: evkouts@gmail.com*

Ο βασικός σκοπός της εξελικτικής βιολογίας είναι η αποσαφήνιση του τρόπου με τον οποίο η φυσική επιλογή προωθεί την προσαρμογή αλληλεπιδρώντας με τη μετανάστευση, τη γενετική παρέκκλιση και τις μεταλλάξεις. Το μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας (MHC) είναι μία πολυγονιδιακή οικογένεια που συνδέει το ανοσοποιητικό σύστημα με τις μολυσματικές ασθένειες. Σε όλα τα σπονδυλωτά που έχουν μελετηθεί μέχρι σήμερα το MHC είναι ο πλέον πολυμορφικός γονιδιακός τόπος. Παρόλο που έχουν προσδιοριστεί πολλά υποψήφια γονίδια κάτω από την επίδραση της ισοζυγούσας επιλογής σε οργανισμούς μοντέλα, το MHC παραμένει ένα δυναμικό μοντέλο για το οποίο υπάρχουν έμμεσες ενδείξεις ότι βρίσκεται κάτω από την επίδραση αυτής της μορφής επιλογής. Η συγκεκριμένη μελέτη αφορά την παροχή δεδομένων για το MHC τάξης II σε αγριόχοιρους (*Sus scrofa scrofa*) και εξημερωμένους χοίρους (*Sus scrofa domestica*). Οι δύο οργανισμοί ανήκουν στο ίδιο είδος αλλά σε διαφορετικά υποείδη και μπορούν να υβριδίζονται. Συγκεκριμένα μελετήθηκε το γονίδιο DRB με τη μέθοδο SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism, ανάλυση πολυμορφισμού διαμόρφωσης μονού κλώνου) σε συνδυασμό με την άμεση αλληλούχιση. Η ανάλυση έγινε σε 116 άτομα *Sus scrofa scrofa*, που προέρχονται από διάφορες περιοχές της Ελλάδας και την Πολωνία (16 άτομα), και σε 49 άτομα *Sus scrofa domestica* που προέρχονται από εκτροφείο της Άρτας. Βρέθηκαν οκτώ αλληλόμορφα για το DRB γονίδιο, δύο εκ των οποίων υπάρχουν μόνο στους ήμερους χοίρους. Η κατασκευή του φυλογενετικού δέντρου επιτρέπει τον προσδιορισμό των εξελικτικών σχέσεων των αλληλομόρφων ενώ ταυτόχρονα υπολογίζονται η αναμενόμενη και παρατηρούμενη ετεροζυγωτία καθώς και η ένδειξη για θετική επιλογή. Τα αποτελέσματα αυτά αναλύονται σε σχέση με το γενετικό υπόβαθρο, με πιθανά φαινόμενα υβριδισμού και με την ιστορία των δύο πληθυσμών.

MOLECULAR ANALYSIS OF DRB GENE OF MAJOR HISTOCOMPATIBILITY COMPLEX (MHC) IN THE SPECIES *Sus scrofa scrofa* AND *Sus scrofa domestica*

Koutsogiannouli E., Stamatis C., Moutou K., Sarafidou T., Mamuris Z.

University of Thessaly, Department of Biochemistry and Biotechnology, Ploutonos 26 & Aiolou Street, Larissa, E-mail: evkouts@gmail.com

The central aim of evolutionary biology is the elucidation of how natural selection promotes local adaptation in interaction with migration, genetic drift and mutation. The major histocompatibility complex (MHC) is a multigene family acting at the interface between the immune system and infectious diseases. In all vertebrates studied to date MHC is the most polymorphic genetic loci. Despite the fact that numerous candidate genes potentially under the influence of balancing selection have been identified in model organisms the MHC remains a potential model for which there are indirect evidences that is under the influence of balancing selection. This study aimed to provide data on the genetic variability of the MHC class II of the wild boar (*Sus scrofa scrofa*) and domesticated pig (*Sus scrofa domestica*). These two organisms belong in the same species but in different subspecies and they can hybridize. Particularly, DRB gene was studied with the method SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) combined with direct sequencing. There were analysed 116 individuals of *Sus scrofa scrofa* (from Greece and Poland) and 49 *Sus scrofa domestica* (from a breeding ground in Arta' s region). Eight alleles for the DRB gene were identified, two of which were detected only in domesticated pigs. The construction of the phylogenetic tree allows the determination of the evolutionary relationships of the alleles while the observed and the expected heterozygosity are determined. These findings are discussed in relation to genetic background, possible hybridization phenomena, and life history of these two populations.

LEISHMANIA MAJOR ΚΑΙ ΔΕΝΔΡΙΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ: ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ TLR3 ΚΑΙ TLR9 ΣΤΗΝ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΤΟΥ ΠΑΡΑΣΙΤΟΥ

Κουτσώνη Ό., Καραγκούνη Ε., Ντότσικα Ε.

Εργαστήριο Κυτταρικής Ανοσολογίας, Τμήμα Μικροβιολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο
Παστέρ, Βασιλίσσης Σοφίας 127, Αθήνα E-mail: e.dotsika@pasteur.gr

Τα δενδριτικά κύτταρα αποτελούν ετερογενή ομάδα κυττάρων και μελετώνται ευρέως ως προς τη χρήση τους στην ενεργή ανοσοθεραπεία έναντι ιικών νοσημάτων και καρκίνου. Τα μυελοειδή (mDCs, CD11c⁺CD8a⁺) και πλασματοκυτταροειδή (pDCs, CD11c⁺B220⁺) δενδριτικά κύτταρα που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη προέκυψαν μετά από *ex vivo* καλλιέργεια κυττάρων μυελού των οστών από BALB/c ποντίκια με τους αιμοποιητικούς παράγοντες GM-CSF και flt3-l, αντίστοιχα. Στόχος της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της ικανότητας των παραπάνω υποπληθυσμών να αποτελούν κύτταρα «στόχους» του παρασίτου καθώς και η *in vitro* μελέτη της δράσης των προμαστιγωτών μορφών *L. major* ή διαλυτών αντιγόνων αυτών (SLA) στην ωρίμανσή τους. Διερευνήθηκε η *in vitro* επίδραση των *L. major* προμαστιγωτών στα mDCs πριν και μετά την ενεργοποίησή τους μέσω του TLR3. Τα mDCs προσλαμβάνουν τις προμαστιγωτές μορφές σε ποσοστό 70%, με μέγιστη φαγοκυττάρωση στις 24h. Η ενεργοποίηση του TLR3 δεν επηρέασε τα ποσοστά φαγοκυττάρωσης. Τα pDCs, τα οποία δεν εκφράζουν τον TLR3, επώαστηκαν με *L. major* προμαστιγωτές για 24h και βρέθηκε ότι δεν προσλαμβάνουν το παράσιτο για αυτό το χρονικό διάστημα. Επιπλέον, mDCs και pDCs επώαστηκαν με *L. major* ή/και SLA και ελέγχθηκαν για την έκφραση συν-διεγερτικών μορίων CD86 και μορίων MHC II. Η επώαση των mDCs και στις δύο περιπτώσεις οδήγησε σε μείωση της έκφρασης του CD86 κατά 50% ενώ δεν παρατηρήθηκαν μεταβολές στα ποσοστά έκφρασης των MHC II. Αντίστοιχα, στα pDCs, τα ποσοστά έκφρασης δεν επηρεάστηκαν σε σχέση με τα κύτταρα-μάρτυρες. Τέλος, η ευαισθητοποίηση των pDCs με το TLR9-προσδέμα (CpG) προκάλεσε αύξηση της έκφρασης των CD86 και MHCII σε ποσοστό 60% ενώ η αντίστοιχη ευαισθητοποίηση των mDCs με το TLR3-προσδέμα (polyI:C) δεν παρουσίασε μεταβολές. Απαιτείται η διερεύνηση της ικανότητας των παραπάνω υποπληθυσμών δενδριτικών κυττάρων να επάγουν προστατευτική απόκριση προκειμένου να χρησιμοποιηθούν ως «οχήματα μεταφοράς» αντιγόνων του παρασίτου για την ανάπτυξη πρότυπου-εμβολίου σε πειραματικά μοντέλα δερματικής λείσμανιάσης.

**LEISHMANIA MAJOR AND DENDRITIC CELLS: ROLE OF TLR3 AND TLR9
IN THE RECOGNITION OF PARASITE**

Koutsoni O.¹, Karagouni E.¹, Dotsika E.¹

¹Laboratory of Cellular Immunology, Department of Microbiology, Hellenic Pasteur Institute, Athens, Vasilissis Sofias 127 avenue E-mail: e.dotsika@pasteur.gr

Dendritic cells are a heterogeneous population of cells and they have been extensively investigated according to their use for active immunotherapy (vaccination) of viral diseases and malignancies. Enriched myeloid (mDCs, CD11c⁺CD8a⁺) and plasmacytoid (pDCs, CD11c⁺B220⁺) dendritic cells which were used in this study, were obtained by *ex vivo* expansion of bone marrow cells, from BALB/c mice, cultured with hematopoietic factors GM-CSF and flt3-ligand, respectively. This study aimed to investigate whether mDCs and pDCs are targets of Leishmania parasites and to shed light on the “*in vitro*” effect of *L. major* promastigotes or soluble leishmania antigen (SLA) in the maturation and differentiation of pDCs comparing to mDCs. We investigated the “*in vitro*” action of *L. major* promastigotes on mDCs before and after cellular activation with Toll-like receptor 3 ligand (polyI:C). Our results showed that 70% of mDCs take up *L. major* promastigotes and the highest parasite load was remarked at 24 hours of incubation. Moreover, the activation of TLR3 didn't change the percentage of dendritic cells which phagocytose the parasite. pDCs, which as it is known don't express TLR3, were incubated with *L. major* promastigotes for 24h and they didn't take up the parasite. Furthermore, mDCs and pDCs were incubated with *L. major* promastigotes and/or SLA and were analyzed for the expression of costimulatory surface molecules CD86 and of MHC class II molecules. The incubation of mDCs had as a result a 50% reduction of the expression of CD86, in both cases but there was no effect on the expression of MHC II. The corresponding incubation of pDCs had no effect on the expression of both molecules according to marker cells. At last, the incubation of pDCs with TLR9-ligand (CpG) caused a 60% increase in the expression of costimulatory molecules but the corresponding incubation of mDCs with TLR3 ligand (polyI:C) had no effect. Further investigation of the ability of these subpopulations to induce a protective immune response is needed in order to use sensitized dendritic cells with various antigenic peptides for the induction of protection in experimental models of murine leishmaniasis.

**ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΚΥΣΤΙΔΙΩΝ ΕΡΥΘΡΩΝ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΩΝ ΠΟΥ
ΣΥΣΣΩΡΕΥΟΝΤΑΙ ΣΤΟΥΣ ΑΣΚΟΥΣ ΜΕΤΑΓΓΙΣΗΣ**

**Κριεμπάρδης Α.^{1,2}, Αντωνέλου Μ.¹, Σταμούλης Κ.³, Οικονόμου-Petersen Ε.²,
Μαργαρίτης Λ.Χ.¹, Παπασιδέρη Ι.¹**

¹Τομέας Βιολογίας Κυττάρων και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Πανεπιστημιούπολη 157 84 Αθήνα. E-mail: ipapasid@biol.uoa.gr

²Εθνικό Κέντρο Αιμοδοσίας, Ολυμπιονίκη Χρ. Μάντικα 7, Αχαρνές, 136 75 Αττική.
E-mail: petersen@otenet.gr

³Κέντρο Αιμοδοσίας, Γενικό Κρατικό Νοσοκομείο Νίκαιας, Δ. Μαντούβαλου 3, 184 54
Νίκαια. E-mail: kostam@ath.forthnet.gr

Προηγούμενες μελέτες μας έδειξαν ότι κατά την αποθήκευση συμπυκνωμένων ερυθροκυττάρων (ΣΕ) που προορίζονται για μετάγγιση αναδιαμορφώνεται η ερυθροκυτταρική μεμβράνη και αυξάνεται η πρωτεϊνική οξείδωση. Μία από τις μεταβολές των ΣΕ κατά την αποθήκευση είναι η κυστιδιοποίηση. Από το πλάσμα των ΣΕ απομονώθηκαν κυστίδια και αναλύθηκαν με τεχνικές ηλεκτρονικής μικροσκοπίας διέλευσης, ανοσοχρυσού και ανοσοαποτυπώματος κατά Western παράλληλα με τα κύτταρα προέλευσης τους. Παρατηρήθηκε ότι κατά την αποθήκευση προάγεται ποσοτικά η κυστιδιοποίηση. Τα μικροκυστίδια περιέχουν ακτίνη, σηματοδοτικά μόρια και ολιγομερή αιμοσφαιρίνης και ζώνης 3, ενώ απουσιάζουν πρωτεΐνες όπως η υδατοπορίνη. Οι πρωτεΐνες τους είναι σε σημαντικό βαθμό οξειδωμένες γεγονός που συσχετίζεται με τη μείωση των αντιοξειδωτικών συστημάτων κατά την αποθήκευση. Τα αποτελέσματα συμφωνούν με προηγούμενες μελέτες μας σχετικά με τις πρωτεϊνικές τροποποιήσεις των ερυθρών κατά την αποθήκευση και υποδεικνύουν την κυστιδιοποίηση ως παράγοντα της αποθηκευτικής βλάβης αλλά και ως παράγοντα επιμήκυνσης του χρόνου επιβίωσης των ερυθρών.

Η μελέτη αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς την Ι. Παπασιδέρη.

Ο Υποψήφιος Διδάκτορας Α. Κριεμπάρδης είναι υπότροφος του Ιδρύματος Κρατικών Υποτροφιών.

**ERYTHROCYTIC VESICLES ACCUMULATED DURING STORAGE OF
PACKED RBC TRANSFUSION UNITS**

**Kriebardis A.^{1,2}, Antonelou M.¹, Stamoulis K.³, Economou-Petersen E.²,
Margaritis L.H.¹, Papassideri I.¹**

¹*Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens,
Panepistimiopolis 157 84, Athens. E-mail: ipapasid@biol.uoa.gr*

²*National Blood Center, Athens, Greece, Olymp. Xr. Mantika 7, Axarnes, 136 75, Attica.
E-mail: petersen@otenet.gr*

³*Blood Transfusion Center, General Hospital of Nikea, D. Mantouvalou 3, 184 54 Nikea, Pireaus.
E-mail: kostam@ath.forthnet.gr*

Our previous studies showed that the membrane of packed RBC (pRBC) undergoes widespread remodelling and protein oxidation over the storage period in units intended for transfusion. RBC vesiculation is a critical step of RBC aging and storage defect. We collected the microvesicles accumulated in the remnant plasma of pRBC units during storage and analyzed them by conventional and immunogold Transmission Electron Microscopy, Western blotting and densitometry in parallel with their cells of origin. We found that the degree of RBC vesiculation is increased during storage. The collected microvesicles contain actin, signalling molecules and band 3/haemoglobin aggregates but are essentially free of proteins like aquaporin. The vesicular proteins are found oxidized, in consistency with the well-established defect in the RBC anti-oxidant systems during storage. These results verify our previous findings regarding the protein modifications of stored RBCs in transfusion units and signify the RBC vesiculation not only as a critical part of the RBC storage lesion but, furthermore, as a possible cell protective mechanism acting against the premature loss of RBC inside the units –and possibly– after transfusion.

*This study was supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to
I. S. Papassideri.*

*PhD student A. Kriebardis, MSc also thanks the “Hellenic State Scholarship Foundation” for the
award of PhD fellowship.*

**ΑΝΤΙΛΕΪΣΜΑΝΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΟΛΕΥΡΩΠΕΪΝΗΣ,
ΥΔΡΟΞΥΤΥΡΟΣΟΛΗΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΞΙΝΟΜΑΥΡΟΥ ΟΙΝΟΥ**

**Κυριαζής Ι.Δ.¹, Καραγκούνη Ε.¹, Σωτηριάδου Κ.², Σκαλτσούνης Λ.³,
Ντότσινα Ε.¹**

¹Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Τομέας Μικροβιολογίας, Εργαστήριο Κυτταρικής
Ανοσολογίας, Λεωφ. Βασ. Σοφίας 127, 11521 Αθήνα. E-mail: g.kyriazis@pasteur.gr

²Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Τομέας Μικροβιολογίας, Εργαστήριο Μοριακής
Παρασιτολογίας, Λεωφ. Βασ. Σοφίας 127, 11521 Αθήνα.

³Πανεπιστήμιο Αθηνών, Φαρμακευτική Σχολή, Εργαστήριο Φαρμακογνωσίας &
Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Πανεπιστημιούπολη Ζωγράφου, 15771 Αθήνα.

Η λεισμανίαση είναι μία παρασιτική νόσος με μεγάλο εύρος κλινικών συμπτωμάτων λόγω του είδους του παρασίτου αλλά και της ανοσολογικής αντίδρασης του ξενιστή. Στην παρούσα μελέτη ερευνήθηκε η αντιλεϊσμαιακή δράση τεσσάρων φυσικών προϊόντων εκ των οποίων τα δύο προέρχονται από το δένδρο *Olea europaea*, κοινώς ελιά, και δύο εκχυλίσματα από τον ξινόμαυρο οίνο. Η ολευρωπεΐνη, η υδροξυτυροσόλη και το κύριο συστατικό του ξινόμαυρου οίνου η ρεσβεροτρόλη, παρουσιάζουν αντιοξειδωτική ικανότητα, μείωση εμφάνισης στεφανιαίας νόσου αλλά και αντικαρκινική, αντιγηραντική και βακτηριοκτόνο δράση. Η αντιλεϊσμανιακή δράση των παραπάνω προϊόντων ελέγχθηκε έναντι τριών στελεχών του γένους *Leishmania*: *L.infantum* MON-1, *L.donovani* MON-2 και *L.major* LV39. Η δράση αυτή εκτιμήθηκε μέσω μίας ποσοτικής χρωματομετρικής μεθόδου (Alamar Blue) σε προμαστιγωτές μορφές παρασίτου στατικής και λογαριθμικής φάσης. Το IC₅₀ ολευρωπεΐνης του παρασίτου MON-2 στη στατική φάση ανέρχεται στα 188μM ενώ το IC₅₀ της υδροξυτυροσόλης έναντι του παρασίτου MON-1, MON-2 και LV39 στατικής φάσης είναι 194, 324 και 324μM αντίστοιχα. Το IC₅₀ της υδροξυτυροσόλης έναντι των παρασίτων MON-1 και MON-2 λογαριθμικής φάσης στην τιμή 499 και 506μM αντίστοιχα. Αντιθέτως τα δύο εκχυλίσματα του ξινόμαυρου οίνου δεν είχαν καμία αντιλεϊσμανιακή δράση έναντι όλων των εξεταζόμενων στελεχών του παρασίτου. Η ολευρωπεΐνη και υδροξυτυροσόλη δείχνουν να έχουν μέτρια αντιλεϊσμανιακή δράση έναντι προμαστιγωτών μορφών και διεξάγονται νέες έρευνες τόσο για την δράση τους έναντι ενδοκυττάρων αμαστιγωτών μορφών όσο και για την επίδρασή τους στο ανοσολογικό σύστημα του ξενιστή.

LEISHMANICIDAL ACTIVITY OF OLEUROPEIN, HYDROXYTYROSOL AND XYNOMAVROS WINE

Kyriazis I.D.¹, Karagouni E.¹, Soteriadou K.², Skaltsounis AL.³, Dotsika E.¹

¹ Hellenic Pasteur Institute, Department of Microbiology, Laboratory of Cellular Immunology, 127 Vas. Sofias Ave, 11521, Athens, Greece. E-mail: g.kyriazis@pasteur.gr

² Hellenic Pasteur Institute, Department of Microbiology, Laboratory of Molecular Parasitology, 127 Vas. Sofias Ave, 11521, Athens, Greece.

³ University of Athens, Department of Pharmacy, Laboratory of Pharmacognosy and Natural Products Chemistry, Panepistimiopolis Zografou, Athens 15771, Greece.

Leishmaniasis is a parasitic disease with wide spectrum of clinical manifestation depending upon the causative species of *Leishmania* and the host immune response. In this study four natural products have been examined for their potential leishmanicidal activity. Two from them derived from the olive tree (*Olea europaea*) and the other two extracts come from xynomavros wine, a variety of red wine in Greece. Oleuropein, hydroxytyrosol and resveratrol, the main chemical ingredient of xynomavros wine, display antioxidant properties, prevention of coronary heart disease and ageing, anticancerous and antibacterial activity. Their antileishmanial efficacy was tested against three different *Leishmania* species: *L.infantum* MON-1, *L.donovani* MON-2 and *L.major* LV39. This efficacy was evaluated using a quantitative colorimetric assay (Alamar Blue) on stationary and logarithmic promastigotes. The *in vitro* 50% inhibitory concentration (IC₅₀) of oleuropein against MON-2 parasites from stationary phase was determined as 188µM, whereas the IC₅₀ of hydroxytyrosol against MON-1, MON-2 and LV39 parasites from stationary phase was determined as 194, 324 and 324µM respectively. The IC₅₀ of hydroxytyrosol against MON-1 and MON-2 logarithmic phase promastigotes was determined as 499µM and 506µM. On the contrary, xynomavros wine extractions had no significant leishmanicidal activity against all parasitic strains. Oleuropein and hydroxytyrosol have a moderate leishmanicidal activity and new investigations take place in order to elucidate their efficacy against intracellular amastigotes in association with their effect on the host immune system.

ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΟΥ *Ato* ΟΠΕΡΟΝΙΟΥ ΣΤΟ ΒΑΚΤΗΡΙΟ ΤΗΣ *E. coli*

Κυριακίδης Δ.Α. *

Εργαστήριο Βιοχημείας, Τμήμα Χημείας ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη και Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών,
Β. Κων/νου 48, Αθήνα, 11635. E-mail: kyl@eie.gr

Ο κύριος τρόπος με τον οποίο επιτυγχάνεται η μεταβίβαση σήματος από το εξωτερικό περιβάλλον στα βακτήρια είναι μέσω των συστημάτων μετάδοσης σήματος δύο συστατικών και φωσφομεταβίβασης, ύστερα από μεταγραφική ενεργοποίηση γονιδίων. Ένα βακτηριακό σύστημα μετάδοσης σήματος που έχει μελετηθεί ευρέως τα τελευταία χρόνια από την ερευνητική μας ομάδα είναι το *AtoS-AtoC* σύστημα που ρυθμίζεται από το *Ato* οπερόνιο. Το γονίδιο *atoC* κωδικοποιεί ένα ρυθμιστή απόκρισης, ο οποίος ενεργοποιεί τη μεταγραφή του οπερόνιου *atoDAEB*, όταν τα κύτταρα αναπτύσσονται σε ακετοξικό οξύ ή σπερμιδίνη. Το γονίδιο το οποίο κωδικοποιεί την αισθητήρια κινάση που ρυθμίζει τη δράση της *AtoC* έχει ταυτοποιηθεί, ονομάζεται *atoS* και έχει χαρακτηριστεί βιοχημικά από την ερευνητική μας ομάδα. Η δέσμευση του σήματος προκαλεί ενεργοποίηση της αυτοκινάσης που έχει ως αποτέλεσμα την υδρόλυση του ATP και τη φωσφορυλίωση μιας ιστιδίνης με μεταφορά της φωσφορικής ομάδας στον ρυθμιστή απόκρισης σε ασπαραγινικό οξύ. Αποτελέσματα που δείχνουν την συμβολή του συστήματος δύο συστατικών και γενικά του *Ato* περονίου σε βιοχημικούς μηχανισμούς, όπως στη βιοσύνθεση μικρής αλυσίδας λιπαρών οξέων, βιοσύνθεση πολυαμινών, χημειόταξη και στο σύστημα μεταφοράς ασβεστίου θα ανακοινωθούν.

* Προσκεκλημένος ομιλητής

REGULATION OF *Ato* OPERON IN THE BACTERIUM OF *E. coli*

Kyriakidis D.A. *

Laboratory of Biochemistry, Department of Chemistry, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, GR-54124 and National Hellenic Research Foundation, 48 Vas. Constantinou Ave, GR-11635, Athens, Greece

Bacteria use networks of two-component systems to respond to multiple environmental signals and inhabit ever-changing environments. This response is usually mediated by transfer of phosphoryl groups and its most common aspect is the activation of transcription of a number of genes specifically associated with the external signals. The recognition of signal and phosphotransfer are attributed to a "sensor" histidine kinase and a response regulator whose phosphorylation state alternates, acting mostly as a transcriptional activator. The sensor kinase is autophosphorylated through ATP hydrolysis on a conserved histidine residue when sensing the appropriate signal and transfer of the phosphoryl group on an aspartate residue of the response regulator follows the physical contact between the two elements. The *AtoC* is long known to positively regulate the expression of genes of the *atoDAEB* operon, encoding enzymes involved in short-chain fatty acid metabolism, upon acetoacetate or spermidine induction. We will present results showing the involvement of *Ato* operon in biochemical pathways such as short fatty acid metabolism, biosynthesis of polyamines, chemotaxis and Ca⁺⁺ transport

* *Invited speaker*

ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΑΞΙΑ ΤΗΣ ΠΡΟΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗΣ ΤΟΥ ΟΡΟΥ ΚΑΙ ΤΩΝ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΤΙΚΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ ΣΤΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΟΞΕΙΑΣ ΠΥΕΛΟΝΕΦΡΙΤΙΔΑΣ

Κυριατζής Γ.¹, Κοτούλα Α.², Παρμενοπούλου Β.³, Τσαλκίδης Α.⁴, Καραθάνας Ε.⁵, Ζησιμόπουλος Α.⁶

¹Τμήμα Μοριακής Βιολογίας & Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Δήμητρας 19, 681 00 Αλεξανδρούπολη, E-Mail: kyriazis2007@yahoo.gr ^{2,4} Πανεπιστημιακή Παιδιατρική Κλινική, ΠΓΝΑ, Δραγάνα, 681 00 Αλεξανδρούπολη. ³Τμήμα Μοριακής Βιολογίας & Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης. ^{5,6}Τμήμα Πυρηνικής Ιατρικής, ΠΓΝΑ, Ιατρική Σχολή, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Δραγάνα, 681 00 Αλεξανδρούπολη

Η σύγκριση της διαγνωστικής αξίας της προκαλσιτονίνης έναντι της CRP πρωτεΐνης στον ορό του αίματος σε παιδιά πάσχοντα από οξεία πυελονεφρίτιδα, όπως φάνηκε στη διάγνωση με το σπινθηρογράφημα στη φλοιώδη μοίρα των νεφρών με ^{99m}Tc-DMSA στα παιδιά. Μελετήσαμε 32 παιδιά ηλικίας 2 μηνών έως 12 ετών, 20 κορίτσια και 12 αγόρια (μέση ηλικία οι 26.5 μήνες) με διαγνωσμένη φλεγμονή της ουρογεννητικής οδού, μεταξύ των μηνών Ιανουαρίου και Μαΐου του 2007. Κατά την εισαγωγή και πριν τη χορήγηση αντιβακτηριακής θεραπείας όλοι οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε εργαστηριακές μελέτες του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων, σε ποσοτική και διαφορική μέτρηση της CRP πρωτεΐνης και του αριθμού καθίζησης των ερυθρών αιμοσφαιρίων καθώς και προσδιορισμό των επιπέδων προκαλσιτονίνης του ορού (ημιποσοτικοποιημένη μέθοδος με kits της εταιρείας BRAHMS Germany). Για την προκαλσιτονίνη τιμές ≥ 0.5 $\mu\text{g/l}$ θεωρήθηκαν μη φυσιολογικές. Από τους ασθενείς στους οποίους διαγνώστηκε βακτηριακή μόλυνση έπειτα από θετικό αποτέλεσμα στην καλλιέργεια ούρων, λήφθηκε στις πρώτες 24 ώρες από την εισαγωγή υπερηχογράφημα των νεφρών, ενώ πραγματοποιήθηκε σπινθηρογράφημα της φλοιώδους μοίρας με DMSA κατά τις πρώτες 5 ημέρες. Στο 63% των παιδιών με βλάβες στους νεφρούς βρέθηκε αυξημένη η τιμή της προκαλσιτονίνης του ορού κατά το σπινθηρογράφημα των νεφρών (Group 1), ενώ οι τιμές της CRP πρωτεΐνης ήταν αυξημένες σε μικρότερο ποσοστό (42%), συγκριτικά με αυτές της προκαλσιτονίνης. Στο 37% των παιδιών το σπινθηρογράφημα βρέθηκε φυσιολογικό γι' αυτό και διαγνώστηκε μικρότερη βακτηριακή λοίμωξη (Group 2). Σύγκριση μεταξύ των Groups 1 και 2 έδειξε πως το μεγαλύτερο ποσοστό των κοριτσιών με λοίμωξη εμφανίζει βλάβες στους νεφρούς (70% στο Group 1). Δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στη μέση ηλικία μεταξύ των 2 Groups (24.4 vs 29.3 μήνες, αντίστοιχα). Η προκαλσιτονίνη του ορού απεδείχθη ένας ευαίσθητος και ειδικός δείκτης της φλεγμονής για την πρόωπη διάγνωση δυσλειτουργίας των νεφρών όταν συγκρίθηκε με την πρωτεΐνη CRP, τον αριθμό καθίζησης των ερυθρών και τον αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων, που έχουν μικρή ειδικότητα. Επιπλέον, το σπινθηρογράφημα με DMSA είναι το gold standard στη διάγνωση της οξείας πυελονεφρίτιδας των νεφρών και υπερτερεί σαφώς έναντι του κλασικού υπερηχογραφήματος.

DIAGNOSTIC VALUE OF SERUM PROCALSITONIN AND IMAGING TECHNIQUES IN ACUTE PYELONEPHRITIS DIAGNOSIS

**Kyriatzis G.¹, Kotoula A.², Parmenopoulou V.³, Tsalkidis A.⁴, Karathanos E.⁵,
Zissimopoulos A.⁶**

¹ Dept of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace, Dimitras 19, GR-681 00 Alexandroupolis, e-mail: kyriatzis2007@yahoo.gr ^{2,4} Paediatric Clinic, University General Hospital, Dragana GR-681 00 Alexandroupolis ³ Dept of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace, ^{5,6} Dept of Nuclear Medicine, General Hospital of Alexandroupolis, Medical School, Democritus University of Thrace, Dragana GR-681 00 Alexandroupolis

Comparison of the diagnostic value of serum procalsitonin in contrast with CRP serum protein in kids with pyelonephritis, as indicated in the renal cortical pars ^{99m}Tc-DMSA scintigraphy. Thirty two children, aged from 2 months to 12 years between January and May 2007 (mean age 26.5 months), were diagnosed in the general Hospital of Alexandroupolis with inflammation of the urinogenital pathway. Before the administration of antibacterial therapy, all patients underwent clinical tests to define the levels of leucocytes and the sedimentation number of erythrocytes. The levels of serum procalsitonin were also defined and a quantitative and differential measurement of CRP protein was performed (semi-quantitative method using BRAHMS Germany kits). Procalcitonin measurements $\geq 0.5 \mu\text{g/l}$ were estimated as abnormal. Patients presented with bacterial infection in the urine culture underwent an ultrasonography within twenty-four hours, whereas a renal cortical pars scintigraphy took place after five days. Levels of serum procalsitonin were statistically significantly higher in 63% of the children with renal damage after the scintigraphy (Group 1) whereas CRP protein levels were higher (42%) compared to those of procalsitonin. Thirty seven per cent of the patients (37%) presented with a normal scintigraphy which explains the lower infection (Group 2). Comparison of Groups 1 and 2 revealed that the majority of the infected girls suffered from renal damage (70% of Group 1). No statistically significant correlation was observed in the mean age between the 2 Groups (24.4 vs 29.3 months respectively). Serum procalsitonin is a very sensitive and specific marker of inflammation for the early diagnosis of renal dysfunction. CRP protein as well as the sedimentation number of erythrocytes and leucocytes are of lower specificity. The DMSA-scintigraphy is the gold standard for acute pyelonephritis diagnosis as it is superior than the classical ultrasonography.

**ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΕ ΜΥΔΙΑ, ΚΥΔΩΝΙΑ ΚΑΙ ΣΤΡΕΙΔΙΑ
ΣΥΝΤΗΡΗΜΕΝΑ ΣΕ ΠΑΓΟ**

Κυρμανίδου Α., Σιδεράς Γ., Ευστρατίου Μ.Α.

Τμήμα Επιστημών της Θάλασσας, Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Λόφος Πανεπιστημίου,
Μυτιλήνη 811 00. E-mail: efstratiou@aegean.gr

Η αλλοίωση των φρέσκων και συντηρημένων ψαριών και θαλασσινών προϊόντων προέρχεται κυρίως από τη δράση συγκεκριμένων ομάδων της μικροβιακής κοινότητας (Specific Spoilage Organisms: S.S.Os.). Η μέτρηση των αλλοιογόνων μικροοργανισμών καθώς και η εκτίμηση του συνολικού μικροβιακού πληθυσμού, χρησιμοποιούνται σαν δείκτες προσδιορισμού της ποιότητας και της αποδοχής του προς κατανάλωση αλιεύματος. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν οι μικροβιακές αλλαγές που υπέστησαν μύδια (*Modiolus barbatus*), κυδώνια (*Venus verrucosa*) και στρείδια (*Ostrea edulis*) προερχόμενα από τον κόλπο Καλλονής, Λέσβου που είχαν συντηρηθεί σε πάγο. Εξετάστηκε η ανάπτυξη της *Shewanella putrefaciens*, εντεροβακτηρίων (*Enterobacteriaceae*), γαλακτοβακτηρίων (lactic acid bacteria), *Brochothrix thermoshpacta*, ψευδομονάδων (*Pseudomonas* spp.) και η ολική μικροβιακή χλωρίδα (total viable count), σε διάστημα 19 ημερών για τα δείγματα των μυδιών και 15 ημερών για τα δείγματα των στρειδιών και των κυδωνιών, καθώς και η μεταβολή του pH των οστράκων. Παρατηρήθηκε ότι τα γαλακτοβακτήρια, οι ψευδομονάδες και η ολική μικροβιακή χλωρίδα κυριάρχησαν στην αλλοίωση και των 3 οστράκων. Κατά το διάστημα που τα όστρακα ήταν ζωντανά η ολική μικροβιακή χλωρίδα ανήλθε σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 10^7 CFU/gr σάρκας στα μύδια. Στα δείγματα των κυδωνιών η ολική μικροβιακή χλωρίδα, έφτασε τις 1.7×10^9 CFU/gr σάρκας και στα δείγματα των στρειδιών τις 7.7×10^8 CFU/gr σάρκας. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του pH των οστράκων και της ανάπτυξης των αλλοιογόνων μικροοργανισμών κατά την διάρκεια του πειράματος.

MICROBIAL CHANGES IN MUSSELS, COCKLES AND OYSTERS STORED IN ICE

Kurmanidou A., Sideras G., Efstratiou M. A.

*Department of Marine Sciences, University of the Aegean, University Hill, Mytilene
811 00. E-mail: efstratiou@aegean.gr*

The activity of specific members of the microbial community (specific spoilage organisms: SSOs) is the main cause of spoilage in fresh and preserved fish and marine products. Isolation of spoilage microorganisms and estimation of the Total Viable Count are used as quality and acceptability indicators of seafood products in the seafood industry. In this project we conducted a study of the microbial changes in mussels (*Modiolus barbatus*), cockles (*Venus verrucosa*) and oysters (*Ostrea edulis*) collected from the gulf of Kalloni, in the island of Lesbos, Greece. The shells were stored in ice. The spoilage bacteria tested were *Shewanella putrefaciens*, enterobacteriaceae, lactic acid bacteria, *Brochothrix thermosphacta*, *Pseudomonas* spp. and Total Viable Count. The shells were checked while alive, and this lasted for a period of 19 days for mussels and 15 days for cockles and oysters. Changes in the pH of the flesh were noted. Lactic acid bacteria, *Pseudomonas* spp. and Total Viable Count bacteria predominated in the spoilage of all three types of bivalves. At the end of the period the shells were alive, Total Viable Count bacteria exceeded the value of 10^7 colony forming units (cfu)/g in mussels. It reached 1.7×10^9 cfu/g in cockles and 7.7×10^8 cfu/g in oysters. No significant correlation was observed between growth numbers of the spoilage microorganisms and pH values of the bivalves.

**ΤΟ ΑΣΚΙΔΙΟ *MICROCOSMUS SABATIERI* ROULE, 1885
ΚΑΙ Η ΕΠΙΒΙΩΤΙΚΗ ΚΟΙΝΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΣΠΟΓΓΩΝ**

Κυροδήμου Μ.¹, Βουλτσιάδου Ε.¹, Βαφείδης Δ.²

¹ Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124
Θεσσαλονίκη, marianthiky@gmail.com, elvoults@bio.auth.gr

² Τμήμα Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Νέα Ιωνία Μαγνησίας, dvafidis@uth.gr

Ένα από τα είδη ασκιδίων που αποτελούν “μηχανικούς οικοσυστήματος”, προσφέροντας υπόστρωμα εγκατάστασης σε εδραίους και κινούμενους οργανισμούς, είναι το κοινό, εδώδιμο *M. sabatieri*. Η επιβιωτική κοινότητα των σπόγγων που ζει στο είδος αυτό μελετήθηκε από δείγματα που συλλέχθηκαν σε 10 σταθμούς στις ακτές 4 νησιών της Δωδεκανήσου. Συνολικά εξετάστηκαν 115 άτομα ασκιδίων στα οποία βρέθηκαν 178 άτομα επιβιωτικών σπόγγων που ταξινομήθηκαν σε 41 είδη. Δεκαέξι από αυτά είναι νέα για τη σπογγοπανίδα του Νοτίου Αιγαίου, ενώ 3 νέα για ολόκληρο το Αιγαίο. Έξι είδη σπόγγων βρέθηκαν να είναι υπεύθυνα για το 72,6 % της συνολικής κάλυψης των ασκιδίων. Επικρατέστερα είδη από άποψη αφθονίας, συχνότητας εμφάνισης και επιφάνειας κάλυψης ήταν τα *Ircinia variabilis*, *Chondrosia reniformis* και *Phorbas tenacior*. Το 75% των ασκιδίων φιλοξενούσαν 1-3 άτομα σπόγγων που αντιστοιχούσαν σε 1-2 διαφορετικά είδη. Η μελέτη των σχέσεων μεταξύ του αριθμού ειδών, ατόμων και επιφάνειας σπόγγων με τα μορφομετρικά χαρακτηριστικά (μήκος, περίμετρος, όγκος, υγρό βάρος, ολική επιφάνεια) των ασκιδίων που εξετάστηκαν για κάθε σταθμό δειγματοληψίας, έδειξε ότι οι παραπάνω παράμετροι σχετίζονται θετικά μεταξύ τους. Η επιφάνεια κάλυψης ανά άτομο ασκιδίου ποίκιλε από 0,09 έως 102,4 cm², ενώ η μέγιστη κάλυψη που παρατηρήθηκε σε άτομο ασκιδίου ήταν 85,5 %. Η διερεύνηση της χωροδιάταξης της επιβιωτικής σπογγοπανίδας έδειξε ότι οι επιβιωτικοί σπόγγοι επικρατούσαν στην οπίσθια (κοιλιακή και ραχιαία) πλευρά των ασκιδίων, δείχνοντας μια προτίμηση σε θέσεις μειωμένου φωτισμού, πιθανότατα λόγω της κυριαρχίας των μακροφυκών στις περισσότερες φωτισμένες περιοχές. Οι τιμές της επιφάνειας κάλυψης και της αφθονίας των επιβιωτικών σπόγγων στο σύνολο των δειγματοληπτικών σταθμών, έδειξαν μια ελαφριά πτωτική τάση από τις βορειοανατολικές προς τις νοτιοδυτικές περιοχές.

**THE TUNICATE *MICROCOSMUS SABATIERI* ROULE, 1885
AND ITS EPIBIOTIC SPONGE COMMUNITY**

Kyrodimou M.¹, Voultziadou E.¹, Vafidis D.²

¹Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece, marianthiky@gmail.com, elvoults@bio.auth.gr

²Department of Ichthyology and Aquatic Environment, School of Agricultural Sciences, University of Thessaly, Nea Ionia, Magnesia, Greece, dvafidis@uth.gr

Among the ecosystem engineering tunicates, which create a habitat for various sedentary and sessile organisms, is the common, edible ascidian *M. sabatieri*. The epibiotic sponge community of this species was studied from samples collected at 10 stations located on the coasts of 4 Dodecanese islands. One hundred fifteen ascidian individuals were examined, on which 178 epibiotic sponge specimens were found, classified in 41 species. Sixteen of them are new elements for the sponge fauna of the South Aegean, while 3 new for the fauna of the Aegean Sea. Six sponge species were found to cover 72.6 % of the total ascidian surface. The sponges *Ircinia variabilis*, *Chondrosia reniformis* and *Phorbas tenacior* were dominant in respect of abundance, frequency of appearance and cover area. Seventy-five percent of the ascidians studied, were covered by 1-3 sponge individuals, belonging to 1-2 different species. The ascidian morphometric parameters (length, perimeter, volume, wet weight and total surface) were related to the sponge species richness and abundance and their cover on the ascidian tunic. The sponge cover per ascidian individual varied between 0.09 and 102.4 cm², the maximum cover being 85.5 % of the total surface of the collected ascidians. The examination of the spatial distribution of sponges on the ascidian tunic revealed that sponges dominated the posterior-ventral surface of the examined individuals, possibly due to the dominance of macroalgae on the exposed to light anterior and dorsal surface. The sponge cover and abundance values of epibiotic sponges for the total of the examined specimens showed a slight decrease tendency from the northwest to the southeast sampling sites.

ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΡΓΥΡΟΦΙΛΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ ΟΡΓΑΝΩΤΩΝ ΠΥΡΗΝΙΣΚΩΝ (AgNOR) ΣΤΟ ΠΟΛΛΑΠΛΟΥΝ ΜΥΕΛΩΜΑ (ΠΜ)

Κωστόπουλος Ι.¹, Παπαδημητρίου Σ.Ι.¹, Πατεράκης Γ.Σ.², Ανδρούτσος Γ.¹, Παυλίδης Δ.¹, Τσιτσιλώνη Ο.³, Γεωργιακάκη Μ.¹

¹Αιματολογικό Εργαστήριο και ²Εργαστήριο Κυτταρομετρίας Ροής, ΓΝΑ «Γ. Γεννηματάς», Αθήνα, ³Τομέας Φυσιολ. Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ

Οι Αργυρόφιλες Περιοχές Οργανωτών Πυρηνίσκων (AgNOR) είναι κυτταρολογικά ορατά πυρηνικά στοιχεία, ο αριθμός των οποίων θεωρείται δείκτης της μιτωτικής δραστηριότητας και συνεπώς προγνωστικός παράγοντας στις κακοήθειες. Ωστόσο, η βιολογική και κλινική τους σημασία σε πρωτεϊνοπαραγωγικές νεοπλασίες, όπως το ΠΜ, δεν έχει διερευνηθεί διεξοδικά. Τα διαγνωστικά επιχρίσματα μυελού των οστών 55 ασθενών με ΠΜ υποβλήθηκαν σε χρώση AgNO₃, σύμφωνα με την καθιερωμένη τεχνική. Υπολογίσθηκε ο μέσος αριθμός AgNOR επί 200 πλασματοκυττάρων και συσχετίστηκε με το κλινικό στάδιο και υποστάδιο της νόσου, τον ισότυπο ελαφράς και βαρείας αλυσίδας, το στάδιο οστικής νόσου, την κυτταρολογική μορφολογία, την έκφραση Ki-67, την συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης, τον αριθμό των αιμοπεταλίων, τον βαθμό διήθησης του μυελού, την συγκέντρωση παραπρωτεΐνης, λευκωματινών, ασβεστίου, LDH, CRP και β₂-μικροσφαιρίνης, καθώς και την ανταπόκριση στην αρχική θεραπεία, την διάρκεια ύφεσης και την συνολική επιβίωση. Στατιστικά σημαντική συσχέτιση βρέθηκε μόνον μεταξύ αριθμού AgNOR και σταδίου (I: 3.09±1.19, II: 3.80±1.53, III: 5.28±1.79, p<0.005), και - από τις παραμέτρους του σταδίου - μόνον με το επίπεδο παραπρωτεΐνης ορού ή ούρων (υψηλό: 5.92±1.80, χαμηλό: 4.01±1.52, p<0.001). Επιπλέον, βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ αριθμού AgNOR και επιπέδου παραπρωτεΐνης ορού, τόσο για τις IgG όσο και για τις IgA περιπτώσεις. Δεν διαπιστώθηκε προγνωστική αξία του αριθμού AgNOR στο ΠΜ. Αντίθετα, ενδέχεται να αποτελεί δείκτη του ρυθμού σύνθεσης παραπρωτεΐνης. Το συμπέρασμα υποστηρίζεται από ανάλογα ευρήματα σε άλλους ιστούς με χαμηλό μιτωτικό δυναμικό και υψηλή πρωτεϊνοπαραγωγική δυνατότητα και είναι συμβατό με τις τρέχουσες αντιλήψεις σχετικά με την λειτουργία των πυρηνίσκων.

BIOLOGICAL AND CLINICAL SIGNIFICANCE OF ARGYROPHYLIC NUCLEOLAR ORGANISER REGIONS (AgNOR) IN MULTIPLE MYELOMA (MM)

Kostopoulos I.¹, Papadhimitriou S.I.¹, Paterakis G.S.², Androutsos G.¹, Pavlidis D.¹, Tsitsilonis O.³, Georgiakaki M.¹

¹Hematology Laboratory and ²Flow Cytometry Laboratory, "G. Gennimatas" Athens Regional General Hospital; Athens, ³Dept of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, Athens University

Argyrophylic nucleolar organizer regions are cytologically visible nucleolar elements, widely employed as indicators of mitotic activity and, hence, as prognostic factors in both solid tumors and hematological malignancies. However, their biological and clinical relevance in protein producing tumors, like MM, has not been thoroughly investigated. Air dried marrow smears from 55 previously untreated patients were stained with the standard one-step AgNO₃ technique. Mean AgNOR count per plasma cell nucleus was measured as the mean from 200 cells and associated with stage, substage, heavy and light chain isotype, bone disease grade, plasma cell morphology, Ki-67 expression, haemoglobin, platelets, marrow infiltration rate, M-protein, albumin, calcium, LDH, CRP, β_2 -microglobulin, response to first treatment, remission duration and survival. AgNOR counts were found significantly related only to stage (I: 3.09 \pm 1.19, II: 3.80 \pm 1.53, III: 5.28 \pm 1.79, p<0.005), and, from stage determinants, only to level of serum or urine M-protein (high M-protein: 5.92 \pm 1.80, low M-protein: 4.01 \pm 1.52, p<0.001). In addition, there was a linear relation between AgNOR counts and serum M-protein level, for both IgG and IgA myelomas. We have not found any prognostic significance for AgNOR in MM. Instead, it may be an indicator of M-protein synthesis rate. This stands in accordance with other studies on tissues with low mitotic potential and high protein synthesis activity and is consistent with the current concepts on the nucleolar function.

**ΕΝΙΑΙΑ ΤΕΧΝΙΚΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΖΗΤΗΣΗ ΔΙΑΤΑΡΑΧΩΝ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ
MLL ΣΤΗΝ ΟΞΕΙΑ ΜΥΕΛΟΓΕΝΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ (ΟΜΛ)**

**Κωστόπουλος Ι.¹, Παπαδημητρίου Σ.Ι.¹, Πατεράκης Γ.Σ.², Ανδρούτσος Γ.¹,
Παυλίδης Δ.¹, Τσιτσιλώνη Ο.³, Γεωργιακάκη Μ.¹**

*¹Αιματολογικό Εργαστήριο και ²Εργαστήριο Κυτταρομετρίας Ροής, ΓΝΑ «Γ. Γεννηματάς»,
Αθήνα, ³Τομέας Φυσ. Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ*

Οι διαταραχές του γονιδίου MLL προσδίδουν ιδιαίτερα βιολογικά και κλινικά χαρακτηριστικά στην ΟΜΛ, αλλά η αναζήτηση τους με τις συμβατικές κυτταρογενετικές τεχνικές δεν είναι πάντοτε εφικτή. Περιγράφουμε τον σχεδιασμό και την αξιολόγηση μίας ενιαίας τεχνικής για την κατάδειξη όλων των πιθανών διαταραχών του γονιδίου σε μεσοφασικό επίπεδο. Η μελέτη συμπεριέλαβε 340 περιπτώσεις ΟΜΛ. Επιχρίσματα μυελού των οστών μελετήθηκαν με φθορίζοντα in-situ υβριδισμό (FISH) και ταυτόχρονη εφαρμογή άμεσα σεσημασμένων ιχνηθετών για i. το 5' άκρο του MLL (exons 1-6), ii. το 3' άκρο του MLL (exons 6-14) και iii. το κεντρομερίδιο του χρωμοσώματος 11. Διαταραχή του γονιδίου MLL αναγνωρίστηκε σε 35 περιπτώσεις (10.3%). Αναδιάταξη του γονιδίου διαπιστώθηκε σε 9 περιπτώσεις (2.6%), σε δύο από αυτές με ταυτόχρονο έλλειμμα του 3' άκρου. Πλήρες έλλειμμα διαπιστώθηκε σε 4 περιπτώσεις (1.2%), ενώ αντίθετα υπερεκπροσώπηση σε 22 περιπτώσεις (6.5%), σε 5 από τις οποίες, σε επίπεδο άνω των 5 αντιτύπων ανά κύτταρο (amplification). Η διαταραχή εντοπίστηκε κυτταρογενετικά μόνο σε 12 από τις 35 περιπτώσεις. Σε 27 περιπτώσεις διαπιστώθηκε συμμετοχή και διαφοροποιημένων κυττάρων της κοκκιδώδους σειράς στον λευχαιμικό κυτταρικό κλώνο. Αιματολογική ύφεση (βραχύβια) επιτεύχθηκε μόνο σε 3 ασθενείς. Η διάμεση συνολική επιβίωση ήταν 5 μήνες (εύρος: 0-14+). Πρόκειται για μία απλή, ταχεία (36 ώρες) και αξιόπιστη τεχνική, με δυνατότητα εντοπισμού όλων των διαταραχών του γονιδίου MLL στην ΟΜΛ, ανεξάρτητα από την in vitro συμπεριφορά του νεοπλασματικού κυτταρικού πληθυσμού. Η αναγνώριση κλωνικών διαφοροποιημένων κυττάρων επιτρέπει ασφαλή ποσοτικοποίηση του λευχαιμικού κλώνου και αναγνώριση των περιπτώσεων «κλωνικής ύφεσης». Η έκβαση των ασθενών στην σειρά που μελετήθηκε επιβεβαιώνει την κλινική σημασία της αναγνώρισης των διαταραχών του MLL κατά την διαγνωστική προσέγγιση της ΟΜΛ.

A UNIFORM TECHNIQUE FOR THE DETECTION OF THE MLL GENE ABERRATIONS IN ACUTE MYELOGENOUS LEUKEMIA (AML)

Kostopoulos I.¹, Papadhimitriou S.I.¹, Paterakis G.S.², Androutsos G.¹, Pavlidis D.¹, Tsitsilonis O.³, Georgiakaki M.¹

¹Hematology Laboratory and ²Flow Cytometry Lab., "G. Genimatas" Athens Regional General Hospital; Athens, ³Dept of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, Athens University

Aberrations of the MLL gene entail distinct biological and clinical features in AML, but their identification with conventional cytogenetic methods is not always feasible. We discuss the on the planning and effectiveness of a uniform technique for the detection of all MLL aberrations in AML, at the interphase level. The study included 340 AML cases. Diagnostic bone marrow aspirates were assessed with fluorescence in-situ hybridization, with the simultaneous use of directly labeled probes for i. 5' MLL (exons 1-6), 3' MLL (exons 6-14), and iii. chromosome 11 centromere. MLL aberrations were recognized in 35 cases (10.3%). Rearrangement of the gene was detected in 9 cases (2.6%); in two of them with simultaneous loss of the 3' part. Total gene deletion was seen in 4 cases (1.2%), while overrepresentation was detected in 22 cases (6.5%); in 5 of them with more than 5 copies per cell (amplification). The aberrations were cytogenetically detectable in only 12 of the 35 cases. In 27 cases, it was shown that differentiated cells of the granulocytic lineage were also involved in the leukemic clone. A short hematological remission was achieved in only 3 patients, while median overall survival was 5 months (range 0-14+). This is a simple, rapid (36 hours) and reliable technique for the detection of all MLL aberrations in AML, regardless of the malignant cell proliferative capacity in vitro. The recognition of clonal differentiated cells allows for an accurate enumeration of the leukemic clone and the documentation of "clonal remissions". The poor outcome of the patients in this series supports the clinical significance of the MLL aberrations in AML and the need for their detection during the initial diagnostic approach of the patients.

**ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ ΤΩΝ
Enterobacteriaceae ΣΕ ΥΔΑΤΙΝΗ ΒΙΟΜΕΜΒΡΑΝΗ ΜΕ ΤΗ ΤΕΧΝΙΚΗ
ΤΟΥ *IN SITU* ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΥ ΜΕ ΦΘΟΡΙΖΟΝΤΕΣ ΙΧΝΗΘΕΤΕΣ**

**Κωτσάκης Σ.Α., Λυμπεροπούλου Δ.Σ., Αρναούτης Α.Β.,
Καραγκούνη Α.Δ.**

*Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, Ομάδα Μικροβιολογίας,
15781 Αθήνα. Email: akar@biol.uoa.gr*

Οι μικροβιακές βιομεμβράνες δημιουργούνται από μικροοργανισμούς που απαντώνται με φυσικό τρόπο σε επιφανειακά ύδατα και ενδέχεται να αποτελούν καταφύγιο πλούσιο σε θρεπτικά συστατικά για τα παθογόνα βακτήρια που εισέρχονται σε αυτά. Η διατήρηση των παθογόνων βακτηρίων σε βιομεμβράνες συμβάλλει στην επιμόλυνση των υδάτων, εφόσον αυτά μπορούν να αποδεσμευθούν και να επιστρέψουν στο νερό, επιβαρύνοντάς το περαιτέρω. Η τεχνική του *in situ* υβριδισμού με φθορίζοντες ιχνηθέτες (FISH) έχει χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για την ειδική ανίχνευση βακτηρίων σε βιομεμβράνες, παρέχοντας πληροφορίες για την δυναμική ανάπτυξής της, καθώς και για τη συμμετοχή διαφόρων μικροβιακών ομάδων σε αυτή. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της συμμετοχής και της επιβίωσης βακτηρίων της οικογένειας *Enterobacteriaceae* σε υδάτινη βιομεμβράνη, καθώς αυτή αναπτύσσεται επί τεχνητής επιφάνειας, με την χρήση της FISH. Η βιομεμβράνη αναπτύχθηκε σε γυάλινες αντικειμενοφόρους πλάκες που είχαν τοποθετηθεί στη Λίμνη του Μαραθώνα (θέση Βαρνάβα). Ακολούθησε ανάλυση με την τεχνική FISH, με τη χρήση ιχνηθετών για την ομάδα των Εντεροβακτηρίων (εκτός του γένους *Proteus*) και για το σύνολο των βακτηρίων (universal). Η μικροσκοπηση έγινε με συνεστιακό μικροσκόπιο σάρωσης LASER (CLSM) και οι μικροφωτογραφίες αναλύθηκαν ποσοτικά με το λογισμικό πρόγραμμα ImageJ. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα Εντεροβακτήρια εισέρχονται στο υδατικό βιοφίλμ και επιβιώνουν σε αυτό για μεγάλο χρονικό διάστημα ακόμα και όταν ο αριθμός τους σε πλαγκτονική κατάσταση μειώνεται. Ωστόσο, τα ίδια δεν συμμετέχουν στη δημιουργία του βιοφίλμ, δεδομένου ότι δε σχηματίζουν μικροαποικίες και ότι το ποσοστό τους σε σχέση με τα υπόλοιπα βακτήρια δεν ξεπερνά το 2,5%.

ESTIMATE OF *Enterobacteriaceae* PARTICIPATION AND SURVIVAL IN AQUATIC BIOFILM THROUGH IN SITU HYBRIDIZATION WITH FLUORESCENT PROBES

Kotsakis S.A., Lympelopoulou D.S., Arnaoutis A.B., Karagouni A.D.

University of Athens, Faculty of Biology, Department of Botany, Microbiology Group, 15781 Athens. Email: akar@biol.uoa.gr

Microbial biofilms are formed by naturally occurring microorganisms in surface water and they may provide a nutrient-rich haven for pathogenic bacteria that enter the aquatic environment. The maintenance of pathogenic bacteria in biofilms contributes to the recontamination of water, as they can be released back to it, consisting another important parameter for microbiological analysis of surface water. Fluorescence in situ hybridization technique (FISH) has been successfully used for the specific detection of bacteria in microbial biofilms, providing information concerning dynamics of its development and the participation of various microbial groups into it as well. The aim of the present study was to estimate the participation and survival of bacteria of *Enterobacteriaceae* family in an aquatic biofilm, during its development onto an artificial surface, with the use of the FISH technique. The biofilm was raised onto regular glass slides which have been placed into Marathon Lake (Varnava site). Analysis with FISH technique has been followed, using probes specific for the enterobacteria group (except the genus *Proteus*) and for all bacteria (universal probe). Microscopy was carried out through a confocal LASER scanning microscope (CLSM) and microphotographs were analyzed quantitatively using the ImageJ software. Our results indicated that enterobacteria integrate into biofilms and they are able to survive for an extensive time interval, even if their number in planktonic state is reduced. However, they don't participate in the formation of the biofilm, as they don't form microcolonies and their percentage in relation to the other bacteria doesn't exceed the value of 2.5%.

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΩΝ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΩΝ ADA2a ΚΑΙ ADA2b
ΣΤΙΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΤΟΥ *Arabidopsis thaliana* ΣΤΟ ΑΨΙΖΙΚΟ ΟΞΥ (ABA).**

Λαδόπουλος Β., Καλδής Α., Βλαχονάσιος Κ.

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,
54124 Θεσσαλονίκη E-mail επικοινωνίας: kolachon@bio.auth.gr

Οι επιγενετικές τροποποιήσεις ρυθμίζουν χρονικά και τοπικά την έκφραση πολλών γονιδίων. Η ακετυλίωση των ιστονών θεωρείται από τις σημαντικότερες επιγενετικές τροποποιήσεις της χρωματίνης. Το σύμπλοκο SAGA είναι ένα από τα πολλά σύμπλοκα ακετυλίωσης ιστονών. Στη ζύμη, η πρωτεΐνη GCN5, συστατικό του συμπλόκου SAGA, δρα ως ακετυλο-τρανσφεράση των ιστονών (HAT), ενώ συγκρατείται στο σύμπλοκο μέσω της πρωτεΐνης ADA2. Απώλεια της ADA2b, στο *Arabidopsis thaliana*, προκαλεί δραματικές επιπτώσεις στην αύξηση και την ανάπτυξή του ενώ μειώνει την έκφραση κρυο-επαγόμενων (COR) γονιδίων. Μελετήθηκε η επίδραση του ABA στην επιμήκυνση της ρίζας και στην έκφραση των ABA-επαγόμενων γονιδίων στα μεταλλάγματα *ada2a-2* και *ada2b-1*. Τα μεταλλάγματα *ada2b-1* εκδήλωσαν υπερευαίσθησία στο ABA, όσον αφορά την επιμήκυνση της ρίζας, σε αντίθεση με τα *ada2a-2* φυτά, υποδηλώνοντας ότι το ADA2b είναι θετικός ρυθμιστής της αύξησης της ρίζας υπό την επίδραση ABA. RT-PCR ανάλυση έδειξε ότι η έκφραση ABA-επαγόμενων γονιδίων επηρεάζεται και στα δύο μεταλλάγματα με διαφορετικό τρόπο για κάθε ABA-επαγόμενο γονίδιο, υποδεικνύοντας ότι τα ADA2a και ADA2b μπορούν να δρουν ως καταστολείς ή ενεργοποιητές της έκφρασης των γονιδίων, κατά περίπτωση.

**THE ROLE OF TRANSCRIPTIONAL ADAPTORS ADA2a AND ADA2b IN
Arabidopsis thaliana RESPONSES TO
ABSCISIC ACID (ABA).**

Ladopoulos V., Kaldis A., Vlachonasios K.

*Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki
E-mail: kolachon@bio.auth.gr*

Epigenetic modifications can regulate when and which genes are expressed. Histone acetylation is considered to be one of the most important chromatin modifications. The SAGA complex is one of many complexes that mediate histone acetylation. In yeast, GCN5 protein, a component of the SAGA complex, functions as a histone acetyltransferase (HAT) and is bound to the rest of the complex through ADA2. Loss of ADA2b, in *Arabidopsis thaliana*, dramatically affects growth and development as well as reduces cold-responsive (COR) genes expression. We studied the effects of ABA on root elongation and gene expression in *ada2a-2* and *ada2b-1*. Loss of ADA2b functionality renders plants hypersensitive to ABA, in root elongation assays, in contrast to ADA2a, suggesting that *ADA2b* is a positive regulator of root elongation under ABA treatment. RT-PCR analysis showed that ABA-induced gene expression was altered in a gene specific manner in both mutants, either upregulated or downregulated, suggesting a possible repressor or activator role for *ADA2a* and *ADA2b*.

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΦΟΡΕΑ ΤΗΣ ΝΤΟΠΑΜΙΝΗΣ ΣΤΗΝ ΠΑΡΕΓΚΕΦΑΛΙΔΑ ΜΥΟΣ

Λάμπας Ε., Γιομπρές Π.

*Εργαστήριο Φυσιολογίας Ανθρώπου και Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών,
Πάτρα.*

E-mail: elampas@hotmail.com , giompres@upatras.gr

Στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ), η ντοπαμίνη ελέγχει σημαντικές φυσιολογικές λειτουργίες όπως η έκκριση ορμονών, η ρύθμιση της κίνησης, γνωστικές πορείες και περίπλοκες συμπεριφορές που έχουν σχέση με το συναίσθημα και την ανταμοιβή. Η επαναπρόσληψη της ντοπαμίνης διαμέσου του μεταφορέα της νευρωνικής πλασματικής μεμβράνης (DAT) είναι σημαντική για τη διατήρηση της ομοιόστασης της στο ΚΝΣ. Πιστεύεται ότι ο DAT ελέγχει την ένταση και τη διάρκεια της ντοπαμινεργικής νευροδιαβίβασης. Ο DAT αποτελεί μοριακό στόχο θεραπευτικών ουσιών για την θεραπεία νοητικών δυσλειτουργιών όπως η σχιζοφρένεια και η κατάθλιψη. Επιπροσθέτως είναι στόχος εθιστικών ουσιών όπως η κοκαΐνη και η αμφεταμίνη. Οι ψυχοδιεγερτικές και οι θεραπευτικές ουσίες δεσμεύονται στον DAT, αλλάζουν την λειτουργία του και ως εκ τούτου επιτείνουν την ένταση και διάρκεια της ντοπαμινεργικής νευροδιαβίβασης. Η παρεγκεφαλίδα δέχεται μια κατεχολαμινεργική νευρώση η οποία θεωρείται ότι είναι νοραδρενεργική. Εν τούτοις βιοχημικές, φαρμακολογικές και ανατομικές μελέτες υποδεικνύουν ότι επίσης δέχεται μια μικρή ντοπαμινεργική νευρώση από την κοιλιακή περιοχή της καλύπτρας και την συμπαγή μοίρα της μέλαινας ουσίας. Πρόσφατες ανοσοϊστοχημικές μελέτες μας για τον DAT υπέδειξαν ότι νευρώνες της παρεγκεφαλίδας μπορεί να εκφράζουν τον μεταφορέα. Στην παρούσα μελέτη ο εντοπισμός του μεταφορέα της ντοπαμίνης (DAT) στην παρεγκεφαλίδα φυσιολογικών μυών, τόσο σε επίπεδο πρωτεΐνης όσο και σε επίπεδο mRNA έγινε με την μέθοδο Western Blot και RT-PCR αντίστοιχα. Η πρωτεΐνη ανιχνεύθηκε στο κλάσμα των συναπτοσωμάτων, ενώ το mRNA σε ολικό εκχύλισμα παρεγκεφαλίδας. Τα αποτελέσματα έρχονται να επιβεβαιώσουν την ύπαρξη ντοπαμινεργικών κυττάρων στην παρεγκεφαλίδα.

LOCALIZATION OF THE DOPAMINE TRANSPORTER IN THE MOUSE CEREBELLUM

Lampas E., Giompres P.

*Laboratory of Human and Animal Physiology, Department of Biology, University of Patras, Patra.
E-mail: elampas@hotmail.com ; giompres@upatras.gr*

In the Central Nervous System (CNS) the neurotransmitter dopamine (DA) controls important functions including hormone secretion, locomotion, cognitive processes and complex behaviours that are associated with emotion and reward.

Dopamine uptake through the neuronal plasma membrane DA transporter is essential for the maintenance of normal DA homeostasis in the brain. It is believed that DAT controls the intensity and the duration of dopamine neurotransmission. DAT is the molecular target for therapeutic agents used in the treatment of mental disorders, such as schizophrenia and depression. In addition, DAT is the target for cocaine and amphetamine. Psychostimulants and therapeutic substances alter its transporter function and therefore prolong the intensity and duration of dopaminergic neurotransmission. The cerebellum receives a catecholaminergic input that is generally accepted to be noradrenergic. However, biochemical, pharmacological and anatomical evidence indicate that the cerebellum also receives a small dopaminergic input from ventral tegmental area and substantia nigra pars compacta. Recent immunohistochemical studies have indicated that cerebellar neurons express the transporter. In the current study, cerebellar dopamine transporter protein and mRNA were studied using the methods of western blotting and RT-PCR. Our results confirm the existence of dopaminergic neurons in cerebellum.

Η ΚΥΤΤΑΡΟΦΑΓΙΑ ΣΤΑ ΑΙΜΟΚΥΤΤΑΡΑ ΤΗΣ ΜΥΓΑΣ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΟΥ ΡΥΘΜΙΖΕΤΑΙ ΑΠΟ ΜΙΑ β ΥΠΟΜΟΝΑΔΑ ΤΩΝ ΙΝΤΕΓΚΡΙΝΩΝ

Λάμπρου Ε., Μάμαλη Ε., Καρακάντζα Μ., Λαμπροπούλου Μ., Μαρμάρας Β.Ι.

Εργαστήριο Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών

Η κυτταροφαγία ενός μικροοργανισμού από ένα φαγοκύτταρο είναι μια εξαιρετικά πολύπλοκη διαδικασία, η οποία απαιτεί αλληπάλληλες αλληλεπιδράσεις μεταξύ φαγοκύτταρου και παθογόνου. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές ενεργοποιούν διάφορα μονοπάτια μεταγωγής μηνυμάτων στο εσωτερικό του φαγοκύτταρου. Η κυτταροφαγία επάγεται όταν ενεργοποιούνται οι υποδοχείς στην επιφάνεια των φαγοκυττάρων από κύτταρα στόχους. Πρόσφατα έχουμε δείξει ότι η ενεργοποίηση της κινάσης εστιακής προσκόλλησης (FAK) αλλά και των μορίων που ενεργοποιούνται μετά από αυτήν κατά τη μόλυνση των κυττάρων από παθογόνα, ρυθμίζουν την κυτταροφαγία στα αιμοκύτταρα της μύγας της Μεσογείου. Ο σκοπός αυτής της μελέτης ήταν η διερεύνηση περαιτέρω του μονοπατιού μεταγωγής μηνυμάτων κατά τη λειτουργία της κυτταροφαγίας. Συγκεκριμένα σε αυτήν την εργασία, χρησιμοποιήσαμε κυτταρομετρία ροής, ανοσοανίχνευση πρωτεϊνών, ELISA, ανοσοκατακρήμνιση, για να δείξουμε ότι εξωκυτταρικά σήματα μεταφέρονται στο εσωτερικό του κυττάρου διαμέσου υποδοχέων της επιφάνειας του σε απόκριση της βακτηριακής προσβολής. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι τα αιμοκύτταρα της μύγας της Μεσογείου εκφράζουν στην επιφάνειά τους μια β υπομονάδα των ιντεγκρινών, η οποία μεταβιβάζει το μήνυμα κατά την προσβολή των βακτηρίων στο εσωτερικό του κυττάρου ενεργοποιώντας το σηματοδοτικό μονοπάτι της FAK και συγκεκριμένα των Src, MAP κινασών και του μεταγραφικού παράγοντα Elk-1-like, τα οποία συμβάλλουν στην εσωτερικοποίηση των παθογόνων. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι μικρά μόρια της επιφάνειας των παθογόνων όπως ο LPS, δεν εισέρχονται στο κύτταρο διαμέσου των ιντεγκρινών.

HAEMOCYTE-MEDIATED PHAGOCYTOSIS IS REGULATED BY A β INTEGRIN SUBUNIT-DEPENDENT SIGNALLING PATHWAY IN MEDFLY

Lamprou I., Mamali I., Karakantza M., Lampropoulou M., Marmaras B.J.

Laboratory of Biology, Department of Biology, University of Patras, Greece

Phagocytosis of a microbe by a phagocytic cell is an extremely complex and diverse process that requires multiple successive interactions between the phagocyte and the pathogen as well as sequential signal transduction events. Phagocytosis is induced when receptors, present on the surface of phagocytes, are activated by target cells. We have recently reported that the activation of focal adhesion kinase (FAK) and its downstream targets upon pathogen challenge regulate phagocytosis in medfly haemocytes. The goal of this study was to further explore the signalling pathway underlying the process of phagocytosis. In particular, in this report, we used flow cytometry, RNA interference, enzyme-linked immunosorbent assay, western blot and immunoprecipitation analysis to demonstrate the haemocyte surface receptor, through which the extracellular signals in response to bacteria are transmitted intracellularly. The presented data demonstrate the expression of a β integrin subunit in the surface of medfly haemocytes that transmits signals upon pathogen triggering to FAK and its downstream targets, Src, MAP kinases and Elk-1-like protein, for the engulfment of pathogen. Interestingly small molecules (LPS) are not internalized through integrins.

**ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΜΙΚΡΟΔΟΥΡΥΦΟΡΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΣΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΥΟ
ΕΙΔΩΝ ΨΑΡΙΩΝ ΤΗΣ ΛΙΜΝΗΣ ΒΟΛΒΗΣ**

**Λάππα Μ.¹, Βλάχου Α.-Κ.¹, Καλομοίρης Σ.¹, Τριανταφυλλίδης Α.¹,
Καραϊσκού Ν.¹, Αμπατζόπουλος Θ.Ι.¹, Οικονομίδης Γ.², Ψαλτοπούλου Χ.²,
Τριανταφυλλίδης Κ.¹**

¹Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη. E-mail: triant@bio.auth.gr

²Τμήμα Αλιείας Επαρχείου Λαγκαδά, Ν.Α.Θ.

Το γριβάδι (*Cyprinus carpio*) και η τούρνα (*Esox lucius*) αποτελούν μέρος της πανίδας των ελληνικών λιμνών, καθώς και αλιεύματα με υψηλή εμπορική αξία. Το γριβάδι ανήκει στα σημαντικότερα είδη των υδατοκαλλιέργειών. Αναφορικά με την τούρνα, δεν απειλείται επίσημα με εξαφάνιση, παρόλα αυτά έχει παρατηρηθεί σημαντική μείωση των πληθυσμών της. Η λίμνη Βόλβη αποτελεί ένα από τα ενδιαιτήματα στα οποία έχει γίνει αντιληπτή ελάττωση των πληθυσμών των δύο αυτών ειδών εξαιτίας είτε υπεραλίευσης είτε αποτυχημένης φυσικής αναπαραγωγής. Επιπρόσθετα, τόσο για το γριβάδι, αλλά κυρίως για την τούρνα τα βιβλιογραφικά δεδομένα για τη γενετική τους ποικιλομορφία στην Ελλάδα είναι ανεπαρκή. Για το λόγο αυτό πραγματοποιήθηκε ανάλυση έντεκα μικροδορυφορικών δεικτών σε 59 δείγματα γριβαδιού και δώδεκα μικροδορυφορικών δεικτών σε 62 δείγματα τούρνας που αλιεύτηκαν από τη λίμνη Βόλβη. Στόχοι της εργασίας αποτελούν η ανάλυση της γενετικής σύστασης και η εκτίμηση της γενετικής ποικιλότητας των φυσικών πληθυσμών των ειδών, η επιλογή κατάλληλων γεννητόρων με υψηλό βαθμό ετεροζυγωτίας για φυσική αναπαραγωγή και δημιουργία γενετικά βελτιωμένων απογόνων, και μακροπρόθεσμα η εφαρμογή της γενετικής βελτίωσης σε άλλα είδη ψαριών της λίμνης Βόλβης ή και άλλων λιμνών.

Η εργασία αυτή χρηματοδοτήθηκε από το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων στο πλαίσιο του Ε.Π. Αλιείας 2000-2006.

APPLICATION OF MICROSATELLITE DNA MARKERS ON TWO FISH SPECIES FROM LAKE VOVI

Lappa M.¹, Vlachou A.-K.¹, Kalomoiris S.¹, Triantafyllidis A.¹, Karaiskou N.¹, Abatzopoulos T.J.¹, Economidis G.², Psaltopoulou H.², Triantaphyllidis C.¹

¹*Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki. E-mail: triant@bio.auth.gr*

²*Department of Fisheries, Lagkada, Prefecture of Thessaloniki*

The common carp (*Cyprinus carpio*) and the pike (*Esox lucius*) belong to the Greek freshwater fauna and are of high commercial value. Common carp plays an important role in aquaculture. Concerning pike, it is not formally a threatened species, however its populations are declining rapidly. Serious decline of both populations of the two species has been observed in lake Volvi, due to either overfishing or unsuccessful reproduction. Moreover, there is a lack of data for the genetic variability of the two species in Greek waters. Therefore, eleven and twelve microsatellite loci were analyzed in 59 carps and 62 pikes from lake Volvi, respectively. The aim of the present project is to analyze the genetic structure and to evaluate the genetic variability of the two natural populations. Additionally, the final objective is to select appropriate broodstock with high heterozygosity, which will promote the genetic improvement of the two species. The practice related to this improvement could in the future be implemented on other fish species.

This research was funded by the Ministry of Rural Development and Food.

ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΚΑΙ ΡΥΘΜΟΣ ΑΥΞΗΣΗΣ ΤΟΥ *CARASSIUS GIBELIO* (BLOCH, 1782) ΣΤΗ ΛΙΜΝΗ ΠΑΜΒΩΤΙΔΑ (ΒΟΡΕΙΟΔΥΤΙΚΗ ΕΛΛΑΔΑ) ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΟ ΦΥΛΟ ΚΑΙ ΤΟ ΒΑΘΜΟ ΠΛΟΕΙΔΙΑΣ

Λιάσκο Ρ.¹, Λιούσια Β.¹, Αμπατζόπουλος Θ.Ι.² και Ι.Δ. Λεονάρδος¹

¹Εργαστήριο Ζωολογίας, Σχολή Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων. Email:ileonard@uoi.gr

²Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Παν/μιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

Το είδος *Carassius gibelio* είναι ένα από το λίγα γνωστά γυνογενετικά είδη. αναπαράγωγή του στηρίζεται στη γονιμοποίηση των αβγών του από σπέρμα άλλων ειδών της οικογένειας των Cyprinidae. Το γενετικό υλικό των αρσενικών φαίνεται ότι δεν συμμετέχει στο γενετικό υλικό των απογόνων. Βρέθηκε ότι στη Λίμνη Παμβώτιδα, όπως και σε άλλες ευρωπαϊκές λίμνες, υπάρχουν σπάνια αρσενικά άτομα (λιγότερα του 3%). Τα αρσενικά είναι τριπλοειδή και τετραπλοειδή, ενώ τα θηλυκά είναι αποκλειστικά τριπλοειδή. Η ανάλυση των κύριων συνιστωσών καθώς και η διαχωριστική ανάλυση μπορούν να διαχωρίσουν με μεγάλη ακρίβεια (98.9%) τα δυο φύλα καθώς και τους βαθμούς πλοειδίας. Ο ρυθμός της κατά βάρος, όπως και της κατά μήκος αύξησης διέφερε μεταξύ των δυο φύλων και των βαθμών πλοειδίας. Τα θηλυκά άτομα ήταν βαρύτερα των αρσενικών για το ίδιο μήκος. Αντίστοιχα τα θηλυκά φτάνουν σε μεγαλύτερο ασυμπτωτικό μήκος των αρσενικών. Μεταξύ των αρσενικών ατόμων τα τριπλοειδή παρουσίαζαν μεγαλύτερο βάρος για το ίδιο μήκος και θα έφταναν σε μεγαλύτερο ασυμπτωτικό μήκος των τετραπλοειδών.

**MORPHOLOGICAL FEATURES AND GROWTH RATE OF CARASSIUS
GIBELIO (BLOCH, 1782) FROM LAKE PAMVOTIS (NORTHWESTERN
GREECE) IN RELATION TO THE SEX AND PLOIDY LEVEL.**

Lasko R., Liouisia B., Abatzopoulos T.², and I.D. Leonardos

¹*Laboratory of Zoology, Department of Biological Applications and Technology, University of
Ioannina, 45110, Ioannina. E-mail: ileonard@uoi.gr*

²*Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle
University of Thessaloniki, Thessaloniki*

Carassius gibelio main mating option is sperm-dependant parthenogenesis. Sperm from heterospecific cyprinid males is used to trigger the egg development without fusion of the egg and sperm. In the population of *Carassius gibelio* (Bloch, 1782) of Lake Pamvotis, as well as in other European lakes, a small but gradually increasing proportion of sexually mature males (less than 3%) has been found. Males were either triploid or tetraploid while all females were triploid.

Principal Component Analysis (PCA) and Discriminant Component Analysis (DFA) could discriminate the sexes and the levels of ploidy with high accuracy (98.9%). Growth rate in length and weight was also statistically significant different between sexes and levels of ploidy. The asymptotic length of females was significantly higher than that of males, while among the males the triploids have higher asymptotic length than tetraploids

Η ΦΩΣΦΟΛΙΠΑΣΗ C ΕΜΠΛΕΚΕΤΑΙ ΣΤΗΝ ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΗΣ ΜΙΤΩΤΙΚΗΣ ΣΥΣΚΕΥΗΣ ΣΤΑ ΑΝΩΤΕΡΑ ΦΥΤΑ

Λιβανός Π., Γαλάτης Β., Αποστολάκος Π.

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, 15781, Αθήνα

Η φωσφολιπάση C (PLC) υδρολύει την 4,5-διφωσφορική φωσφατίδουλοϊνοσιτόλη (PIP₂), παράγοντας τριφωσφορική ινοσιτόλη (IP₃) και διακυλογλυκερόλη (DAG). Προσφάτως, βρέθηκε ότι η PLC συμμετέχει στους μηχανισμούς ελέγχου της κυτοκίνησης των ανωτέρων φυτών. Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε ο ρόλος της PLC στην οργάνωση της μιτωτικής συσκευής των ανωτέρων φυτών. Για τον σκοπό αυτό μελετήθηκαν οι επιπτώσεις της νεομυκίνης στα διαιρούμενα κύτταρα ακρόρριζου του φυτού *Triticum turgidum*. Η νεομυκίνη δεσμεύεται στην PIP₂, με αποτέλεσμα την αναστολή της παραγωγής IP₃ και DAG μέσω της PLC. Στα επηρεασμένα προφασικά κύτταρα οι περιπυρηνικοί μικροσωληνίσκοι (ΜΣ) απουσιάζουν ή όταν υπάρχουν δεν συγκροτούν διπολική προφασική άτρακτο. Η μεταφασική άτρακτος δεν έχει την τυπική οργάνωση. Αποτελείται από δεσμίδες ΜΣ κινητοχώρων, οι οποίες όμως δεν συγκροτούν ένα διπολικό σύστημα. Η άτυπη αυτή άτρακτος αδυνατεί να "τοποθετήσει" τους κινητοχώρους στο ισημερινό επίπεδο του κυττάρου, με αποτέλεσμα τη διασπορά των χρωμοσωμάτων σε όλο τον κυτταρικό χώρο. Η αναφασική άτρακτος είτε απουσιάζει ή όταν σχηματίζεται διαμορφώνεται από άτυπες δεσμίδες πολυμερών σωληνίνης. Ως αποτέλεσμα, αναστέλλεται ο διαχωρισμός και η μετακίνηση των χρωμοσωμάτων προς τους πόλους και τελικά δημιουργούνται πολυπλοειδικά κύτταρα στο ακρόρριζο. Τα παραπάνω δεδομένα υποστηρίζουν ότι στα μιτωτικά κύτταρα η καταλυτική δραστηριότητα της PLC σχετίζεται με τους μηχανισμούς, οι οποίοι ελέγχουν τον πολυμερισμό των ΜΣ και την οργάνωση αυτών σε διπολικά συστήματα.

Το έργο αυτό ενισχύθηκε οικονομικά από τον Ειδικό Λογαριασμό Έρευνας του ΕΚΠΑ (πρόγραμμα Καποδίστριας).

SPINDLE ORGANIZATION IN HIGHER PLANTS: INVOLVEMENT OF PHOSPHOLIPASE C

Livanos P., Galatis B., Apostolakos P.

Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, 15781, Athens

Phospholipase C (PLC) hydrolyses phosphatidylinositol 4,5-biphosphate (PIP₂) producing inositol 1,4,5-triphosphate and diacylglycerol. Previous work revealed the involvement of PLC pathway in the mechanisms that control plant cytokinesis. In the present work, PLC implication in mitotic spindle organization was investigated. Dividing root tip cells of *Triticum turgidum* were treated with neomycin, a substance that strongly binds to PIP₂, inhibiting the catalytic activity of PLC. In treated prophase cells, perinuclear microtubules were either absent or when they were present displayed various orientations. Metaphase spindle organization was also seriously affected. They consisted of atypical kinetochore microtubule bundles. These cells didn't form bipolar prophase and metaphase spindles. The anaphase spindle exhibited also several structural aberrations. As a result of the above aberrations, the orientation of chromosomes on the metaphase plate and the subsequent anaphase movement were prevented. These data show that the neomycin treated cells are unable to undergo mitosis, an observation favoring the suggestion that PLC pathway is implicated in the mitotic activity of higher plants and in particular in the mechanisms controlling tubulin polymerization and bipolar microtubule array organization.

This work was financed by grants from the University of Athens (project "Kapodistrias").

ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΚΑΙ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΠΟΥ ΚΩΔΙΚΟ- ΠΟΙΟΥΝ ΔΙΑΜΕΜΒΡΑΝΙΚΑ Β-ΒΑΡΕΛΙΑ ΣΕ ΑΡΝΗΤΙΚΑ ΚΑΤΑ GRAM ΒΑ- ΚΤΗΡΙΑ

Λιμήτσιου Ο.Κ.¹, Τσιρίγος Κ.Δ.¹, Μπάγκος Π.Γ.² και Χαμόδρακας Σ.Ι.¹

¹ Τομέας Βιολογίας Κυττάρων και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Αθήνα 15 701, E-mail: ranlim@biol.uoa.gr, ktsirig@biol.uoa.gr, shamodr@biol.uoa.gr

² Τμήμα Πληροφορικής με Εφαρμογές στη Βιοϊατρική, Πανεπιστήμιο Στερεάς Ελλάδας,
Παπασιοπούλου 2-4, Λαμία 35100, E-mail: pbagos@ucg.gr

Οι μεμβρανικές πρωτεΐνες είναι ζωτικής σημασίας για τους οργανισμούς. Αποτελούν το 25-30% των πλήρως προσδιορισμένων πρωτεομάτων και συμμετέχουν σε διάφορες σημαντικές λειτουργίες: ως υποδοχείς και μεταφορείς ουσιών, ως δομικές πρωτεΐνες, ως πρωτεΐνες προσκόλλησης κ.λ.π. Διακρίνονται σε δύο κύριες κατηγορίες τις α-ελικοειδείς, οι οποίες είναι οι πιο συχνά εμφανιζόμενες και πιο καλά μελετημένες, και τα β-βαρέλια, στα οποία η μελέτη μας επικεντρώθηκε. Το ποσοστό εμφάνισης των β-βαρελίων σε κάθε πρωτέωμα είναι ιδιαίτερα χαμηλό (1.5-2.4%) και εντοπίζονται στις εξωτερικές μεμβράνες των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων καθώς και, πιθανωτάτα, στις εξωτερικές μεμβράνες των μιτοχονδρίων και των χλωροπλαστών. Τα διαμεμβρανικά β-βαρέλια εμφανίζουν σημαντικές λειτουργίες τόσο για την ανάπτυξη του οργανισμού στο εκάστοτε περιβάλλον, όσο και για την παθογένειά του. Αρχική σύγκριση των ομόλογων γονιδίων β-βαρελίων πραγματοποιήθηκε σε όλα τα δυνατά ζευγάρια οργανισμών του ίδιου γένους (λαμβάνοντας υπ'όψιν όλους τους πιθανούς συνδυασμούς παθογένειας) κι έδειξε ότι δεν υπάρχει κάποιο μοτίβο εμφάνισης ή απουσίας των γονιδίων αυτών που να συσχετίζεται ισχυρά με την παθογένεια αλλά και ότι οι διαφορές μπορεί να οφείλονται κυρίως στη διαφοροποίηση των ειδών. Για το λόγο αυτό προχωρήσαμε στη μελέτη οργανισμών που ανήκουν μόνο στο ίδιο είδος. Ένα άλλο σημείο στο οποίο επικεντρωθήκαμε είναι ο εντοπισμός ομάδων των γονιδίων των β-βαρελίων στο γονιδίωμα, δηλαδή η διαμόρφωση νησίδων παθογένειας. Στους μελλοντικούς στόχους μας συγκαταλέγεται επίσης η αναζήτηση συσχέτισης των β-βαρελίων με περιβαλλοντικούς παράγοντες.

COMPARATIVE AND STATISTICAL STUDIES OF GENES ENCODING β -BARRELS IN GRAM-NEGATIVE BACTERIA

Limitsiou O.K.¹, Tsirigos K.D.¹, Bagos P.G.² and Hamodrakas S.J.¹

¹ *Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 157 01, Greece, E-mail: ranlim@biol.uoa.gr, ktsirig@biol.uoa.gr, shamodr@biol.uoa.gr*

² *Department of Informatics with Applications in Biomedicine, University of Central Greece, Papasiopoulou 2-4, Lamia 35100, Greece, E-mail: pbagos@ucg.gr*

Membrane proteins are of vital importance for organisms. They represent 25-30% of fully annotated proteomes and they are involved in many functions: as receptors and transporters of small molecules, as structural proteins, as adhesion proteins, as enzymes, etc. Integral membrane proteins are of two types: α -helical, which are the most abundant and thoroughly studied, and β -barrels. β -Barrels are less common in proteomes (1.5-2.4%) and have exclusively been found in the outer membranes of Gram-negative bacteria and, presumably, in the outer membranes of mitochondria and chloroplasts. Transmembrane β -barrels are responsible for functions such as the growth of the organism in alternative habitats and for their pathogenicity as well. Initial comparison between homologous genes of β -barrels took place in couples of organisms of the same gender (taking into consideration all possible combinations of pathogenicity) and as a result, we found that there is no correlation between the appearance or not of these genes, with the pathogenicity of the organisms. Species diversity should be responsible for any possible differences between homologous genes of β -barrels. Therefore, we will proceed in studying organisms of the same species. Another crucial point in our study is the search of clusters of β -barrel genes in the genome, for which the term pathogenicity islands has been proposed. One of our future goals will be to correlate specific families of β -barrel proteins with environmental factors.

**ΙΧΘΥΟΠΑΝΙΔΑ ΤΩΝ ΕΣΩΤΕΡΙΚΩΝ ΥΔΑΤΩΝ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ:
ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΜΕ ΤΗ ΒΟΗΘΕΙΑ ΤΗΣ ΚΛΑΔΙΣΤΙΚΗΣ.**

Λιούσια Β.¹, Γεωργιάδου Π.¹, Λεονάρδος Ι.Δ.¹

*¹Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο
Ιωαννίνων, 45550, Ιωάννινα. E-mail: ileonard@cc.uoi.gr*

Η ιχθυοπανίδα των εσωτερικών υδάτων της Ελλάδας περιλαμβάνει περίπου 135 είδη. Η κατανομή και η προέλευση αυτών, ιδιαίτερα των ενδημικών, αποδίδεται κυρίως στη γεωλογική ιστορία της χώρας. Στην παρούσα έρευνα, αναφέρεται η ανάλυση των πληθυσμών των ψαριών των εσωτερικών υδάτων της Ελλάδας, στα ποτάμια και λίμνες της ηπειρωτικής περιοχής. Η συλλογή των δεδομένων για τη μελέτη των ιστορικών σχέσεων έγινε μετά από παρακολούθηση των οικοσυστημάτων καθώς και από την χρήση βιβλιογραφικών αναφορών, επιστημονικών άρθρων και εργασιών και με την βοήθεια του διαδικτύου χρησιμοποιώντας ειδικές βάσεις δεδομένων (FISHBASE). Χρησιμοποιήθηκαν τα υπολογιστικά προγράμματα WINCLADA V 1.0. και NONA. Από την ανάλυση της κατανομής της ιχθυοπανίδας των ποταμών της Ελλάδος προέκυψαν 16 φειδωλά δένδρα, το καθένα με μήκος 163, με δείκτη συνάφειας $CI=57$ και με δείκτη συνοχής $RI=62$, ενώ όσο αφορά τις λίμνες προέκυψαν 3 πιθανά φειδωλά δένδρα μήκους 89, με δείκτη συνάφειας $CI=68$ και με δείκτη συνοχής $RI=62$. Από τα κλαδογράμματα των περιοχών παρατηρείται ο διαχωρισμός των εσωτερικών υδάτων σε δυο ομάδες. Η πρώτη περιλαμβάνει τα υδάτινα οικοσυστήματα της Θεσσαλίας, της Μακεδονίας και της Θράκης και η δεύτερη αυτά της Δυτικής Ελλάδας, της Στερεάς Ελλάδας και της Πελοποννήσου. Το φυσικό φράγμα που δημιουργεί τον διαχωρισμό ανάμεσα στην Δυτική Ελλάδα με την Θεσσαλία, την Μακεδονία και την Θράκη, είναι η οροσειρά της Πίνδου. Η γεωγραφική αυτή γραμμή καθορίζει τα όρια μεταξύ των βιογεωγραφικών περιοχών.

FISH FAUNA OF GREECE: A PHYLOGENETIC APPROACH THROUGH CLADISTIC

Liouisia V.¹, Georgiadou P.¹, Leonardos I.D.¹

¹Laboratory of Zoology, Department of Biological Application and Technology, University of Ioannina, 45500, Ioannina, E-mail: ileonard@cc.uoi.gr

Fish Fauna of Greek freshwater consists of 135 species. The distribution and origin of these species is mainly attributed to the geological history of Greece. The aim of the present study is to determine the fish fauna in the whole region of Greek freshwater, including rivers and lakes of mainland. Data collection was carried out with the use of our data, literature, scientific papers and reviews and electronic data bases such as FISHBASE. Analysis was carried out with the use of WINCLADA V 1.0. and NONA. The study of fish fauna in rivers and lakes resulted in 16 and 3 parsimonious trees (CI=57; RI=57, CI=68; RI=62) respectively. Cladistic analysis revealed the presence of two distinct groups of greek freshwaters. The first group consists of water ecosystems of Thessaly, Marcedonia and Thrace. The second group consists of the ecosystems of Western and Central Greece and Peloponnese. The natural barrier of Western and Eastern (Macedonia, Thrace and Thessaly) is the mountain range of Pindos. This barrier defines the biogeographical ranges.

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΣΤΟ ΑΙΜΑ
ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΑΤΟΙΚΩΝ ΤΗΣ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥΣ
ΜΕ ΤΗΝ ΗΛΙΚΙΑ**

**Λυμπεράκη Ε.¹, Ελευθερίου Φ.², Μακρή Σ.¹, Μαυροπούλου Γ.¹, Κεσίδου Σ.¹,
Πέτρου Χ.¹**

¹Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων, Σχολή Επαγγελματιών Υγείας και Πρόνοιας, Αλεξάνδρειο
Τεχνολογικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη. E-mail: felefthe@pharm.auth.gr

²Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας, Φαρμακευτική Σχολή, Α. Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Οι ελεύθερες ρίζες αποτελούν φυσιολογικό αποτέλεσμα διαφόρων λειτουργιών του ανθρώπινου οργανισμού όπως ο αερόβιος μεταβολισμός. Ωστόσο, μπορεί να προκύψουν ως αποτέλεσμα της επίπτωσης εξωγενών παραγόντων που προέρχονται από τη διατροφή ή την περιβαλλοντική ρύπανση. Επιπρόσθετα, ελεύθερες ρίζες δημιουργούνται κατά τη διαδικασία μεταβολισμού και απέκκρισης ξενοβιοτικών. Ο οργανισμός προστατεύεται από τις ελεύθερες ρίζες μέσω ενός συστήματος που περιλαμβάνει έναν αριθμό ενδογενών αντιοξειδωτικών παραγόντων καθώς και ειδικά ένζυμα. Εξαιτίας της καταστροφής που μπορεί να προκληθεί από τη δράση των ελευθέρων ριζών σε διάφορα βιομόρια όπως λιπίδια, πρωτεΐνες και νουκλεϊνικά οξέα, οι ελεύθερες ρίζες θεωρούνται υπεύθυνες για την παθολόγηση διαφόρων ασθενειών. Σ' αυτές περιλαμβάνονται ο καρκίνος, η νόσος Alzheimer, η αρθρίτιδα, η αρτηριοσκλήρυνση και καρδιαγγειακές νόσοι. Τα επίπεδα αντιοξειδωτικών στο αίμα μπορούν να θεωρηθούν ως μέτρο της αντιοξειδωτικής ικανότητας του οργανισμού. Ως εκ τούτου, πολλοί ερευνητές προσπάθησαν να συνδέσουν τα επίπεδα αυτά με διάφορες παθολογικές καταστάσεις. Δεν είναι σαφές αν τα χαμηλά επίπεδα αντιοξειδωτικών που παρατηρούνται σε ορισμένες περιπτώσεις αποτελούν παράγοντα έναρξης και εξέλιξης της νόσου ή είναι αποτέλεσμα αυτής. Έχει διαπιστωθεί ότι υψηλές συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικών ενισχύουν την άμυνα του οργανισμού ενάντια σε ορισμένες παθήσεις και η χορήγηση αντιοξειδωτικών προτείνεται ως μέρος της θεραπείας κάποιων νόσων. Από την άλλη πλευρά, τα επίπεδα αντιοξειδωτικών θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως ένας επιπλέον δείκτης για την πρόγνωση και διάγνωση ορισμένων παθολογικών καταστάσεων. Στην παρούσα εργασία, προσδιορίστηκε η συγκέντρωση ολικών αντιοξειδωτικών στον ορό 84 αρσενικών και θηλυκών κατοίκων της Θεσσαλονίκης και έγινε συσχέτιση των επιπέδων αντιοξειδωτικών με την ηλικία. Για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του ορού προσδιορίστηκε η επίδραση της προσθήκης 10 μl ορού στην οξείδωση του 2,2'-αζινο-δις(3-αιθυλβενζοθειαζόλινο)-6-σουλφονικού οξέος από το σύστημα ferryl μωσοφαιρίνης-H₂O₂. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε το trolox που αποτελεί υδατοδιαλυτό ανάλογο της βιταμίνης E. Η συγκέντρωση αντιοξειδωτικών εκφράστηκε ως ισοδύναμα trolox. Παρατηρήθηκε αύξηση των ολικών αντιοξειδωτικών στον ορό ατόμων μεγαλύτερης ηλικίας. Ειδικότερα, στην ηλικιακή ομάδα των 40-85 ετών παρατηρήθηκε αυξημένη συγκέντρωση αντιοξειδωτικών κατά 83 % σε σχέση με την ηλικιακή ομάδα των 18-30 ετών (p=0.000). Ανάλογη παρατήρηση έχει αναφερθεί, ως δευτερεύων συμπέρασμα, σε λίγες περιπτώσεις άλλων ερευνών που είχαν στόχο την διερεύνηση της επίπτωσης της διατροφής, άσκησης και ορισμένων τύπων καρκίνου στα επίπεδα αντιοξειδωτικών στο αίμα. Η κακή διατροφή των νέων, το παθητικό κάπνισμα, ο ελλιπής και άτακτος ύπνος και τα αυξημένα επίπεδα ορμονών φύλου πιθανόν να εξηγούν την παρατηρούμενη διαφορά.

CORRELATION OF SERUM ANTIOXIDANT LEVELS WITH AGE IN A SAMPLE OF THESSALONIKI RESIDENTS

Lyberaki E.¹, Eleftheriou F.², Makri S.¹, Mavropoulou G.¹, Kesidou S.¹, Petrou Ch.¹

¹Department of Medical Laboratory Studies, School of Health and Care Professions, Alexandrion Technological Education Institute of Thessaloniki, Greece

²Department of Pharmaceutical Chemistry, School of Pharmacy, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece E-mail: felefthe@pharm.auth.gr

Free radicals are produced in human organism via the normal aerobic metabolism or as a result of the effect of food ingredients or pollutants with oxidative capacity. Besides, free radicals are formed during metabolism and excretion of certain xenobiotics. The organism's system to counteract free radicals and reduce the damage they cause includes a number of endogenous molecules and specific enzymes. Since, free radicals can cause damage to lipids, proteins and DNA, they are thought to be involved in the pathogenesis of various diseases. Cancer, Alzheimer's disease, arthritis, atherosclerosis and heart diseases are associated with oxidative damage. As, blood antioxidant levels reflect the organism's antioxidant capacity, many investigations tried to correlate these levels with certain diseases. However, it is not clear if the low blood levels observed were responsible for the initiation and progress of the disease or are a result of it. High concentration of blood antioxidants seems to increase organism's defence against certain diseases and treatment with antioxidants is often proposed as part of the therapy. On the other hand, antioxidant levels may be used as a diagnosis or prognosis indicator in some cases. In the present study, the level of total blood antioxidants was measured in blood serum of 84 male and female residents of Thessaloniki and a correlation of blood antioxidant concentration with age was done. Antioxidant activity was estimated by the influence of 10 µl of serum in oxidation of 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid by the ferryl myoglobin-H₂O₂ system. Trolox, the water soluble analogue of vitamin E, was used as control. Antioxidant concentration was expressed as trolox equivalents. Surprisingly, increased concentration of total serum antioxidants was found in older individuals. An 83 % elevation was observed in the group with ages varying between 40 and 85 years compared to a group of students with ages ranging between 18 and 30 years old (p=0.000). An increase in antioxidant capacity with age has been mentioned by other scientists, as a secondary observation, in a few researches trying to correlate antioxidant levels with diet and exercise or certain cancer types. Malnutrition, stress, passive smoking, reduced and unstable sleep period in combination with high levels of sex hormones which are known to be related with active radical formation may explain this observation.

References

1. Kai Tanabe, Kazumi Masuda, Ryuichi Ajisaka, Mitsuko Matsuda, Aki Hirayama, Sohji Nagase, Ichiro Kono, Shinya Kuno. International Journal of Sport and Health Science (2006) 4, 515-527.
2. A.V. Marusin, V.B. Salyukov, E. Yu Bragina. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 5 (2002) ONCOLOGY.
3. Rice-Evans, C.A. Free Radic. Res. 33 Suppl. (2000) S59-66.

ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΚΑΙ ΚΥΑΝΟΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΣΕ ΔΕΞΑΜΕΝΗ ΠΟΣΙΜΟΥ ΝΕΡΟΥ

Λυμπεροπούλου Δ.Σ.¹, Αρμάου Φ.¹, Κορμάς Κ.Α.², Καραγκούνη Α.Δ.¹

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, Ομάδα Μικροβιολογίας,
15781 Αθήνα. E-mail: akar@biol.uoa.gr

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, 38446 Νέα
Ιωνία. E-mail: kkormas@uth.gr

Η χρήση μοριακών τεχνικών για τη μελέτη πολύπλοκων φυσικών οικοσυστημάτων έχει κορυφωθεί τα τελευταία χρόνια, δεδομένης της αδυναμίας συσχέτισης της καλλιεργήσιμης και της *in situ* ποικιλότητας. Σκοπός αυτής της μελέτης ήταν η διερεύνηση της προκαρυωτικής ποικιλότητας, με ιδιαίτερη έμφαση στην παρουσία των κυανοβακτηρίων στη Λίμνη του Μαραθώνα, η οποία αποτελεί κύρια δεξαμενή πόσιμου νερού για την πόλη της Αθήνας. Το βακτηριακό 16S rDNA ενισχύθηκε με τα εκκινητικά μόρια BAC-8F και BAC-1390R, ενώ για τα κυανοβακτήρια, η ενίσχυση του 16S rDNA έγινε με εξειδικευμένα για αυτήν την ομάδα εκκινητικά μόρια. Τα προϊόντα της αντίδρασης PCR κλωνοποιήθηκαν και για κάθε θέση δειγματοληψίας αναλύθηκε ένας αντιπροσωπευτικός της εν λόγω θέσης ποικιλότητας αριθμός κλώνων. Οι αλληλουχίες που προέκυψαν ταξινομήθηκαν χρησιμοποιώντας το λογισμικό ARB και στοιχήθηκαν με αλληλουχίες κατατεθειμένες στις τράπεζες ARB και GenBank. Τέλος, κατασκευάστηκαν φυλογενετικά δέντρα. Οι αλληλουχίες των βακτηριακών κλώνων αντιπροσωπεύουν κυρίως τις ομάδες των α - και γ -πρωτεοβακτηρίων. Όσον αφορά τους φυλότυπους των κυανοβακτηρίων, οι περισσότεροι από αυτούς ήταν κοινοί σε όλες τις θέσεις δειγματοληψίας και συσχετίστηκαν με την οικογένεια των Chroococcales. Οι υπόλοιποι φυλότυποι δεν παρουσίασαν συγγένεια με κάποιο συγκεκριμένο γνωστό φύλο. Η Λίμνη του Μαραθώνα παρουσίασε υψηλή ποικιλότητα κλώνων ετερότροφων βακτηρίων και κυανοβακτηρίων, οι οποίοι όμως αντιπροσωπεύουν σχετικά μικρό αριθμό διαφορετικών φύλων. Ωστόσο, η παρουσία κάποιων κλώνων, τόσο ετερότροφων βακτηρίων, όσο και κυανοβακτηρίων σε όλο το εύρος της λίμνης, υποδεικνύει την απουσία διαφορετικών μικροενδιαιτημάτων σε αυτή.

CHARACTERIZATION OF THE DIVERSITY OF BACTERIAL AND CYANOBACTERIAL PHYLOTYPES IN A LARGE DRINKING WATER RESERVOIR

Lymperopoulou D.S.¹, Armaou F.¹, Kormas K.A.², Karagouni A.D.¹

¹Microbiology Group, Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, 15781
Athens, Greece. E-mail: akar@biol.uoa.gr

²Department of Ichthyology & Aquatic Environment, University of Thessaly, 38446 Nea Ionia,
Greece. E-mail: kkormas@uth.gr

Over the past years, the use of culture-independent molecular approaches in complex natural environments has been increased, since there is a disparity between culturable and *in situ* diversity. The aim of this study was to investigate the prokaryotic diversity, with special emphasis on the contribution of cyanobacteria, in different sites of the Lake Marathonas, Greece, a major drinking water reservoir for the city of Athens. Bacterial 16S rDNA was amplified using the bacterial primers BAC-8F and BAC-1390R. For cyanobacteria 16S rDNA amplification, the cyanobacteria-specific primers CYA-359F and CYA-781R were used. The PCR products were cloned using the TOPO XL system. A representative number of clones were analyzed for each sampling site. Sequence data were compiled using the ARB software and aligned with sequences obtained from the ARB and GenBank and phylogenetic trees were constructed. Sequence data of the bacterial clones fell mainly into the class of α - and γ -Proteobacteria. In terms of the cyanobacterial phylotypes, most of them were found in all sampling sites and they were related to the Chroococcales, with putative affiliations to the genus *Gloeocapsa* and the species *Microcystis aeruginosa*. The rest of the cyanobacterial phylotypes were unaffiliated. Lake Marathonas exhibited high diversity of heterotrophic bacteria and cyano-bacterial clones representing comparatively few different taxa. However, some bacterial and cyanobacterial sequences were present in all sampling sites, designating the lack of different microhabitats within the lake

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΠΙΘΑΝΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ T/C ΤΟΥ ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ CYP17 ΜΕ ΑΥΤΟΜΑΤΕΣ ΑΠΟΒΟΛΕΣ

Λυτρίδης Ι.¹, Καπνουλάς Ν.¹, Φλορεντίν-Αραρ Λ.², Λάμνησου Κ.¹

¹Τομέας Γενετικής & Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,

²A Lab Κέντρο Μοριακής Βιολογίας, & Κυτταρογενετικής, Ιατρικό Ινστιτούτο Έρευνας και
διάγνωσης, Αθήνα

Το γονίδιο CYP17 κωδικοποιεί για το ένζυμο του κυτοχρώματος P450c17a, το οποίο συμμετέχει στο μεταβολικό μονοπάτι των στεροειδών ορμονών. Ο πολυμορφισμός T/C του υποκινητή του γονιδίου αυτού έχει δειχθεί ότι συνδέεται με αυξημένα επίπεδα οιστρογόνων και ανδρογόνων στο ορό του αίματος. Στην παρούσα εργασία, διερευνήσαμε την πιθανή συσχέτιση του πολυμορφισμού αυτού του γονιδίου CYP17 με αυτόματες αποβολές σε γυναίκες από τον ελληνικό πληθυσμό. Για την μελέτη χρησιμοποιήσαμε 82 γυναίκες με ιστορικό τουλάχιστον δύο αυτόματων αποβολών πριν από την 20η εβδομάδα της κύησης και για την ομάδα ελέγχου 85 γυναίκες με δύο παιδιά χωρίς ιστορικό αποβολών. Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε ήταν: απομόνωση DNA, εφαρμογή της μεθόδου PCR-RFLP και καταγραφή των γονοτύπων των ατόμων. Οι συχνότητες των αλληλομόρφων A1 και A2 για τους δύο πληθυσμούς ήταν: 0.595 και 0.404, αντίστοιχα, για τους ασθενείς και 0.524 και 0.476 για την ομάδα ελέγχου. Ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συχνοτήτων των γονοτύπων και των γονιδίων ανάμεσα στις ασθενείς και στις υγιείς γυναίκες. Η μελέτη συνεχίζεται αλλά τα μέχρι τώρα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι η παρουσία του αλληλομόρφου A2 (C) του πολυμορφισμού T/C του υποκινητή του γονιδίου CYP17 δεν αποτελεί παράγοντα ρίσκου για αυτόματες αποβολές.

Η παρούσα εργασία χρηματοδοτήθηκε από τον ΕΛΚΕ του Πανεπιστημίου Αθηνών.

STUDY FOR ASSOCIATION OF THE T/ C POLYMORPHISM OF THE PROMOTER OF THE CYP17 GENE WITH RECURRENT SPONTANEOUS ABORTIONS

Litridis I.¹ Kapnoulas N.¹, Florentin-Arar L.², Lamnissou K.¹

¹Dept of Genetics and Biotechnology, Faculty of Biology, University of Athens, Greece

² A Lab Molecular Biology and Cytogenetic Center, Medical Institute of Research and Diagnosis, Athens, Greece

The CYP17 gene encodes the enzyme cytochrome P450c17 α , which functions at key steps in the genesis of human sex steroid hormones. A T/ C polymorphism in the 5' promoter region of the CYP17 gene has been described. Serum levels of androgens and estrogens have been shown to be elevated in individuals who carry the C substitution (A2 allele). In the present study, we investigated the possible association between the T/C polymorphism of the promoter of CYP17 gene on risk of recurrent spontaneous abortions (RSA). In the prospective case-control study, 82 patients with RSA and 85 women with at least two live births were studied. To genotype the subjects we used the PCR-RFLP method. The allele frequencies for A1 and A2 were 0.595 and 0.404, respectively in the patient group and 0.524 and 0.476, respectively, in the control group. The data between the two groups were analyzed by chi-square test. Our results showed that there are no patient/control significant differences and suggest that in our population there is no association of the T/ C promoter polymorphism of the CYP17 gene with the risk of RSA.

This work was supported by grant from the Special Research Account of Athens University.

ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΣΤΟΝ ΟΡΟ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΚΑΛΟΗΘΗ ΚΑΙ ΚΑΚΟΗΘΗ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΑ

Μακρή Σ.¹, Ελευθερίου Φ.², Λυμπεράκη Ε.¹, Πρίτσα Α.³, Περσίδου Ε.³, Αποστολίδου Β.¹, Μαναρόλια Μ.¹, Σερασίδου Α.⁴, Πέτρου Χ.¹

¹Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων, Σχολή Επαγγελματιών Υγείας και Πρόνοιας, Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα. patsalas@med.auth.gr

²Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας, Φαρμακευτική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη. ³Νοσοκομείο Παπαγεωργίου, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

⁴Πανεπιστημιακή Νευροχειρουργική Κλινική Νοσοκομείου ΑΧΕΠΑ, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

Οι ελεύθερες ρίζες που παράγονται στον ανθρώπινο οργανισμό μέσω του φυσιολογικού αεροβικού μεταβολισμού ή ως αποτέλεσμα της επίδρασης ποικίλων ενδογενών ή εξωγενών παραγόντων, παρουσιάζουν εξαιρετικά υψηλή δραστηριότητα που μπορεί να προκαλέσει σοβαρή βλάβη σε λιπίδια, πρωτείνες και γενετικό υλικό (DNA). Εξ αιτίας αυτού φαίνεται να εμπλέκονται στην παθογένεση ποικίλων νοσημάτων όπως: κακοήθη νοσήματα, νόσος του Alzheimer, φλεγμονώδεις παθήσεις των αρθρώσεων, αθηρωμάτωση των αγγείων και καρδιοπάθειες. Το σύστημα που διαθέτει ο οργανισμός για την αντιμετώπιση των ελεύθερων ριζών περιλαμβάνει ενδογενή μόρια με αντιοξειδωτική δράση καθώς και ειδικά ένζυμα. Καθόσον τα επίπεδα αντιοξειδωτικών στο αίμα εκφράζουν τη συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού, αρκετοί ερευνητές προσπάθησαν να συσχετίσουν τα επίπεδα αυτά με συγκεκριμένες παθήσεις. Εντούτοις δεν είναι σαφές εάν τα χαμηλά επίπεδα των αντιοξειδωτικών ευθύνονται για την έναρξη και την εξέλιξη μιας παθολογικής κατάστασης ή είναι το αποτέλεσμα αυτής. Προηγούμενες ερευνητικές μελέτες έδειξαν ελαττωμένα επίπεδα αντιοξειδωτικών σε ασθενείς με καλοήθεις και κακοήθεις νεοπλασίες. Στη παρούσα μελέτη εκτιμήθηκαν τα επίπεδα ολικών αντιοξειδωτικών στον ορό ασθενών με κακοήθη νεοπλασμάτα του μαστού, του παγκρέατος, του στομάχου, του εντέρου, της ουροδόχου κύστης, του προστάτη, των ωθηκών και της γλοίας καθώς και καλοήθη νεοπλασμάτα όπως: μηνιγγιώματα, υποφυσιακά αδενώματα και νευρινώματα του ακουστικού νεύρου. Για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του ορού προσδιορίστηκε η επίδραση της προσθήκης 10μl ορού στην οξείδωση του 2,2-αζινο-δισ(3-αιθυλβενζοθειαζόλινο)-6- σουλφονικού οξέος από το σύστημα ferryl μιοσφαιρίνης- H₂O₂. Για μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε το trolox, υδατοδιαλυτό ανάλογο της βιταμίνης Ε. Η συγκέντρωση αντιοξειδωτικών εκφράστηκε ως ισοδύναμα trolox. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων έδειξαν χαμηλή αλλά σημαντική ελάττωση των επιπέδων των αντιοξειδωτικών στον ορό ασθενών με καλοήθεις και κακοήθεις νεοπλασματικές εξεργασίες

COMPARATIVE STUDY OF TOTAL PLASMA ANTIOXIDANT LEVELS IN PATIENTS WITH BENIGN AND MALIGNANT NEOPLASMS

Makri S.¹, Eleftheriou Ph.², Lyberaki E.¹, Pritsa A.³, Persidou E.³, Apostolidou V.¹, Manarolia M.¹, Serasidou A.⁴, Petrou Chr.¹

¹*Department of Medical Laboratory Studies, School of Health and Care Professions, Alexandrion Technological Education Institute of Thessaloniki, Greece. patsalas@auth.gr*

²*Department of Pharmaceutical Chemistry, School of Pharmacy, University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece. ³Papageorgiou Hospital, Thessaloniki, Greece. ⁴Neurosurgical Department, AHEPA Hospital, Thessaloniki, Greece.*

Free radicals, produced in human organism via the normal aerobic metabolism or as a result of the effect of various endogenous or exogenous factors, are highly reactive species which can cause serious damage to lipids, proteins and DNA. Due to this, they are thought to be involved in the pathogenesis of various diseases such as cancer, Alzheimer's disease, arthritis, atherosclerosis and heart diseases. The organism's system to counteract free radicals includes a number of endogenous molecules with antioxidant activity and specific enzymes. As, blood antioxidant levels reflect the organism's antioxidant capacity, many investigators tried to correlate these levels with certain diseases. However, it is not clear if the low blood levels observed were responsible for the initiation and progress of the disease or are a result of it. Previous investigations showed reduced antioxidants in many cases of patients with benign and malignant neoplasms. In the present study, we measured total antioxidants level in patients with malignant neoplasms of breast, pancreas, stomach, intestine, bladder, prostate, ovary or benign neoplasias such as glial neoplasms, meningiomas, pituitary adenomas and acoustic neurinomas. Antioxidant activity was estimated by the influence of 10 µl of serum in oxidation of 2,2'-azino-bis(3-ethylbenthiazoline)-6-sulfonic acid by the ferryl myoglobin-H₂O₂ system. Trolox, the water soluble analogue of vitamin E, was used as a control antioxidant. Antioxidant concentration was expressed as trolox equivalents. A low but statistically significant decrease in total serum antioxidant was observed both in malignant and benign neoplasias.

ΕΓΧΡΩΜΑ - ΑΠΟΧΡΩΜΑΤΙΖΟΜΕΝΑ ΑΝΘΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ

Cichorium intybus L

Μαμαρέλη Π., Ριζοπούλου Σ.¹

¹Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη 15784
Αθήνα
E-mail: srhizop@biol.uoa.gr

Η εργασία αυτή αναφέρεται στον αποχρωματισμό των ανθέων, του φυτού *Cichorium intybus* L. (άγριο, πικρό ραδίκι). Η στεφάνη ανοίγει νωρίς το πρωί (06.00-07.00), από τον Ιούνιο ως τον Σεπτέμβριο, εκδηλώνοντας κυανό χρώμα (σπάνιο στο άνυδρο Μεσογειακό τοπίο). Στη συνέχεια της ημέρας, τα πέταλα αποχρωματίζονται σταδιακά και η στεφάνη καταλήγει να φαίνεται υπόλευκη, ύστερα από λίγες ώρες. Δηλαδή, χάνεται το χρώμα των ανθέων, αν και παραμένουν άκοπα (συνδεδεμένα με μίσχους στους βλαστούς του φυτικού σώματος). Πρόκειται για αποχρωματισμένα άνθη, πλέον. Δειγματοληψίες έγιναν σε περιοχές της Αττικής, κατά την περίοδο της άνθισης του φυτικού είδους, στο χρονικό διάστημα 07.00-18.00 και διαπιστώθηκε ότι όσον αφορά στην παράμετρο του χρόνου, ο αποχρωματισμός ποικίλει από βλαστό σε βλαστό. Ακολούθησε σειρά εκχυλίσεων των έγχρωμων πετάλων (διαλύτης: methanol 80%/HCl 1%), μετρήθηκε το φάσμα απορρόφησης (360nm-620nm) και διαπιστώθηκε κορυφή (535nm), υποδεικνύοντας κυανιδίνη. Αξιοσημείωτο είναι το τάχος ελάττωσης της συγκέντρωσης της χρωστικής, καθώς εξασθενεί το κυανό χρώμα των πετάλων. Όσο αποχρωματίζονται τα πέταλα, τόσο ελαττώνονται οι υδατοδιαλυτές χρωστικές. Ο αποχρωματισμός πετάλων, σε ανάλογες συνθήκες, είναι σπάνιος στη φύση και δεν έχει διευκρινιστεί ο μηχανισμός. Φαίνεται ότι αβιοτικοί παράμετροι (όπως η θερμοκρασία, το pH, η ηλιακή ακτινοβολία), αλλά και η συμπεριφορά των επικονιαστών συμβάλλουν στον αποχρωματισμό των πετάλων του *Cichorium intybus*.

COLOURED – DISCOLOURED FLOWERS OF CHICORY

Mamareli P., Rhizopoulou S.¹

¹*Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimioupoli 15784 Athens
E-mail: srhizop@biol.uoa.gr*

We studied the discoloration process of chicory flowers, i.e. flowers from the plant species *Cichorium intybus* L. that grows in sunny areas, during the dry summer. The corolla of the species opens between 06.00 and 07.00 by exhibiting a deep azure colour, which fades gradually to white, within few hours during the day. It is to be noticed that the above mentioned colour is very rare in Mediterranean Basin, during the dry period. However, the colour of the petals gradually disappears, while the corollas remain attached on the plant. The sampling took place during the flowering period (June–September), between 07.00 and 18.00, in the suburbs of Athens. We found that the time of disappearance of the colour varies from plant to plant. Pigments were extracted from the petals (by using methanol 80%/HCl 1%) and the maximum absorbance was detected at 535 nm (spectrometric analysis), indicating the existence of cyanidin. As azure colour fades, the pigment concentration declines; the whiter the flower is, the lower the concentration of pigments is. The causes that lead to the fading of the petal colour are unknown. It seems likely that air temperature, pH, solar radiation and the behaviour of pollinators contribute to the fading of the colour from the petals of *Cichorium intybus*.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΗΣ ΚΑΣΠΑΣΗΣ 8 ΣΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ Τ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ, ΜΕΣΩ ΤΟΥ Τ ΥΠΟΔΟΧΕΑ

Μαντά Α.Κ.^{1,2}, Ευαγγελίδου Μ.¹, Μαργαρίτης Α.Χ.², Probert L.¹

¹Εργαστήριο Μοριακής Γενετικής, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ (ΕΙΠ), Λεωφόρος
Βασιλίσσης Σοφίας 127, 115 21 Αθήνα, Ελλάδα

²Τομέας Βιολογίας Κυττάρων & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστημίου Αθηνών,
Πανεπιστημιούπολη 157 01 Αθήνα, Ελλάδα

Η ενεργοποίηση των Τ λεμφοκυττάρων αποτελεί το κλειδί για μια επιτυχή ανοσολογική αντίδραση και η αποτελεσματικότητά της εξαρτάται από την αλληλεπίδραση Τ υποδοχέα και αντιγόνου, η οποία οδηγεί τελικά στην ενεργοποίηση διαφόρων μεταγραφικών παραγόντων, όπως ο NF-κΒ, και στη διαφοροποιημένη γονιδιακή έκφραση των Τ λεμφοκυττάρων. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι η κασπάση 8, μια εναρκτήριος κασπάση στο αποπτωτικό μονοπάτι, παίζει εξίσου σημαντικό ρόλο και στην ενεργοποίηση των Τ λεμφοκυττάρων. Κατόπιν ενεργοποίησης του Τ υποδοχέα η κασπάση 8 δημιουργεί σύμπλοκο με τα μόρια BCL10 και MALT1 συνεισφέροντας στη στρατολόγησή τους στις λιπιδικές σχεδίες των Τ λεμφοκυττάρων. Το πειραματικό σύστημα που χρησιμοποιήθηκε για την περαιτέρω μελέτη του ρόλου της κασπάσης 8, στηρίζεται στην ταυτόχρονη επιμόλυνση ανθρώπινων καρκινικών λεμφοκυττάρων (Jurkat) με πλασμίδιο αναφοράς για την ενεργότητα του NF-κΒ και πλασμίδια που φέρουν την άγριου τύπου κασπάση 8 ή μεταλλαγμένες μορφές αυτής και κατόπιν διέγερση του συγκεκριμένου μονοπατιού με 4-μεθοξυαμφεταμίνη (PMA) και ιονομυκίνη (ionomycin) για 3 ώρες. Παρατηρήθηκε ότι η υπερέκφραση του άγριου τύπου όπως και της μερικώς αυτοπρωτεολυόμενης p43 μορφής της κασπάσης 8 οδήγησε σε μειωμένη ικανότητα ενεργοποίησης του μεταγραφικού παράγοντα NF-κΒ. Αντιθέτως, η υπερέκφραση της μη αυτοπρωτεολυόμενης p55 μορφής και της ενζυμικώς ανενεργής C360S μορφής της κασπάσης 8 δε διαφοροποίησε την ενεργοποίηση του NF-κΒ. Ο μηχανισμός με τον οποίο η άγριου τύπου και η p43 μορφή της κασπάσης 8 μειώνουν την ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NF-κΒ μέσω του Τ υποδοχέα χρίζει περαιτέρω διερεύνησης.

STUDY OF THE ROLE OF CASPASE 8 IN TCR SIGNALING

Manta A.K.^{1,2}, Evangelidou M.¹, Margaritis L.H.², Probert L.¹

¹*Laboratory of Molecular Genetics, Hellenic Pasteur Institute, 127 Vasilissis Sofias Avenue, 115 21 Athens, Greece.*

²*Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology, Kapodistrian Athens University, Panepistemiopolis 15701 Athens, Greece*

The activation of T lymphocytes is an essential event for the efficient response of the immune system. It requires the interaction between a foreign antigen and the T cell receptor (TCR), which finally leads to the activation of several transcription factors such as NF- κ B and altered gene expression in the T lymphocyte. Recently it has been shown that caspase-8, an apical caspase in apoptosis signalling, also has an essential role in lymphocyte activation. After TCR activation, it nucleates a complex with B cell lymphoma 10 (BCL10) and paracaspase MALT1 and contributes to the recruitment of these molecules to the lipid rafts of T cells. To further characterize the function of caspase-8, human Jurkat T-cells were cotransfected with an NF- κ B promoter-luciferase reporter plasmid and plasmids carrying wild-type or mutant caspase 8 DNA, and activated with PMA/ ionomycin for 3 hours. The overexpression of wild-type caspase 8 or a p43 truncated mutant resulted in decreased TCR-induced NF- κ B activity while overexpression of p55 uncleavable or C360S protease-deficient mutants did not alter NF- κ B activity. The mechanism by which wild-type and p43 mutant caspase 8 reduce TCR-induced NF- κ B activity remains to be investigated.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΩΝ ΠΟΥΡΙΝΗΣ ΚΑΙ ΠΥΡΙΜΙΔΙΝΗΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΤΙΚΩΝ ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΤΟΥΣ ΣΤΗΝ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗ ΤΗΣ ΠΟΛΥ(Α) ΟΥΡΑΣ

Μαραγκοζίδης Π., Αναστασάκης Δ., Μαντά Σ., Λεβέντη Δ., Κομιώτης Δ., Μπαλατσός Ν.Α.Α., Σταθόπουλος Κ.

*Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας,
Πλούτωνος 26, 412 21 Λάρισα. E-mail: cstath@bio.uth.gr*

Τα ώριμα mRNAs των ευκαρυωτικών κυττάρων δημιουργούνται από μακρύτερα πρόδρομα μόρια με μια σειρά διεργασιών, όπως η προσθήκη του καλύμματος στο 5'-άκρο, το μάτισμα και η προσθήκη της πολυ(Α) ουράς στο 3'-άκρο. Η αποικοδόμηση των mRNAs ξεκινά συνήθως με τη βράχυνση της πολυ(Α) ουράς. Ένα ένζυμο-κλειδί σε αυτή τη διεργασία της βράχυνσης είναι η πολυ(Α)-εξειδικευμένη ριβονουκλεάση, PARN, τη δραστικότητα της οποίας βοηθά η παρουσία του καλύμματος στο 5'-άκρο. Έχουν προταθεί πολλές στρατηγικές για τη ρύθμιση του ενζύμου, όμως ελάχιστα είναι γνωστά για την επίδραση μικρών μορίων, όπως τα νουκλεοτίδια, στη δραστικότητά του. Σε προηγούμενη ανακοίνωσή μας δείξαμε πως τα νουκλεοτίδια πουρινών αναστέλλουν το ένζυμο, αναλύσαμε κινητικά το είδος της αναστολής και μελετήσαμε το ρόλο των Mg²⁺ στην αντίδραση. Στην παρούσα εργασία επεκτείναμε την προηγούμενη ανάλυση εξετάζοντας την πιθανή δράση νουκλεοτιδίων κυτοσίνης. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν πως και τα νουκλεοτίδια αυτά μπορούν να αναστείλλουν αποτελεσματικά την PARN και προχωρήσαμε σε κινητική ανάλυση για να προσδιορισθεί το είδος της αναστολής. Επιπλέον, συνθέσαμε και χρησιμοποιήσαμε μια σειρά αναλόγων νουκλεοσιδίων πουρίνης και πυριμιδίνης που φέρουν τροποποιήσεις στο σάκχαρο και στη βάση. Ειδικότερα, φέρουν εξαμελή δακτύλιο ως σάκχαρο και η αμινομάδα της βάσης τροποποιήθηκε με προσθήκη βενζόυλ-ομάδας. Ενώσεις με τις τροποποιήσεις αυτές έχουν αναφερθεί να εκδηλώνουν αντικαρκινική δράση. Δύο από αυτές τις ενώσεις, μία με τροποποιημένη αδενίνη και μία με τροποποιημένη κυτοσίνη μειώσανε αποτελεσματικά τη δραστικότητα της PARN. Οι ενώσεις των εξαμελών δακτυλίων ή τα νουκλεοσίδια χωρίς την βενζόυλ-ομάδα είχαν ασθενέστερη ή και καμιά επίδραση στο ένζυμο. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι η δραστικότητα της PARN μπορεί να ελεγχθεί από φυσικά νουκλεοτίδια *in vitro*, και υπαινίσσονται έναν απλό μηχανισμό ρύθμισης της αποικοδόμησης της πολυ(Α) ουράς. Επιπλέον, τα ανάλογα νουκλεοσιδίων που εξετάστηκαν στην εργασία μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αρχικές ενώσεις για ανάπτυξη νέων ενώσεων που θα μπορούν να ρυθμίζουν την PARN.

**EFFECT OF PURINE AND PYRIMIDINE NUCLEOTIDES AND THEIR
SYNTHETIC ANALOGUES ON POLY(A) TAIL DEGRADATION**

**Maragozidis P., Anastasakis D., Manta S., Levendi D., Komiotis D.,
Balatsos N.A.A., Stathopoulos C.**

*Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly,
26 Ploutonos st., 412 21 Larissa, Greece. E-mail: cstath@bio.uth.gr*

Mature eukaryotic messenger RNAs are generated from larger precursors, by a series of processing steps, i.e. capping, splicing and polyadenylation. mRNA degradation usually begins with the shortening of poly(A) tail. Poly(A)-specific ribonuclease, PARN, is a key enzyme in this process: it is a poly(A)-specific and cap-interacting 3'-exoribonuclease that efficiently degrades mRNA poly(A) tails. Many strategies have been proposed for the regulation of PARN activity, but very few is known about the modulation of PARN activity by small molecule effectors, such as nucleotides. We have previously announced that purine nucleotides inhibit PARN, we studied and we have examined the role of Mg²⁺ on the inhibition. In this work, we extended our analysis to cytosine nucleotides and they could effectively inhibit PARN. We further synthesized and used modified nucleoside analogues that bear a six-membered ring carbohydrate moiety and purine or pyrimidine modified on the amine with a benzoyl-group. These compounds have known anti-tumor growth effects. Two of the modified nucleosides tested, one with modified adenine and one with modified cytosine could effectively inhibit PARN activity. The six-membered sugar ring compound alone, or the nucleosides lacking the benzoyl-modified purine or pyrimidine had weaker or no effect on the enzyme. Our data imply that PARN activity can be modulated by natural nucleotides *in vitro*, thus providing a simple regulatory mechanism of poly(A) tail degradation. Moreover, the analogues used in this work can serve as leading compounds for the development of novel regulators of PARN.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΞΩΓΕΝΟΥΣ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΣΙΔΗΡΟΥ ΣΤΗΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΣΠΛΑΓΧΝΙΚΗ ΛΕΪΣΜΑΝΙΑΣΗ

Μαργαρώνη Μ.¹, Ντότσικα Ε.¹, Σωτηριάδου Κ.², Καραγκούνη Ε.¹

¹Εργαστήριο Κυτταρικής Ανοσολογίας, Τμήμα Μικροβιολογίας,, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Βασ. Σοφίας 127, 115 21 Αθήνα. E-mail: ekaragouni@pasteur.gr

²Εργαστήριο Μοριακής Παρασιτολογίας, Τμήμα Μικροβιολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Βασ. Σοφίας 127, 115 21 Αθήνα

Τα παράσιτα του γένους *Leishmania* είναι διμορφικοί μικροοργανισμοί, οι οποίοι χρησιμοποιούν ιόντα Fe⁺⁺ του ξενιστή τους για την ανάπτυξή τους. Η πρόσληψη αυτή από τα παράσιτα επιτυγχάνεται μέσω ειδικού υποδοχέα, του TfR, ενώ προσθήκη χηλωτών σιδήρου σε *in vitro* καλλιέργειες της προμαστιγωτής μορφής αναστέλλει την ανάπτυξή τους. Παρόλα αυτά, *in vivo* χορήγηση σιδήρου σε πειραματικά μοντέλα ευαίσθητων, στη δερματική λείσμανίαση, ποντικών έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση των αλλοιώσεων και τη μεταστροφή του ανοσοφαινότυπου των ζώων προς τον Th1-τύπο, ικανό για την επαγωγή προστασίας. Αντικείμενο αυτής της εργασίας ήταν η διερεύνηση του «προστατευτικού» ρόλου του σιδήρου στο πειραματικό μοντέλο της σπλαγχνικής λείσμανίασης. Για το σκοπό αυτό χορηγήθηκε σίδηρος με τη μορφή δεξτράνης σε BALB/c ποντικούς που μολύνθηκαν με το παράσιτο *L. infantum*, υπεύθυνο για την ανάπτυξη σπλαγχνικής λείσμανίασης στις χώρες της Μεσογείου. Προσδιορισμός του παρασιτικού φορτίου σε δύο όργανα-στόχους της *L. infantum*, το ήπαρ και το σπλήνα, έδειξε σημαντική μείωση έως και απαλοιφή του παρασίτου, αντίστοιχα, από τον 1^ο έως και τον 4^ο μήνα μετά τη μόλυνση. Ανάλυση των ανοσολογικών αποκρίσεων που αναπτύχθηκαν στα μολυσμένα ζώα επιβεβαίωσε την επαγωγή μιας μικτής Th1/Th2 απόκρισης. Επιπλέον, στα ζώα που έλαβαν σίδηρο διαπιστώθηκαν α) ελαφρώς υψηλότερα επίπεδα IgG2a αντι-*Leishmania* αντισωμάτων στον ορό β) μεγαλύτερη παραγωγή IL-12 και γ) μικρότερη παραγωγή IL-4 και IL-10 σε σχέση με τα ζώα της ομάδας ελέγχου. Τα αποτελέσματα αυτά αντανάκλουν ενίσχυση της Th1-τύπου απόκρισης έναντι της Th2, και εξηγούν, ενδεχομένως, τη μείωση του παρασιτικού φορτίου μέσω μιας T-εξαρθώμενης ενεργοποίησης των μακροφάγων. Υπό διερεύνηση βρίσκεται ο ρόλος της οξειδωτικής έκρηξης που πιθανώς αιτιολογεί τη μείωση του παρασιτικού φορτίου, στα ζώα στα οποία χορηγήθηκε σίδηρος. Επομένως, η χορήγηση σιδήρου θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί κατά τη θεραπεία της λείσμανίασης σε συνδυασμό με άλλα θεραπευτικά σκευάσματα, υπόθεση η οποία διερευνάται.

EFFECT OF EXOGENOUSLY DELIVERED IRON ON EXPERIMENTAL VISCERAL LEISHMANIASIS

Margaroni M.¹, Dotsika E.¹, Soteriadou K.², Karagouni E.¹

¹ Laboratory of Cellular Immunology, Department of Microbiology, Hellenic Pasteur Institute, 127 Vas. Sofias av. 115 21 Athens, Greece. E-mail: ekaragouni@pasteur.gr

² Laboratory of Molecular Parasitology, Department of Microbiology, Hellenic Pasteur Institute, 127 Vas. Sofias av. 115 21 Athens, Greece

Parasites of the genus *Leishmania* are dimorphic microorganisms, which use their middle or final host's nutrients, including Fe⁺⁺, for their own benefit. Fe⁺⁺ ions are transferred to the cells via a special receptor, TfR, while iron chelators inhibit promastigote growth *in vitro*. However, *in vivo* administration of iron to mice models, which are susceptible to cutaneous leishmaniasis resulted in reduction of lesions and redirection of the immune response towards T_H1 type, capable of inducing protection. The aim of the present study was to investigate the "protective" role of iron in experimental visceral leishmaniasis. For that reason, iron dextran was administered to BALB/c mice experimentally infected with *L. infantum* (zymodeme MON-1). This strain is responsible for causing visceral leishmaniasis to humans and dogs in Mediterranean countries. The parasitic load was assessed in two main target-organs of *L. infantum* (spleen and liver). Specifically, significant reduction was found in the spleen only four months post infection, while total elimination of the parasite was detected much earlier in the liver (one month post infection). Monitoring the immune response in infected mice confirmed the induction of mixed T_H1/T_H2 response. Moreover, compared to control group animals (infected mice), the iron-loaded mice group gave a) higher levels of IgG2a antibodies in serum, b) higher numbers of IL-12 producing macrophages/dendritic cells and c) lower numbers of CD4⁺ T-cells, which produce IL-4 and IL-10. These results reflect the enhancement of T_H1 versus T_H2 type immune response and, possibly, explain the parasitic load reduction through an T-dependent activation of macrophages. Whether the presence of *Leishmania* in iron-loaded mice is associated with a NADPH oxidase-mediated oxidative burst of leucocytes is currently under investigation. Thus, iron administration, perhaps combined with other therapeutic schemes, could be used for treating leishmaniasis.

**Η ΠΡΟΘΥΜΟΣΙΝΗ α ΕΝΙΣΧΥΕΙ *IN VITRO* ΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΗ
ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΩΝ ΑΠΟ ΑΣΚΙΤΙΚΟ
ΥΓΡΟ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΩΝ ΩΟΘΗΚΩΝ**

**Μαυροθαλασσίτη Η.^{1*}, Ευαγγελινός Ν.^{1,3*}, Τσιατάς Μ.², Κατσιλά Θ.¹,
Πισταμαλτζιάν Ν.², Λιάκου Χ.², Μπάμιας Α.², Τσιτσιλώνη Ο.¹**

¹Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ²Θεραπευτική Κλινική, Νοσ.
«Αλεξάνδρα», Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ, ³Υπότροφος του ΙΚΥ, *Ισότιμη συμμετοχή

Ο καρκίνος των ωοθηκών διαγιγνώσκεται σε προχωρημένα στάδια, έχει αυξημένη πιθανότητα υποτροπών και χαμηλά ποσοστά επιβίωσης. Άρα, η *in vitro* και η *in vivo* ενεργοποίηση κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων με διαλυτούς ανοσοτροποποιητές παρουσιάζει ενδιαφέρον για την παράταση της επιβίωσης των ασθενών. Η προθυμοσίνη α (προΤα) και το πεπτίδιο προΤα(100-109) επιδρούν ανοσορρυθμιστικά σε κύτταρα της φυσικής και ειδικής ανοσίας. Σκοπός ήταν να ελέγξουμε την ικανότητά τους να ενεργοποιούν *in vitro* λεμφοκύτταρα από ασκίτικο υγρό ασθενών με καρκίνο των ωοθηκών. Τα κύτταρα καλλιεργήθηκαν σε MLTC για 7-21 ημέρες παρουσία IL-2, προΤα ή του προΤα(100-109). Η επανενεργοποίηση των MLTC έγινε ανά εβδομάδα με αυτόλογα καρκινικά κύτταρα. Μελετήθηκαν τα ποσοστά των λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών, η κυτταροτοξικότητα των NK και T λεμφοκυττάρων και τα επίπεδα κυτταροκινών στο ασκίτικο υγρό. Διαπιστώσαμε στο 30-40% των MLTC σημαντική επαγωγή της λυτικής ικανότητας των NK, T και NK-T υποπληθυσμών παρουσία IL-2, ενώ η ταυτόχρονη επώαση με προΤα οδήγησε σε περαιτέρω ενίσχυση της λύσης καρκινικών κυττάρων-στόχων (K562, Daudi, SKOV-3 και αυτόλογων καρκινικών). Το προΤα(100-109) ενίσχυσε την κυτταροτοξική ικανότητα των ίδιων υποπληθυσμών σε χαμηλότερα επίπεδα από την προΤα. Με κυτταρο-μετρία ροής παρατηρήσαμε μικρή αύξηση των NK ή/και NK-T κυττάρων στις 7 ή/και 14 ημέρες καλλιέργειας. Φαίνεται ότι η προΤα και λιγότερο το προΤα(100-109), συνεργιστικά με χαμηλές συγκεντρώσεις IL-2, μπορούν να επάγουν την αντικαρκινική λειτουργικότητα λεμφοκυττάρων ασκιτικών υγρών κάποιων ασθενών με καρκίνο των ωοθηκών *in vitro*. Ενδιαφέρον παρουσιάζει η εφαρμογή του πρωτοκόλλου ενεργοποίησης και *in vivo*, μετά από ενοφθαλμισμό ανοσοανεπαρκών ποντικών με καρκινικά κύτταρα ασθενών.

Χρηματοδότηση: Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο και Εθνικοί Πόροι (ΕΠΕΑΕΚ II), Πρόγραμμα ΠΥΘΑΓΟΡΑΣ II και ΜΔΕ «Κλινική Βιοχημεία-Μοριακή Διαγνωστική»

PROTHYMOSIN α ENHANCES *IN VITRO* THE CYTOTOXIC ACTIVITY OF LYMPHOCYTES ISOLATED FROM ASCITIC FLUIDS OF PATIENTS WITH OVARIAN CANCER

Mavrothalassiti H.^{1*}, Evangelinos N.^{1,3*}, Tsiatas M.², Katsila Th.¹, Pistamaltzian N.², Liakos Ch.², Bamias A.², Tsitsilonis O.¹

¹*Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, ²Therapeutic Clinic, "Alexandra" Hosp., School of Medicine, University of Athens, ³IKY fellowship, *equal contribution*

Ovarian cancer is diagnosed in advanced stages, has increased probability of recurrence and low rates of survival. Hence, *in vitro* and *in vivo* activation of cytotoxic lymphocytes with soluble immune modulators holds interest for the prolongation of patients' survival. Prothymosin α (proT α) and the peptide proT α (100-109) act as immunoregulatory molecules on cells of the innate and adaptive immunity. Our aim was to test their ability to activate *in vitro* lymphocytes from ascitic fluids of patients with ovarian cancer. Lymphocytes were cultured in MLTCs for 7-21 days in the presence of IL-2, proT α or proT α (100-109). Restimulation of MLTCs was performed at weekly intervals using autologous cancer cells. The percentage of lymphocyte subpopulations, the cytotoxicity of NK and T lymphocytes and the levels of cytokines in the ascitic fluid were investigated. In 30-40% of MLTCs significant induction of the lytic activity of NK, T and NK-T subpopulations was observed in cells cultured in the presence of IL-2, while concomitant incubation with proT α led to further enhancement of lysis of cancer cell-targets (K562, Daudi, SKOV-3 and autologous cancer cells). The proT α (100-109) enhanced the cytotoxic activity of the same subpopulations to a lesser extent than proT α . Using flow cytometry, we observed an increase in NK and/or NK-T cells after 7 and/or 14 days of culture. It appears that proT α and at lower level proT α (100-109) induce, synergistically with low concentrations of IL-2, the *in vitro* anticancer function of lymphocytes isolated from ascitic fluids of certain patients with ovarian cancer. It is of interest to test the *in vivo* application of our activation protocol upon inoculation of immunodeficient mice with patients' cancer cells.

Funding: Co-funded by the European Social Fund and National Resources (EPEAEK II), Research Grant PYTHAGORAS II and MSc in "Clinical Biochemistry -Molecular Diagnostics"

**ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΑΝΟΣΟΕΝΖΥΜΙΚΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ
ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΟΡΟΕΙΔΙΚΩΝ ANTI-COXSACKIE ANTIΣΩΜΑΤΩΝ**

Μαυρούλη Μ., Σπανάκης Ν., Τσακρής Α., Ρούτσιος Ι.

*Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Τμήμα Ιατρικής Σχολής, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Γουδί 11527,
E-mail: jroutsias@med.uoa.gr*

Οι ιοί Cocksackie (CV) προκαλούν παθήσεις, που κυμαίνονται από απλή λοίμωξη του αναπνευστικού συστήματος έως μηνιγγίτιδα και μυοκαρδίτιδα. Διαφορετικοί ορότυποι ενοχοποιούνται για την εμφάνιση διαφορετικών κλινικών καταστάσεων. Σήμερα η εργαστηριακή διάγνωσή τους απαιτεί απομόνωση του ιού ή ταυτοποίησή του με εξουδετερωτικές δοκιμασίες. Στην παρούσα μελέτη αναπτύχθηκε ανοσοενζυμική τεχνική στερεάς φάσης με δυνατότητα διάκρισης διαφορετικών οροτύπων ιών Cocksackie. Συλλέχθηκαν 200 οροί φυσιολογικών αιμοδοτών και ελέχθησαν για αντισώματα έναντι συνθετικών 15μερών πεπτιδίων, που περικλείουν αλληλουχίες που διαφοροποιούν την αντιγονική πρωτεΐνη VP1 των ιών Cocksackie B3, B4 και A24. Τα πεπτίδια συνδέθηκαν σε ολιγοπεπτιδικό φορέα (MAP) και χρησιμοποιήθηκαν για την ανάπτυξη ανοσοενζυμικής ELISA. Παράλληλα, χρησιμοποιήθηκε εμπορική ELISA με την VP1 πρωτεΐνη των ιών Cocksackie B1/B5 ως πηγή αντιγόνου. Η IgG δραστικότητα των αιμοδοτών έναντι των πεπτιδίων των οροτύπων B3, B4 και A24 (CVB3-, CVB4- και CVA24-permap) ανιχνεύθηκε στο 43,5, 38,5 και 34,5% των ορών, ενώ αντισώματα κατά της VP1 του οροτύπου B1/B5 βρέθηκαν στο 43,0%. Πειράματα ομόλογης και ετερόλογης αναστολής, τιτλοποίησης και συνάφειας αντιπεπτιδικών αντισωμάτων έδειξαν ότι η αναγνώριση των πεπτιδικών αναλόγων είναι αντιγονοειδική για την πλειονότητα των ορών. Σε ορισμένους και μόνο ορούς που αναγνωρίζουν και τα 3 πεπτίδια, τα αντι-CVB3 αντισώματα αναγνωρίζουν διασταυρωτά και το CVB4permap, ενώ τα αντι-CVA24permap IgG αναγνωρίζουν μόνο το πεπτίδιο στόχο τους (CVA24permap). Συμπερασματικά, η ELISA με κατάλληλα επιλεγμένα πεπτίδια της VP1 περιοχής μπορεί να αποτελέσει εναλλακτική μέθοδο για την ανίχνευση αντισωμάτων έναντι συγκεκριμένων οροτύπων των ιών Cocksackie.

DEVELOPMENT OF AN IMMUNOSORBENT ASSAY FOR THE QUANTIFICATION OF SEROTYPE-SPECIFIC ANTI-COXSACKIEVIRUS ANTIBODIES

Mavrouli M., Spanakis N., Tsakris A., Routsias J.

*Lab of Microbiology, Dept of Medicine, University of Athens, Goudi GR11572, Athens
E-mail: jroutsias@med.uoa.gr*

Coxsackie viruses (CV) cause human diseases, ranging from mild upper respiratory infections to severe conditions like aseptic meningitis and myocarditis. Different serotypes have been implicated in the appearance of different manifestations. Nowadays, virus diagnosis is depended on virus isolation and cultivation or identification with neutralization test. In this study, we indented to develop a serodiagnostic method (ELISA) with the ability to discriminate between different serotypes of Coxsackie viruses. Sera were obtained from 200 healthy blood donors and tested for the presence of IgG antibodies against synthetic 15mer peptides, corresponding to amino acid sequences, which differentiate the antigen protein VP1 of Coxsackievirus B3, B4 and A24. The peptides were anchored onto an oligopeptide carrier (MAP) and were used for the development of a serodiagnostic ELISA. In parallel, a commercial ELISA based on the VP1 protein of Coxsackieviruses B1/B5 as antigen was used. IgG reactivity against the peptides corresponding to B3, B4 and A24 serotypes (CVB3-, CVB4- και CVA24-pepmap) were detected in 43.5%, 38.5% and 34.5%, respectively, of sera tested, while IgG antibodies against the VP1 of B1/B5 serotypes were found in 43.0%. Homologous and heterologous inhibition, titration and urea avidity experiments demonstrated that the recognition of the peptide analogues is antigen specific for the majority of sera. In a limited number of sera which recognize all the peptides, anti-CVB3 antibodies cross-recognize and the CVB4pepmap, while CVA24pepmap IgG recognize only the homologous peptide (CVA24pepmap). Conclusively, ELISA assay utilizing properly selected peptides of VP1 region may be an alternative diagnostic method for the detection of antibodies with specificity against different Coxsackie virus serotypes.

ΧΡΩΜΑ: ΑΡΧΑΙΕΣ ΘΕΩΡΙΕΣ ΚΑΙ ΣΥΓΧΡΟΝΟ ΒΛΕΜΜΑ

Μγκελάτζε- Μαρμαρινού Β.¹, Σκούρα-Βαρνάβα Τζ.¹, Ριζοπούλου Σ.²

¹ Τμήμα Εκπαίδευσης και Αγωγής στην Προσχολική Ηλικία, ² Τμήμα Βιολογίας,
Τομέας Βοτανικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπι-
στημιούπολη, Αθήνα.

E-mail: gellask@ecd.uoa.gr, srhizop@biol.uoa.gr

Ο Πλάτων παρατηρεί ότι «το σχήμα είναι το μόνο πράγμα που πάντοτε ακολουθεί το χρώμα» (Μένων 75b), ότι «το χρώμα είναι ένας πλούτος μορφής, μετρήσιμος με την όραση και εμφανής με τις αισθήσεις» (Μένων 76d) και αναφέρεται στη σχέση του χρώματος με την ύλη. Το χρώμα απετέλεσε πρόκληση για φιλοσόφους, μελετητές και επιστήμονες από την αρχαιότητα ως τις μέρες μας και μελετήθηκε από φυσιοδίφες, χημικούς, φυσικούς, βιολόγους, φιλοσόφους, ψυχολόγους, κριτικούς της τέχνης και λογοτέχνες. Εξετάζοντας την αντίληψη του χρώματος, φαίνεται πως οι δημοφιλέστερες απόψεις είναι αφ' ενός σκέψεις των θεωρητικών, και αφ' ετέρου αποτελέσματα των θετικών επιστημών. Στην παρούσα εργασία, μας απασχολούν αρχαίες απόψεις για το χρώμα (απόψεις του Παρμενίδη, του Εμπεδοκλή, του Αναξαγόρα, του Δημοκρίτου, του Πλάτωνα, του Αριστοτέλη και του Θεοφράστου), από σωζόμενα αποσπάσματα των έργων τους, καθώς και από τις πρόσφατες (βιβλιογραφικά) επιστημονικές ερμηνείες τους. Επίσης, εξετάζεται η συσχέτιση αρχαίων χρωματικών θεωριών με σύγχρονα επιστημονικά δεδομένα. Αξίζει να σημειωθεί ότι όσον αφορά στον ορισμό των χρωμάτων, δίνεται ιδιαίτερη σημασία στη φύση του και στη σχέση του με την ύλη. Σύμφωνα με σύγχρονους μελετητές οι αρχαίοι θεωρητικοί αρνήθηκαν την ύπαρξη ανεξάρτητων χρωμάτων, επειδή θεωρούσαν τα χρώματα ως «συνέπεια της κίνησης των ατόμων». Αυτή η προσέγγιση μπορεί να θεωρηθεί ως η βάση της θεωρίας του Plank.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτείται από το ΠΕΝΕΔ 03ΕΔ174.

ON COLOUR: ANCIENT THEORIES AND MODERN ASPECTS

Mgkelatze – Marmarinou V.¹, Scoura T.¹, Rhizopoulou S.²

¹*Faculty of Early Childhood Education, 2Section of Botany, Biology Department, University of Athens, Panepistimioupoli 15784 Athens.*

E-mail: gellask@ecd.uoa.gr , srhizop@biol.uoa.gr

Plato remarks that “a figure is the only thing always follows colour” (*Meno* 75 b) and that “colour is an affluence of form, commensurate with sight, and palpable to sense” (*Meno* 76 d). Plato was aware of the optical nature of colour, as well as of the fact that colour was motivated by the material of objects. Colour as a universal aesthetic parameter has intrigued early thinkers; then, it has been studied by chemists, physicists, biologists, philosophers, psychologists and art experts. However, the most popular points are related to the thoughts of early philosophers on the one hand, and experiments from natural sciences on the other. In this paper, ancient aspects on colour (i.e. of Parmenides, Empedocles, Anaxagoras, Democritus, Plato, Aristotle and Theophrastus) are presented, which rely on fragments of the above mentioned authors’ surviving works, as well as on their latest scientific interpretations, in current literature. Also, we should mention that emphasis is given to the nature of colour and its relation to the shape. According to modern scholars, ancient theorists denied independent existence of colours and regarded them as “the consequence of atomic movement”. This idea may be considered as the basis for Plank’s theory.

This research is funded by the programme PENED 03ED174.

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΔΟΜΗΣ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ TRAF6

Μέγας Χ., Κεκλίκογλου Ι., Μαρινοπούλου Έ., Μόσιαλος Γ.

Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124, E-mail: gmosialo@bio.auth.gr

Ο μεταγραφικός παράγοντας NF-κΒ παίζει σημαντικό ρόλο σε χρόνιες φλεγμονές και σε πολλές περιπτώσεις καρκινογένεσης. Ανήκει σε μια οικογένεια συντηρη-μένων πρωτεϊνών, στην οποία περιλαμβάνονται οι RelA (p65), RelB, c-Rel, NF-κB1 (p105/p50) και NF-κB2 (p100/p52). Το πιο συχνό ετεροδιμερές είναι το p50/p65, που αναφέρεται συνήθως ως NF-κΒ. Στην ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού του NF-κΒ από υποδοχείς που προάγουν την έμφυτη ανοσία, παίζει σημαντικό ρόλο η πρωτεΐνη TRAF6, η οποία ενεργοποιεί τις IKK κινάσες. Οι κινάσες αυτές απελευθερώνουν τον NF-κΒ από τον καταστολέα του, με αποτέλεσμα να οδηγείται εντός του πυρήνα όπου ελέγχει διάφορα γονίδια - στόχους. Η παρούσα μελέτη αφορά τη δομή και τη λειτουργία της πρωτεΐνης TRAF6 που προέρχεται από τον οργανισμό *Mus musculus*. Μελετήθηκαν δύο περιοχές της πρωτεΐνης, η περιοχή TRAF και η αμινοτελική περιοχή που περιλαμβάνει τη λειτουργικά σημαντική δομή RING finger. Βάσει κρυσταλλογραφικών δεδομένων και χρήσης μεθόδων βιοπληροφορικής, βρέθηκαν κάποια αμινοξέα που εμφανίζονται συντηρημένα σε μεγάλο βαθμό ανάμεσα στα μέλη της οικογένειας των πρωτεϊνών TRAF. Θεωρήθηκε σκόπιμο να γίνουν μεταλλάξεις στα αμινοξέα αυτά, προκειμένου να ελεγχθούν πιθανές επιπτώσεις στη λειτουργικότητα της πρωτεΐνης ως προς τη σηματοδότηση του μονοπατιού του NF-κΒ και να ταυτοποιηθούν λεπτομερώς δομικά στοιχεία της πρωτεΐνης με λειτουργική σημασία. Για το σκοπό αυτό, χρησιμοποιήθηκε το πλασμίδιο pCR3.1 στο οποίο είχε προηγουμένως κλωνοποιηθεί το cDNA της πρωτεΐνης mouse TRAF6. Στη συνέχεια, κάνοντας χρήση της τεχνικής αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης, δημιουργήθηκαν τα επιθυμητά μεταλλάγματα τα οποία ελέγχθηκαν ως προς τη λειτουργικότητά τους διαμολύνοντας κύτταρα HEK-293FT και μετρώντας τη δραστικότητα του μεταγραφικού παράγοντα NF-κΒ. Τα μέχρι τώρα δεδομένα υποδεικνύουν ότι τα αμινοξέα L443 και L502, που βρίσκονται στην περιοχή TRAF, ενδέχεται να έχουν ρόλο στη σταθεροποίηση της πρωτεΐνης TRAF6. Επιπλέον, η ταυτόχρονη τροποποίηση των αμινοξέων K364 και R392 μειώνει δραστικά τη λειτουργικότητα της πρωτεΐνης TRAF6. Όσον αφορά την αμινοτελική περιοχή που βρίσκεται κοντά στη δομή RING finger, τα αμινοξέα R88, F118 και E126Q μειώνουν δραματικά την ικανότητα της TRAF6 να ενεργοποιεί τον NF-κΒ. Το γεγονός αυτό ενδεχομένως υποδηλώνει ότι τα συγκεκριμένα αμινοξέα έχουν κάποιο ρόλο στη δράση της πρωτεΐνης ως λιγάση ουβικουιτίνης που είναι απαραίτητη για την ενεργοποίηση του NF-κΒ.

CORRELATION BETWEEN THE STRUCTURE AND FUNCTION OF THE PROTEIN TRAF6

Megas C., Keklikoglou I., Marinopoulou E., Mosialos G.

*Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology,
Aristotle University of Thessaloniki, 54124, E-mail: gmosialo@bio.auth.gr*

The transcription factor NF – κ B plays an important role in chronic inflammation and in many cases of carcinogenesis. It belongs to a family of conserved proteins, which includes RelA (p65), RelB, c – Rel, NF – κ B1 (p105/p50) and NF – κ B2 (p100/p52). The most common heterodimer is p50/p65, which is usually referred to as NF – κ B. The protein TRAF6 has an important role in the activation of NF – κ B by receptors that mediate innate immunity. TRAF6 mediates the activation of the IKK complex which phosphorylates and inactivates the inhibitor I κ B thus allowing NF – κ B to enter the nucleus. The present study characterized the structure and function of the protein TRAF6 of the organism *Mus musculus*. Two regions of the protein were studied, the TRAF region and the amino-terminal region that includes the functionally important RING finger structure. Based on crystallographic data and the use of bioinformatics, some aminoacids were found to be well preserved among the members of the family of TRAF proteins. These aminoacids were targeted by mutagenesis, in order to examine their role in the functionality of the protein concerning the signaling of the NF – κ B pathway, as well as to identify structural elements of the protein with a functional importance. The desired mutants were created using the PCR technique and they were tested for their functionality by expressing them in HEK – 293FT cells and measuring their ability to activate the transcription factor NF – κ B. Our results so far show that the aminoacids L443 and L502, lying in the TRAF region, may have a role in the stabilization of the TRAF6 protein. Moreover, the simultaneous modification of the aminoacids K364 and R392 also inhibits the functionality of the protein. As far as the amino-terminal region is concerned, the aminoacids R88, F118 and E126 play an important role in the ability of TRAF6 to activate NF – κ B. This fact may imply that these aminoacids may have an important role in the activity of TRAF6 as ubiquitin ligase, an activity which depends on the RING finger domain and is necessary for the activation of NF – κ B.

**ΕΜΠΛΟΚΗ ΤΩΝ ΜΑΡΚs ΣΤΗΝ ΕΠΑΓΟΜΕΝΗ ΑΠΟ ΥΠΕΡΩΣΜΩΤΙΚΟ
ΣΤΡΕΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΚΑΡΔΙΑΚΩΝ ΜΥΟΒΛΑΣΤΩΝ**

Μελετίου Μ,¹ Αγγελή Ι.Κ,² Γαϊτανάκη Αικ.³ και Μπέης Ι.⁴

*Τομέας Φυσιολογίας Ζ.ων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Ε & Κ. Πανεπιστήμιο
Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη Ιλίσσια, 157 84 Αθήνα*

¹Bio.mich@yahoo.gr ²ikaggeli@biol.uoa.gr; ³cgaitanaki@biol.uoa.gr; ⁴ibeis@biol.uoa.gr

Ωσμωτικές αλλαγές στα κύτταρα του μυοκαρδίου μπορούν να σχετιστούν με παθολογικές καταστάσεις όπως ισχαιμία, σηπτικό σοκ και διαβητικό κώμα. Οι εξαρτώμενες από μιτογόνα πρωτεϊνικές κινάσες (MAPKs) εμπλέκονται σε πολλά κυτταρικά γεγονότα όπως είναι η αύξηση, η διαφοροποίηση, ο πολλαπλασιασμός και η απόπτωση ή νέκρωση. Στόχος της μελέτης ήταν η διερεύνηση των προτύπων ενεργοποίησης των τριών κύριων υποοικογενειών των MAPKs [ERK1/2 (κινάσες ρυθμιζόμενες από εξωκυτταρικά σήματα), JNKs (κινάσες του αμινο-τελικού άκρου του C-Jun) και p38-MAPK] καθώς και καθιερωμένων υποστρωμάτων τους όπως είναι η MSK-1 (κινάση που ενεργοποιείται από μιτογόνα και στρες). Και οι τρεις MAPKs βρέθηκε ότι ενεργοποιούνται έντονα από 0,25M σορβιτόλης. Η απόκριση αυτή μεγιστοποιείται στα 15 λεπτά για τις ERKs και p38-MAPK ενώ για τις JNKs στα 30 λεπτά. Η ενεργοποίηση για τις ERKs και JNKs είναι παροδική, ενώ για την p38-MAPK είναι παρατεταμένη. Η ειδική αυτή απόκριση επιβεβαιώθηκε με τη χρήση ειδικών αναστολέων των κινασών. Η ταυτόχρονη παρουσία των αναστολέων της p38-MAPK και των MEK1/2, οδήγησε σε πλήρη αναστολή της επαγόμενης από το υπερωσμωτικό στρες φωσφορυλίωσης της MSK-1, υποδηλώνοντας την πιθανή σύγκλιση των μονοπατιών αυτών στο επίπεδο της MSK-1. Πειράματα προσδιορισμού της βιωσιμότητας των κυττάρων έδειξαν ότι χαμηλή συγκέντρωση σορβιτόλης επάγει μέσω των MAPKs την ενεργοποίηση προστατευτικών μηχανισμών, ενώ σε ακραίες συνθήκες επάγεται θάνατος.

Η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό ταμείο και το ΕΠΕΑΕΚ μέσω του ΜΔΕ «Κλινική Βιοχημεία-Μοριακή Διαγνωστική».

INVOLVEMENT OF MAPKS IN THE HYPEROSMOTIC STRESS-INDUCED PHYSIOLOGICAL RESPONSE IN CARDIAC MYOBLASTS

Meletiou M,¹ Aggeli I.K,² Gaitanaki C.³ and Beis I.⁴

Dept of Animal and Human Physiology, School of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis Ilissia, 157 84 Athens

¹Bio.mich@yahoo.gr ² ikaggeli@biol.uoa.gr; ³ cgaitanakii@biol.uoa.gr; ⁴ ibeis@biol.uoa.gr

Osmotic changes in cardiac cells are known to occur in multiple pathological conditions i.e. during ischemia-reperfusion, septic shock and diabetic coma. MAPKs (mitogen-activated protein kinases) are involved in a plethora of cellular processes as diverse as cell proliferation, differentiation, apoptosis or necrosis. In the present study we made an effort to elucidate the activation profile of the three major MAPK subfamilies [ERK1/2 (extracellular-signal regulated kinases), JNKs (c-jun N-terminal kinases) and p38-MAPK] as well as of some of their established substrates i.e. MSK-1 (mitogen- and stress-activated kinase). All three of the MAPK subfamilies studied were shown to be significantly activated after treatment with 0.25M sorbitol. This activation was maximized after 15min for both ERKs and p38-MAPK. Maximal activation of JNKs was detected after 30min. Furthermore, ERKs and JNKs activation was transient while it showed a sustained profile for p38-MAPK. The specificity of the responses observed was verified by using respective specific kinase inhibitors. The simultaneous presence of p38-MAPK and MEK1/2 inhibitors was found to completely ablate the hyperosmotic stress-induced MSK-1 phosphorylation, possibly indicating the convergence of these signaling pathways at the level of MSK-1. Investigating cell viability, we observed that sorbitol at a low concentration is likely to induce via activation of MAPKs protective mechanisms; however, at a high dosage it appears to cause cell death.

The project is co-funded by the European Social Fund and National Resources – (EPEAEK) through a graduate MSc Program in “Clinical Biochemistry – Molecular Diagnostics”.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ GnRH ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΣΤΗΝ ΒΙΩΣΙΜΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΩΧΡΙΝΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΚΟΚΚΩΔΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Μεταλλινού Χ.¹, Ασισακόπουλος Β.¹, Νικολλέτος Ν.¹, Diedrich Κ.²

¹Εργαστήριο Φυσιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη.

²Τμήμα Μαιευτικής/Γυναικολογίας, Πανεπιστήμιο, University of Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, Germany.

Η εκλυτική ορμόνη της γοναδοτροπίνης (GnRH) παίζει πρωταρχικό ρόλο στην φυσιολογία της ανθρώπινης αναπαραγωγής. Έκτος του υποθαλάμου, το σύστημα GnRH εκφράζεται και στα ωχρινοποιημένα κοκκώδη κύτταρα της ωοθήκης (hGL). Τα GnRH ανάλογα είναι πεπτίδια που μιμούνται ή ανταγωνίζονται την δράση της GnRH και χρησιμοποιούνται ευρέως στα πρωτόκολλα της *in-vitro* γονιμοποίησης (IVF). Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε *in-vitro* επίδραση των GnRH αναλόγων στην βιωσιμότητα των ανθρωπίνων hGL κυττάρων. Τα κύτταρα προήλθαν από 35 γυναίκες που συμμετείχαν σε διαδικασίες τεχνητής γονιμοποίησης. Τα hGL κύτταρα καλλιεργήθηκαν παρουσία ή απουσία των GnRH αναλόγων. Συνολικά πραγματοποιήθηκαν 1089 καλλιέργειες. Χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικές συγκεντρώσεις (1nM, 3nM) του GnRH αγωνιστή triptorelin και του GnRH ανταγωνιστή cetrorelix. Η βιωσιμότητα των κυττάρων αξιολογήθηκε με την μέθοδο του βρωμιούχου 3-(4,5-διμεθυλοθιαζολ-2-υλο)-2,5 διφαινυλοτετραζολίου. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα μας, η χορήγηση του GnRH αγωνιστή δεν είχε καμία επίδραση στην βιωσιμότητα των hGL κυττάρων. Αντίθετα, σημαντική μείωση ($P < 0,000001$) παρατηρήθηκε στην υψηλή συγκέντρωση (3nM) του GnRH ανταγωνιστή ενώ η χαμηλή συγκέντρωση (1nM) δεν είχε κάποια επίδραση. Συμπερασματικά, φαίνεται ότι οι GnRH ανταγωνιστές επηρεάζουν την βιωσιμότητα των hGL κυττάρων με τρόπο δόσοεξαρτώμενο, έτσι ώστε υψηλές συγκεντρώσεις να έχουν ανασταλτική επίδραση. Οι GnRH αγωνιστές δεν φαίνεται να επηρεάζουν σημαντικά την κυτταρική βιωσιμότητα των hGL κυττάρων.

Το ερευνητικό έργο χρηματοδοτήθηκε από την DAAD (German Academic Exchange Service) και το ΙΚΥ (Ίδρυμα Ελληνικών Υποτροφιών) μέσω του προγράμματος «ΙΚΥΔΑ 2005».

EFFECTS OF GnRH ANALOGUES ON THE CELL VIABILITY OF HUMAN LUTEIN GRANULOSA CELLS

Metallinou C.¹, Asimakopoulos B.¹, Nikolettos N.¹, Diedrich K.²

¹Laboratory of Physiology, School of Medicine, Democritus University of Thrace, Alexandroupolis, Greece

²Department of Obstetrics/Gynecology, University of Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, Germany

The gonadotropin releasing hormone (GnRH) plays a pivotal role in the physiology of the human reproduction. The GnRH system except from the hypothalamus is also expressed in the human granulosa lutein (hGL) cells. The GnRH analogues are peptides mimicking (agonists) or competing (antagonists) the action of GnRH and are broadly used in the *in-vitro* fertilization (IVF) protocols.

This study aimed to investigate *in-vitro* the effects of GnRH analogues, on the viability of hGL cells. Cells were obtained from 35 women participating in IVF cycles and they were cultured under the presence or absence of GnRH analogues. Different concentrations (1nM, 3nM) of the GnRH agonist triptorelin and the GnRH antagonist cetrorelix were used. A total of 1089 cultures were carried out. Cell viability was evaluated by the MTT (3,[4,5-dimethylthiazol-2yl]2,3dipheniltetrazolium bromide) test. According to our results, the treatment with the GnRH agonist triptorelin had no effect on the viability of hGL cells. In contrast, a significant decrease of viability ($P < 0,000001$) was observed in the presence of the high concentration of the GnRH antagonist cetrorelix. These results suggest that high concentrations of a GnRH antagonist directly affect the viability of hGL cells. The treatment with a GnRH agonist does not seem to affect the cell viability significantly.

This study was partially supported by DAAD (German Academic Exchange Service) and IKY (Greek State Scholarship Foundation) through the program "IKYDA 2005".

**ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΙΣ ΛΙΠΙΔΙΚΕΣ ΣΧΕΔΙΕΣ
ΣΤΗΝ ΚΥΣΤΙΔΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΕ ΑΣΚΟΥΣ ΜΕΤΑΓΓΙΣΗΣ**

Μέτση Φ., Κριεμπάρδης Α., Αντωνέλου Μ., Μαργαρίτης Λ.Χ., Παπασιδέρη Ι.

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρων και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Πανεπιστιμιόπολη 157 84 Αθήνα. E-mail: ipapasid@biol.uoa.gr*

Οι λιπιδικές σχεδίες διαδραματίζουν ρόλο-κλειδί σε διάφορα κυτταρικά μονοπάτια μεταγωγής σήματος, στην εκτεταμένη εξω-κυστιδιοποίηση των δικτυοερυθροκυττάρων αλλά και των ώριμων ερυθρών ύστερα από αύξηση του κυτταροπλασματικού ασβεστίου. Επιπρόσθετα, η εξωκυστιδιοποίηση είναι ένας παράγοντας που συμβάλει στην αποθηκευτική βλάβη των ερυθρών και στις αρνητικές συνέπειες των μεταγγίσεων καθώς τα μικροκυστίδια έχουν θρομβογενετική δράση. Απομονώθηκαν μικροκυστίδια και χρησιμοποιώντας SDS-PAGE ηλεκτροφόρηση και ανοσοσύτρωμα κατά Western αναλύθηκαν οι πρωτεΐνες τους σε σχέση με τις ερυθροκυτταρικές μεμβράνες από τις οποίες προκύπτουν, σε ασκούς συμπυκνωμένων ερυθρών συναρτήσεως του χρόνου αποθήκευσης. Διαπιστώθηκε ότι τα εκκρινόμενα κυστίδια περιέχουν μία ποικιλία μεμβρανικών και κυτταροπλασματικών πρωτεϊνών που σχετίζονται με τις λιπιδικές σχεδίες σε αυξανόμενα ποσά καθώς αυξάνει η περίοδος αποθήκευσης των ερυθρών. Ανάμεσα σε αυτές είναι οι Gs- α , στοματίνη, φλοτιλλίνη-1, φλοτιλλίνη-2 καθώς και οι συνεξίνη, σορκίνη. Η στοματίνη βρίσκεται σε μεγαλύτερο ποσοστό σε σχέση με τις άλλες πρωτεΐνες ενώ παρατηρούνται και υψηλού MB ζώνες στοματίνης και συνεξίνης. Αυτά τα δεδομένα επιβεβαιώνουν προηγούμενες μελέτες μας στα αποθηκευμένα ερυθρά και προτείνουν ένα πιθανό ρόλο των λιπιδικών σχεδιών στην εξωκυστιδιοποίηση που συμβαίνει κατά την αποθήκευση.

Η μελέτη αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς την Ι. Παπασιδέρη.

Ο Υποψήφιος Διδάκτορας Α. Κριεμπάρδης είναι υπότροφος του Ιδρύματος Κρατικών Υποτροφιών.

PARTICIPATION OF LIPID-RAFT ASSOCIATED PROTEINS TO THE RBC VESICULATION DURING THE STORAGE OF PACKED RBC TRANSFUSION UNITS

Metsi F., Kriebardis A., Antonelou M., Margaritis L.H., Papassideri I.

¹Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis 157 84, Athens. E-mail: ipapasid@biol.uoa.gr

Lipid rafts have already been described as key elements in various cell signalling pathways, in the wide-range exovesiculation of the reticulocyte and also of the RBC membrane when there is a rise in cytosolic Ca²⁺. Furthermore, the RBC vesiculation is considered to be a contributing factor of the storage lesion and of the negative effects of transfusions since the released vesicles are thrombogenic. RBC-derived microvesicles were isolated from the remnant plasma of packed RBCs units preserved in CPDA at 8 time points of the storage period and shortly afterwards. The vesicular proteins were analysed in comparison to their ghost membranes of origin, by means of SDS-PAGE and immunoblotting. The vesicles contain a variety of membrane-associated and cytoplasmic lipid raft-associated proteins, including the membrane Gs-alpha, stomatin, flotillin-1 and flotillin-2 and the cytoplasmic synexin and sorcin, in increasing amounts towards the end of the storage period. The vesicles seem to be especially enriched in stomatin. They also contain high MW bands exhibiting stomatin and synexin immunoreactivity. These results verified our previous observations on stored RBC membrane and suggest the involvement of lipid raft microdomains in the vesiculation of RBCs during storage.

This study was supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to I. S. Papassideri.

PhD student A. Kriebardis, MSc also thanks the "Hellenic State Scholarship Foundation" for the award of PhD fellowship.

**ΜΕΛΕΤΕΣ ΣΤΗ ΧΩΡΙΚΗ ΚΑΙ ΧΡΟΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ C3 ΚΑΙ
ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ MAC ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΟΣ
ΣΤΗΝ ΟΡΝΙΘΑ**

Μικρού Α., Ζαρκάδης Ι.

*Τομέας Βιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500 Πάτρα,
E-mail: a_mikrou@yahoo.gr*

Το σύστημα του συμπληρώματος των θηλαστικών, αποτελεί ένα φυλογενετικά αρχαίο σύστημα ακολουθίας αντιδράσεων, το οποίο διαδραματίζει σημαντικό ρόλο τόσο στην έμφυτη όσο και στην προσαρμοστική ανοσία. Η ενεργοποίηση του συστατικού C3 αποτελεί κομβικό σημείο και των τριών οδών ενεργοποιήσεων του συμπληρώματος (κλασικής, εναλλακτικής, λεκτινικής) οδηγώντας στη δημιουργία του τελικού Συμπλόκου Επίθεσης στη Μεμβράνη (Membrane Attack Complex, MAC) και επάγοντας τις διαδικασίες της φλεγμονής και της εξολόθρευσης αυτο- και ξένων αντιγόνων. Επιπλέον, πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι το C3 συμμετέχει στην αναγέννηση ιστών και στην κυτταρική διαφοροποίηση. Προκειμένου να μελετήσουμε το χωρικό και χρονικό πρότυπο έκφρασης σε επίπεδο mRNA των συστατικών του συμπλόκου MAC (C6, C7, C8a, C8b και C8γ) και των ρυθμιστικών γονιδίων του (CD59, clusterin και vitronectin), όπως επίσης και την πιθανή αναπτυξιακή ρύθμιση του γονιδίου C3, χρησιμοποιήσαμε ως μοντέλο την όρνιθα (*Gallus gallus*). Αναφορικά με τα γονίδια του συμπλόκου MAC, τα αποτελέσματα έδειξαν πλήρη έκφρασή τους στην καρδιά, τον εγκέφαλο και το ήπαρ. Σύμφωνα με το αναπτυξιακό προφίλ τους, παρατηρείται έκφρασή τους σε έμβρυο 12 και 17 ημερών, ενώ δεν εκφράζονται στο πρώιμο έμβρυο (6 ημερών) και το νεογέννητο άτομο (ημέρα 2). Αντίθετα, τόσο τα ρυθμιστικά γονίδια του MAC, όσο και το C3 εκφράζονται σε ολικό έμβρυο (ημέρα 4 και 6) και στο ήπαρ εμβρύου 12 και 17 ημερών, καθώς και σε νεογέννητο άτομο (ημέρα 2 και 5) και σε ενήλικο οργανισμό. Επιπλέον μελέτες με *in situ* RNA υβριδοποίηση δείχνουν ποικίλη κατανομή του mRNA του γονιδίου C3 στο έμβρυο της όρνιθας. Πρόκειται για την πρώτη καταγραφή της χωρικής και χρονικής κατανομής γονιδίων του συστήματος του συμπληρώματος στην όρνιθα. Επιπλέον μελέτες πρέπει να γίνουν προκειμένου να ολοκληρωθεί το γονιδιακό πρότυπο έκφρασης των γονιδίων του συμπληρώματος αλλά και να διερευνηθούν οι πιθανές λειτουργίες του μορίου C3 στην ανάπτυξη του εμβρύου της όρνιθας.

** Η παρούσα εργασία υποστηρίζεται από το Εμπειρικό Ίδρυμα.*

**STUDIES ON SPATIAL AND TEMPORAL EXPRESSION OF C3 AND MAC
COMPLEMENT GENES IN CHICKEN**

Mikrou A., and I. Zarkadis

*Department of Biology, School of Medicine, University of Patras, 26500 Patra, Greece,
E-Mail: a_mikrou@yahoo.gr*

The mammalian complement system is a phylogenetically ancient cascade system that has a major role in innate and adaptive immunity. Activation of component C3 is central to the three complement pathways (classical, alternative, lectin) leading to the terminal Membrane Attack Complex (MAC) and results in inflammation and elimination of self and non-self targets. Recent evidences have shown that C3 is also implicated in tissue regeneration and cell differentiation. In order to study the spatial and temporal mRNA expression profile of MAC components (C6, C7, C8a, C8b, and C8 γ) and MAC regulatory genes (CD59, clusterin and vitronectin) as well as the potential developmental regulation of C3 gene, chicken (*Galus gallus*) was used as a model organism. Concerning the MAC components, our results show a full expression of MAC genes in the heart, brain and liver, while their developmental expression pattern shows that all of them are expressed in both 12 and 17 day embryo, while no expression was observed in early embryo (day 6) and the neonatal individual (day 2). On the contrary, both MAC regulatory genes and C3 are expressed in whole embryo (day 4 and 6) and in the liver of a 12 and 17 day embryo, as well as in postnatal individual (day 2 and 5) and adult organism. Further studies by *in situ* hybridization show a highly differential distribution of C3 mRNA in chicken embryo. This is the first report on the spatial and temporal expression of complement genes in chicken. Further studies are necessary to be done, in order to complete the expression profile of complement genes and elucidate a putative role of C3 in chicken embryo development.

This work is supported by Empeirikeio Foundation grant.

ΜΙΑ S-ΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗ ΤΗΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ ΤΟΥ ΚΟΥΝΟΥΠΙΟΥ ΦΟΡΕΑ ΤΗΣ ΕΛΟΝΟΣΙΑΣ *Anopheles dirus* ΜΕ ΑΝΤΙ-ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΟ ΔΡΑΣΗ: ΚΡΥΣΤΑΛΛΩΣΗ, ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΙ ΛΥΣΗ ΤΗΣ ΔΟΜΗΣ

Μιτακίδης Ν.¹, Paine M.J.I. ², Βόντας Ι.³, Tucker P.A. ⁴ και Π. (Μπογός) Αγιανιάν¹

¹Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Δ.Π.Θ., Δήμητρας 19, 68100 Αλεξανδρούπολη,
E-mail: magiania@mbg.duth.gr

²Liverpool School of Tropical Medicine, Vector Control Group, Liverpool L3 5QA U.K.

³Εργαστήριο Γεωργικής Φαρμακολογίας, Γ.Π.Α., Ιερά Οδός 75, 11855 Αθήνα

⁴EMBL-Hamburg Outstation, Notkestrasse 85, 22603 Hamburg, Germany

Η ανθεκτικότητα στα εντομοκτόνα κουνουπιών φορέων του παρασίτου της ελονοσίας, αποτελεί ένα από τα σοβαρότερα προβλήματα στην μάχη για την αντιμετώπιση της ασθένειας, η οποία σκοτώνει παγκοσμίως περίπου 1 εκατομμύριο άτομα (κυρίως παιδιά). Ένας από τους μηχανισμούς ανθεκτικότητας επιστρατεύει αποτοξινωτικά ένζυμα όπως οι S-τρανσφεράσες της γλουταθειόνης (GSTs). Οι GSTs δρουν κυρίως με δύο τρόπους: (1) μεταβολίζουν τα εντομοκτόνα σε μη δραστικές ουσίες και (2) προσδένουν εντομοκτόνα και τα «αποσύρουν» από την αιμολέμφο. Ωστόσο, ο ακριβής μηχανισμός δράσης τους παραμένει άγνωστος. Το κουνούπι *An. dirus* αποτελεί τον κύριο φορέα του παρασίτου της ελονοσίας στη ΝΑ Ασία. Εδώ, περιγράφουμε την κρυστάλλωση της AdGSTd1-1 του *An. dirus*, μιας εκ των τεσσάρων ισομορφών από εναλλακτικό μάτισμα του γονιδίου *adgst1AS1*, παρουσία του οργανοφωσφορικού εντομοκτόνου Temephos και τη λύση της δομής. *In vitro*, η AdGSTd1-1 αφυδροχλωριώνει το DDT και προσδένει πυρεθροειδή και άλλα εντομοκτόνα. Κρύσταλλοι της υπερεκφρασμένης σε *E. coli* πρωτεΐνης ανήκουν στην κρυσταλλογραφική ομάδα χώρου P2₁ και έχουν στοιχεία μοναδιαίας κυψελίδας $a = b = 73.3 \text{ \AA}$, $c = 173.4 \text{ \AA}$, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$. Δεδομένα ακτίνων-Χ από τους κρυστάλλους μετρήθηκαν στην πηγή Microfocus του ESRF-Grenoble σε μέγιστη διακριτικότητα 2.1 \AA . Η κρυσταλλική δομή περιέχει 4 διμερή / ασύμμετρη μονάδα και λύθηκε με τη μέθοδο της Μοριακής Αντικατάστασης χρησιμοποιώντας ως μοντέλο τη δομή της AgGSTd1-6 (1pn9). Ευελπιστούμε ότι η βελτιστοποίηση της δομής και οι τελικοί χάρτες ηλεκτρονικής πυκνότητας θα αποκαλύψουν τη θέση δέσμευσης του εντομοκτόνου.

A GLUTATHIONE S-TRANSFERASE OF THE MALARIA VECTOR *Anopheles dirus* WITH ANTI-INSECTICIDAL ROLE: CRYSTALLIZATION, CRYSTALLOGRAPHIC ANALYSIS AND CRYSTAL STRUCTURE SOLUTION

Mitakidis N.¹, Paine M.J.I.², Vontas J.³, Tucker P.A.⁴ and P. (Bogos) Agianian¹

¹*Department of Molecular Biology & Genetics, Democritus University of Thrace, 68100 Alexandroupolis, Greece. E-mail: magiania@mbg.duth.gr*

²*Liverpool School of Tropical Medicine, Vector Control Group, Liverpool L3 5QA U.K.*

³*Agricultural Pharmacology Laboratory, Agricultural University of Athens, 11855 Athens*

⁴*EMBL-Hamburg Outstation, Notkestrasse 85, 22603 Hamburg, Germany*

Insecticide resistance of mosquito malaria vectors constitutes one of the biggest problems to the fight against a disease that kills more than 1 million people (mostly children) worldwide. One insecticide resistance mechanism utilizes detoxifying enzymes, such as glutathione S-transferases (GSTs). GSTs are involved mainly via two pathways: (1) they metabolize insecticides and (2) they bind insecticides and sequester them from hemolymph circulation. However, the exact role of GSTs in conferring resistance remains elusive. The mosquito *An. dirus* is the main malaria vector in SE Asia. Here, we describe the crystallization and crystal structure solution of AdGSTd1-1, one of the four GST isoform products from alternative splicing of the *adgst1AS1* gene. *In vitro*, AdGSTd1-1 dehydrochlorinates DDT and binds pyrethroids and other insecticides. Crystals of the *E. coli* recombinant protein belong to space group P2₁ and have unit cell parameters $a = b = 73.3 \text{ \AA}$, $c = 173.4 \text{ \AA}$, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$. Crystallization was in the presence of the organophosphoric insecticide Temephos. X-ray diffraction data from the crystals were collected at ESRF-Grenoble using the Microfocus beamline and extent to 2.1 Å resolution. The crystal structure was solved by Molecular Replacement using AgGSTd1-6 (1pn9) as model and shows 4 GST dimers per asymmetric unit. We anticipate that final electron density maps from structure refinement will reveal insecticide binding.

**ΙΣΟΕΝΖΥΜΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΕΝΖΥΜΩΝ ΤΗΣ ΓΛΥΚΟΛΥΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗ
ΧΕΙΜΕΡΙΑ ΝΑΡΚΗΣ ΤΟΥ ΒΑΤΡΑΧΟΥ *Rana ridibunda***

**Μιχαηλίδης Σ.¹, Κυριακοπούλου – Σκλαβούνου Π.¹, Τριανταφυλλίδης Α.²,
Μιχαηλίδης Β.¹**

¹ Τομέας Ζωολογίας, ² Τομέας Γενετικής Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα
Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης
E-mail: michaeli@bio.auth.gr

Οι χαμηλές θερμοκρασίες και η έλλειψη τροφής κατά το χειμώνα οδηγούν τα αμφίβια σε κατάσταση νάρκης. Στην κατάσταση αυτή τα ζώα μειώνουν τον μεταβολικό τους ρυθμό και χρησιμοποιούν τα αποθέματα γλυκογόνου και λιπών για να καλύψουν τις ενεργειακές τους ανάγκες. Σημαντικό ρόλο στην μείωση αυτή φαίνεται ότι διαδραματίζουν τα μιτοχόνδρια στα οποία γίνεται ο αερόβιος μεταβολισμός δηλαδή η παραγωγή ενέργειας (ATP) με τους μηχανισμούς που είναι γνωστοί ως βιολογικές οξειδώσεις (κύκλος του Krebs, αναπνευστική αλυσίδα). Η μείωση του μεταβολικού ρυθμού μπορεί να οφείλεται σε διάφορες φυσιολογικές διαδικασίες. Για παράδειγμα παρατηρούνται αλλαγές στις ιδιότητες των μιτοχονδρίων, αλλαγές στη συγκέντρωση ή στη δραστικότητα των ενζύμων, είτε στη συγκέντρωση των υποστρωμάτων, καθώς και η έκφραση διαφορετικών ισοενζυμικών μορφών. Η επιστράτευση του αναερόβιου μηχανισμού είναι μια προσαρμογή των ζώων για να συνεχιστεί η παραγωγή ενέργειας στη διάρκεια της νάρκης. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν οι διάφορες ισοενζυμικές μορφές ορισμένων ενζύμων της γλυκόλυσης κατά τη διάρκεια της χειμερίας νάρκης του βατράχου *Rana ridibunda*. Μελετήθηκε το ηλεκτροφορητικό πρότυπο των ενζύμων, aGPD, MDH και LDH στην καρδιά και στον γαστροκνήμιο μυ. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υπάρχει ιστοξειδίκευση των ενζύμων ανάλογα με το πρότυπο μεταβολισμού που ακολουθεί ο ιστός. Διαφορετικές ισομορφές παρατηρήθηκαν στην καρδιά (αερόβιος ιστός) και στο γαστροκνήμιο (αναερόβιος ιστός) για τα ένζυμα LDH και aGPD. Η MDH μελετήθηκε μόνο στην καρδιά και παρουσίασε μόνο μια ισομορφή η οποία διατηρήθηκε καθ' όλη τη διάρκεια της διαχείμανσης.

ISOFORMS OF GLYCOLYTIC ENZYMES DURING THE HIBERNATION OF THE WATERFROG *Rana ridibunda*

Michaelidis S.¹, Kyriakopoulou-Sklavounou P.¹, Triantafyllidis A.², Michaelidis B.¹

¹Department of Zoology, ²Department of Genetics Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki,
E-mail: michaeli@bio.auth.gr

Low temperatures and the lack of food during the winter lead the water frog to hibernate in order to survive. During hibernation animals reduce their metabolic rate and they use stored glycogen and fat to produce energy. Changes in the properties of mitochondria, where the aerobic component of metabolism (circle of Krebs, respiratory chain) take place, seems to play an important role in the reduction of metabolic rate. The mechanisms inducing metabolic depression include the changes in the properties of mitochondria, changes in the concentration or efficiency of the enzymes, or in the concentration of substrates and expression of different enzymatic isoforms. The activation of anaerobic mechanism is a biochemical adaptation of animals in order to continue the production of energy during hibernation. In the present work, the various isoforms of glycolytic enzymes from water frog *Rana ridibunda* during the hibernation were studied. Specifically, the electrophoretic patterns of the enzymes aGPD, MDH and LDH in the heart and in the skeletal muscle were studied. The results have showed tissue-specification for the enzymes LDH and aGPD. This was due to the pattern of metabolism that the tissue follows. In heart aerobic metabolism is the major path and in skeletal muscle anaerobic metabolism. For the MDH, the electrophoretic pattern in heart showed only one isoform. The electrophoretic pattern for all enzymes was the same in all phases of hibernation.

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΟΓΚΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ CYLD

Μόσιαλος Γ.²

Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Πανεπιστημιούπολη, 54124
Θεσσαλονίκη. E-mail: gmosialos@bio.auth.gr

Μεταλλάξεις του ογκοκατασταλτικού γονιδίου της κυλινδρωμάτωσης (*Cyld*) δημιουργούν προδιάθεση στους ανθρώπους για την ανάπτυξη όγκων των απολήξεων του δέρματος οι οποίοι εμφανίζονται συνήθως στα τριχωτά μέρη της κεφαλής και του λαιμού. Το γονίδιο *Cyld* κωδικοποιεί ένα ένζυμο αποουβικιτινάσης (CYLD) που αποτελείται από 956 αμινοξέα και είναι αρνητικός ρυθμιστής των μονοπατιών ενεργοποίησης του μεταγραφικού παράγοντα NF- κ B και της κινάσης JNK. Η ικανότητα του CYLD να καταστέλλει την ενεργοποίηση του NF- κ B και της κινάσης JNK συσχετίστηκε γενετικά με την δράση αποουβικιτινάσης και την ογκοκατασταλτική του δράση. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι η καταστολή του CYLD συσχετίζεται με την ανάπτυξη διαφόρων τύπων όγκων στον άνθρωπο εκτός από τους όγκους των απολήξεων του δέρματος. Για να μελετηθεί ο λειτουργικός ρόλος του *Cyld* σε διάφορους ιστούς *in vivo* χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της ελεγχόμενης γονιδιακής στόχευσης που βασίζεται στην δράση της ρεκομπινάσης Cre για τη δημιουργία ποντικών με μεταλλαγμένο γονίδιο *Cyld* που εκφράζει ένα απενεργοποιημένο ένζυμο CYLD. Ποντικοί με μεταλλαγμένο *Cyld* σε όλους τους ιστούς πεθαίνουν σε σύντομο χρονικό διάστημα μετά τη γέννηση τους από αναπνευστική ανεπάρκεια που οφείλεται σε ατελή ανάπτυξη του πνεύμονα. Ο ρόλος του *Cyld* στην ανάπτυξη και λειτουργία λεμφοκυτταρικών πληθυσμών μελετήθηκε με τη κατάλληλη ιστοειδική μετάλλαξη του γονιδίου. Τα πειράματα αυτά κατέδειξαν ένα σημαντικό ρόλο του *Cyld* στην επιλογή και διαφοροποίηση των θυμοκυττάρων η οποία αποδόθηκε τουλάχιστο εν μέρει στην ανεπαρκή ενεργοποίηση της PLC β από την σηματοδότηση του αντιγονικού υποδοχέα των T λεμφοκυττάρων (TCR). Επιπλέον, το γονίδιο *Cyld* ήταν απαραίτητο για την απόκριση των μακροφάγων σε ένα ζωικό μοντέλο ασηπτικής περιτονίτιδας. Οι προαναφερθείσες μελέτες καταδεικνύουν το πολύπλευρο ρόλο του CYLD στη παθολογία και φυσιολογία των θηλαστικών.

Στην εργασία αυτή συμμετείχαν οι:

Τσαγγαράτου Α^{1,2}, Τρομπούκη Ε.³, Κοντογιάννης Δ.¹, Μόσιαλος Γ.²

¹Ινστιτούτο Ανοσολογίας, Ε.ΚΕ.Β.Ε. Αλ. Φλέμιγκ, Αλ. Φλέμιγκ 34, 16672 Βάρη, ²Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Πανεπιστημιούπολη, 54124 Θεσσαλονίκη, ³Harvard Medical School, Boston, MA 02115, USA.

* Προσκεκλημένος ομιλητής

FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF THE CYLINDROMATOSIS TUMOR SUPPRESSOR

Mosialos G. *

School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece,

Mutations of the cylindromatosis tumor suppressor gene (*Cyld*) predispose humans to the development of skin-appendage tumors that appear usually in the hairy areas of the head and neck. *Cyld* encodes a 956-amino-acid deubiquitinating enzyme (CYLD), which is a negative regulator of the NF- κ B and JNK pathways. The ability of CYLD to inhibit the NF- κ B and JNK pathways has been genetically linked to its deubiquitinating and tumor suppressing activities. Recently, the down regulation of *Cyld* has been associated with the development of several types of human tumors besides skin tumors. In order to study the functional role of CYLD in various tissues in vivo a conditional Cre-lox-based strategy was used to generate mice with a targeted mutation of *Cyld* that inactivates CYLD. Mice with both alleles of *Cyld* mutated in all tissues died shortly after birth from respiratory failure due to lung immaturity. The role of *Cyld* in the development and function of lymphocytic populations was studied by appropriate conditional mutagenesis. These experiments identified a fundamental role of this gene in thymocyte selection and maturation which was attributed at least in part to impaired activation of PLC γ in response to TCR signalling. In addition, *Cyld* was necessary for the proper response of macrophages in a mouse model of aseptic peritonitis. Our results have demonstrated a pleiotropic role for *Cyld* in mammalian pathophysiology.

The contributors of this work were:

Tsagaratou A.^{1,2}, Trompouki E.³, Kontoyiannis D.¹, Mosialos G.²

¹*Institute of Immunology, Biomedical Sciences Research Center Al Fleming, 34 Al Fleming Str., 16672, Vari,* ²*School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece,*

³*Harvard Medical School, Boston, MA 02115, USA.*

**Invited speaker*

ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ: ΟΙ ΕΥΡΩΠΑΪΚΕΣ ΠΡΟΤΕΡΑΙΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ Η ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ

Μοσχονάς Ν.Κ. *

*Ιατρική Σχολή, Εργαστήριο Γεν. Βιολογίας, Παν/μιο Πάτρας, Ρίο Πάτρας
E-mail: n_moschonas@med.upatras.gr*

Ο στόχος της βιοϊατρικής έρευνας στον ευρωπαϊκό χώρο για την επόμενη πενταετία επικεντρώνεται στην αντιμετώπιση των μεγάλων προβλημάτων υγείας και των νέων επιδημιών. Η υγεία των ευρωπαίων πολιτών θα βελτιωθεί μέσω της μεταφοράς των σύγχρονων επιτευγμάτων της βασικής έρευνας στην κλινική εφαρμογή, την ανάπτυξη νέων μεθόδων πρόληψης νοσημάτων με έμφαση στην υγεία των παιδιών και των ατόμων 3ης ηλικίας, την ανάπτυξη και αξιολόγηση νέων θεραπειών, τη δημιουργία νέων διαγνωστικών εργαλείων και τεχνολογιών και το σχεδιασμό αποτελεσματικών συστημάτων υγείας. Και αυτά σε συνδυασμό με την αύξηση της ανταγωνιστικότητας και την προώθηση της καινοτομίας της ευρωπαϊκής βιομηχανίας στον τομέα της υγείας. Η παραγωγή νέας γνώσης στη βιοϊατρική και οι εφαρμογές της ιατρικής βιοτεχνολογίας στηρίζονται στα δεδομένα από την αλληλούχηση του γονιδιώματος του ανθρώπου, στη μεταγονιδιωματική έρευνα στον άνθρωπο και τους πρότυπους οργανισμούς, στην ανάλυση της γενετικής πληροφορίας για την κατανόηση βασικών βιολογικών μηχανισμών, στη συνεργασία πολλών ειδικοτήτων από τη Βιολογία, τη Χημεία, την Κλινική Ιατρική, τη Φυσική, τη Μηχανική, τη Πληροφορική, τη Φαρμακολογία κλπ., στη διαθεσιμότητα συλλογών βιολογικού υλικού & πληροφορίας για ερευνητικούς σκοπούς και τέλος στην ανάγκη διεθνούς συνεργασίας και καλλιέργειας γόνιμης δράσης μεταξύ δημόσιων ερευνητικών μονάδων και καινοτόμων μικρομεσαίων επιχειρήσεων βιοϊατρικής έρευνας. Οι τρεις κύριοι άξονες ερευνητικής δραστηριότητας που υποστηρίζονται από την ΕΕ αφορούν α) στην βιοτεχνολογία και την ανάπτυξη εργαλείων και τεχνολογιών με στόχο την ανθρώπινη υγεία, β) στη «μεταφραστική» έρευνα στην υγεία και γ) στη βελτιστοποίηση της παροχής ιατρικής φροντίδας για τους ευρωπαίους πολίτες. Σε αυτό το ιδιαίτερα ανταγωνιστικό ευρωπαϊκό πλαίσιο έρευνας και τεχνολογίας, είναι ζωτικής σημασίας για τις ερευνητικές μας ομάδες να εξετάσουν τις δυνατότητες συνεργασίας με άλλες ευρωπαϊκές ομάδες υψηλής ποιότητας, να αναπτύξουν τοπικά και ευρωπαϊκά δίκτυα συνεργασίας, να σχεδιάσουν και να συντονίσουν συνεργατικά ερευνητικά προγράμματα. Στα πλαίσια της ομιλίας θα παρουσιαστούν οι περιοχές δραστηριότητας και μια ενδεικτική αποτίμηση της μέχρι τώρα συμμετοχής των ελληνικών ερευνητικών φορέων.

* Προσκεκλημένος ομιλητής

BIOMEDICAL RESEARCH: EUROPEAN PRIORITIES AND THE PARTICIPATION OF GREEK RESEARCH GROUPS

Moschonas N.K. *

*Medical School, Laboratory of Gen. Biology, University of Patras, U. Campus, Rio, Patras
E-mail: n_moschonas@med.upatras.gr*

The European biomedical research aims to the addressing of the global health problems including emerging epidemics. European citizen's health will improve by translating basic research achievements into clinical applications, by developing new disease prognosis tests, therapeutic protocols and early medical diagnostic tools and technologies. Priority is given to child health and healthy ageing. Health improvements should be supported by designing efficient & sustainable health care systems combined with the increase of the competitiveness and innovative capacity of European health-related industries. New knowledge in biomedical research and medical biotechnology applications are based on the human genome project outcomes, the post-genomic research in human and model organisms and the analysis of genetic information for understanding rudimentary biological mechanisms. It is also, supported by the co-operation of experts from various scientific fields including biology, chemistry, clinical medicine, physics, mechanics, informatics and pharmacy, the availability of representative collections of biological material and information to be exploited for co-operative research purposes and, finally, the need for co-operation among European public research institutions and innovative small-medium enterprises specialized in biomedical research and development. Three pillars of research activities are supported by EU: i. Biotechnology and development of generic tools and technologies for human health ii. Translational research for human health and iii. Optimizing the delivery of health care to European citizens. Within this highly competitive context of excellent research and technology, it is of particular importance our groups to develop national and join the respective European research networks, take initiatives to co-ordinate or explore possibilities to participate in high-quality international research consortia. Within the context of this presentation, we will discuss the areas of the European research priorities and present updated information on the contribution and success of the Greek research teams.

** Invited speaker*

**ΠΡΟΤΥΠΑ ΕΠΙΛΟΓΗΣ ΣΕ ΓΟΝΙΔΙΟ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ
ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ ΕΙΔΩΝ *ANOPHELES GAMBIAE*
(ΦΟΡΕΙΣ ΤΗΣ ΕΛΟΝΟΣΙΑΣ)**

Μουστάκα Μ.¹, Παρμακέλης Α.^{1,2}, Λούης Χ.²

¹ Τομέας Οικολογίας και Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Πανεπιστημιούπολη, Ζωγράφου 15784.

E-mails: marina_moustaka@hotmail.com, aparmakel@biol.uoa.gr

² Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο, Τ.Θ.: 2208, Τ.Κ. 71409,

E-mail: louis@imbb.forth.gr

Η ελονοσία είναι το πιο σημαντικό λοιμώδες νόσημα και η συχνότερη αιτία θανάτου στις τροπικές και υποτροπικές χώρες. Η ασθένεια προκαλείται στον άνθρωπο από το πρωτόζωο *Plasmodium falciparum* και μεταδίδεται από τα κουνούπια του γένους *Anopheles*. Η συν-εξέλιξη μεταξύ του συγκεκριμένου πρωτόζωου και του φορέα του, εικάζεται ότι μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα προσαρμοστικές αλλαγές στα γονίδια που συμμετέχουν στην ανοσολογική απόκριση του κουνουπιού απέναντι στο παράσιτο. Μέσω μεθόδων φυλογενετικής και πληθυσμιακής γενετικής ανάλυσης, είναι εφικτό να διαπιστωθεί αν συγκεκριμένα γονίδια του ανοσοποιητικού συστήματος εμφανίζουν ίχνη θετικής επιλογής. Αν η εικασία είναι σωστή, τότε τέτοια τάση πρέπει να διαφαίνεται στα είδη που είναι φορείς της ελονοσίας, αλλά όχι στα συγγενικά είδη που δεν είναι συνήθεις φορείς. Στα πλαίσια αυτής της μελέτης, προσεγγίστηκε το γονίδιο *AgMDL1* το οποίο σε πειράματα αναλύσεων μικροσυστοιχειών (microarrays) βρέθηκε ότι λειτουργεί ρυθμιστικά στην άμυνα απέναντι στο *P. falciparum*, αλλά όχι στο *P. berghei*. Η εξειδίκευση που εμφανίζει το καθιστά ένα από τα πλέον κατάλληλα γονίδια για εκδήλωση προτύπων θετικής επιλογής. Με χρήση ειδικά σχεδιασμένων εκκινητών, το γονίδιο πολλαπλασιάστηκε στα 6 είδη (2 συνήθεις φορείς, 4 μη συνήθεις φορείς) που συνιστούν το σύμπλεγμα των ειδών του *An. gambiae*. Οι νουκλεοτιδικές αλληλουχίες που ελήφθησαν υποβλήθηκαν σε μια σειρά από στατιστικές δοκιμές (McDonald-Kreitman tests, Maximum Likelihood tests of positive selection) με στόχο να διερευνηθεί το πρότυπο φυσικής επιλογής που καθορίζει την εξέλιξη του συγκεκριμένου γονιδίου στα είδη φορείς της ελονοσίας και στα υπόλοιπα.

**SELECTION PATTERNS IN AN IMMUNITY GENE OF THE ANOPHELES
GAMBIAE COMPLEX OF SPECIES (MALARIA VECTORS)**

Moustaka M.¹, Parmakelis A.^{1,2}, Louis C.²

¹Dept. of Ecology and Taxonomy, Faculty of Biology, University of Athens, Panepisthmioupoli
Zografou, GR- 15784.

E-mails: marina_moustaka@hotmail.com ; aparmakel@biol.uoa.gr

²Dept. of Biology, University of Crete, Heraklion, P.O. Box: 2208, GR- 71409.

E-mail: louis@imbb.forth.gr

Malaria is the most important infectious disease and the most common cause of death in tropical and subtropical countries. Malaria is caused in humans by the protozoan parasite *Plasmodium falciparum* and is transmitted by some species of *Anopheles* mosquitoes. Co-evolution between this protozoan and its vector species may have resulted in adaptive changes in the immunity genes of the mosquitoes involved in the defense response towards the parasite. Using phylogenetic and population genetic methods, it is possible to ascertain if specific genes of the immune system exhibit signs of positive selection. If this hypothesis is in effect, then this must be evident in the vector species but not in the closely related non-vectors species. Therefore, we examined the AgMDL1 gene that was found (in microarray essays) to be regulating the defense against *P. falciparum* but not against *P. berghei*. The specificity exhibited by AgMDL1 is placing this gene in the list of the most crucial genes candidates of exhibiting patterns of positive selection. We used specifically designed primers in order to amplify this gene in the 6 species (2 vectors and 4 non-vectors) comprising the *An. gambiae* complex of species. The nucleotide sequences produced, were subjected to a series of statistical tests (McDonald-Kreitman tests, Maximum Likelihood tests of positive selection) in order to detect the pattern of selection acting on this gene and determining its evolution in the vector and non-vector species of *Anopheles*. The results of our study are discussed in concert with those available for other *Anopheles* immunity genes.

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗΣ *ADA2b* ΣΤΗΝ
ΑΥΞΗΣΗ ΤΗΣ ΡΙΖΑΣ ΚΑΙ ΤΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ PSII ΤΟΥ *ARABIDOPSIS*
THALIANA ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΞΗΡΑΣΙΑΣ**

**Μουστάκας Μ.¹, Καραδήμου Ε.¹, Βλαχονάσιος Κ.¹, Νικολούδη Α.¹ και Ρ.
Rodriguez²**

¹Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,
Πανεπιστημιούπολη 54124 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα. E-mail: moustak@bio.auth.gr

²Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas, Universidad Politécnica – C.S.I.C. Camino de
Vera, 46022 Valencia, Spain. E-mail: prodrig1@upvnet.upv.es

Στο γένος *Arabidopsis*, υπάρχουν δύο γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες που μοιάζουν με την ADA2 της ζύμης (η πρωτεΐνη ADA2 είναι ένας μεταγραφικός συν-ενεργοποιητής) και καθορίζονται *ADA2a* και *ADA2b*. T-DNA ενθέσεις στα γονίδια *ADA2b* προκαλούν σοβαρότατες επιδράσεις στην αύξηση και την ανάπτυξη των φυτών. Μελετήσαμε το ρόλο των πρωτεϊνών *ADA2b* στην ανάπτυξη της ρίζας και στη λειτουργία του Φωτοσυστήματος II (PSII) σε συνθήκες ξηρασίας. Σε θρεπτικό υπόστρωμα με άγαρ στο οποίο προστέθηκε πολυαιθυλενική γλυκόλη (PEG 6000), παρατηρήθηκε αύξηση στην επιμήκυνση της ρίζας σε 2% και 5% PEG τόσο στα ομόζυγα όσο και στα ετερόζυγα *ada2b* φυτά ενώ σε 10% PEG παρατηρήθηκε μείωση της ρίζας στα ετερόζυγα φυτά και καμία μεταβολή στην αύξηση της ρίζας στα ομόζυγα. Στις μετρήσεις φθορισμού της χλωροφύλλης, μετά από 2 μέρες έκθεσης σε 5% PEG τα ομόζυγα *ada2b* φυτά παρουσίασαν μεγάλη αύξηση της φωτοχημικής απόσβεσης (qP) και της απόδοσης φωτονίων του Φωτοσυστήματος II (ΦPSII) σε σύγκριση με τα ετερόζυγα φυτά. Τα παραπάνω αποτελέσματα δείχνουν πως στα φυτά άγριου τύπου οι *ADA2b* πρωτεΐνες συνδέονται με την αναστολή της έκφρασης ενός μηχανισμού ο οποίος προσδίδει ανθεκτικότητα στην ξηρασία. Παρ'όλα αυτά, με βάση τα πειραματικά μας δεδομένα δεν μπορούμε να διακρίνουμε εάν οι αρνητικές αυτές επιδράσεις αντιπροσωπεύουν μια άμεση δράση των πρωτεϊνών *ADA2b* στον αντίστοιχο μεταγραφικό ενεργοποιητή ή εάν οι επιδράσεις είναι δευτερογενείς ή έμμεσες.

Ευχαριστίες: Η συγκεκριμένη έρευνα χρηματοδοτήθηκε από την Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας.

THE ROLE OF THE TRANSCRIPTIONAL ADAPTOR *ADA2b* IN ROOT GROWTH AND PSII FUNCTION OF *ARABIDOPSIS THALIANA* UNDER DROUGHT STRESS

Moustakas M.¹, Karadimou E.¹, Vlachonasios K.¹, Nikoloudi A.¹, and P. Rodriguez²

¹Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, University Campus
54124 Thessaloniki, Greece. E-mail: moustak@bio.auth.gr

²Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas, Universidad Politécnica – C.S.I.C. Camino de
Vera, 46022 Valencia, Spain. E-mail: prodrig1@upvnet.upv.es

In *Arabidopsis*, there are two genes encoding proteins that resemble yeast ADA2, (ADA2 encodes a transcriptional adaptor protein) designated *ADA2a* and *ADA2b*. T-DNA disruption of *ADA2b* results in severe effects on plant growth and development. We investigated the role of ADA2b proteins on root growth and PSII function under drought conditions. In the nutrient-agar medium supplemented with polyethylene glycol (PEG 6000) primary root elongation was stimulated by 2% and 5% PEG in both homozygous and heterozygous *ada2b* plants, but in 10% PEG primary root elongation was unaffected in homozygous and reduced in heterozygous plants. In the chlorophyll fluorescence measurements, after two days exposure to 5% PEG, homozygous *ada2b* plants showed a significant increase in photochemical quenching (qP) and the quantum yield of PSII electron transport (Φ PSII) compared to heterozygous plants. These results suggest that in wild-type plants, the ADA2b protein is involved in inhibiting expression of a drought tolerance pathway. Our present experiments, however, cannot distinguish whether those negative effects represent direct activity of ADA2b at the corresponding promoter or if the effects are secondary or indirect.

Acknowledgements: This research was supported by a grant from the Greek General Secretariat for Research and Technology.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΞΩΓΕΝΟΥΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΕ ΦΥΤΑ *Arabidopsis thaliana* ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΣΤΡΕΣ ΞΗΡΑΣΙΑΣ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΤΗΣ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗΣ ΤΟΥ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗΣ

Μουστάκας Μ.¹, Σπερδούλη Η.¹, Κούνα Θ.¹, Αντωνοπούλου Χ.², και Ι. Θεριός²

¹Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,
Πανεπιστημιούπολη 54124 Θεσσαλονίκη.

E-mail: moustak@bio.auth.gr

²Εργαστήριο Δενδροκομίας, Τμήμα Γεωπονίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο
Θεσσαλονίκης, Πανεπιστημιούπολη 54124 Θεσσαλονίκη

Με τη μέθοδο της απεικόνισης του φθορισμού της χλωροφύλλης μελετήσαμε την ανθεκτικότητα σε στρες ξηρασίας (1, 6, 8, 10, 12, 16, 19 και 22 ημερών) φυτών *Arabidopsis thaliana* ηλικίας 4 εβδομάδων και φύλλων φυτών *Arabidopsis thaliana* ηλικίας 4 εβδομάδων στα οποία είχε γίνει για 1 εβδομάδα (4^η εβδομάδα) εξωγενής επίδραση 10 mM προλίνης. Η μέγιστη απόδοση φωτονίων στο σκοτάδι (Fv/Fm) παρουσίασε σημαντική μείωση στα φύλλα την 6^η ημέρα και ακολούθως ανέκαμψε πλήρως τη 12^η ημέρα για να σημειώσει νέα μείωση μετά την 16^η ημέρα. Στα φυτά που είχε γίνει εξωγενής επίδραση 10 mM προλίνης η μέγιστη απόδοση φωτονίων στο σκοτάδι διατηρήθηκε σχεδόν αμετάβλητη έως και την 22^η μέρα του στρες ξηρασίας εν αντιθέσει με αυτά που δεν είχε γίνει επίδραση και δεν άντεξαν πάνω από 19 ημέρες στρες ξηρασίας. Η ευεργετική επίδραση της εξωγενούς επίδρασης προλίνης ήταν εμφανής μετά από την 19^η ημέρα του στρες ξηρασίας, όπως προέκυψε από την μέγιστη απόδοση φωτονίων στο σκοτάδι και τον υπολογισμό της υπεροξειδίωσης των λιπιδίων καθώς δημιουργήθηκαν λιγότερες ενεργές μορφές οξυγόνου, πιθανόν λόγω της αυξημένης συγκέντρωσης της προλίνης η οποία λειτούργησε σαν μηχανισμός αντιοξειδωτικής προστασίας. Η αύξηση της συγκέντρωσης της προλίνης και των υδατανθράκων σε συνθήκες στρες ξηρασίας ήταν εμφανής μετά την 16^η ημέρα στρες ενώ στα φυτά που είχαν υποστεί την εξωγενή επίδραση 10 mM προλίνης, η συγκέντρωση της προλίνης την 19^η ημέρα του στρες ήταν υπερτριπλάσια και είχε ως αποτέλεσμα την ανθεκτικότητά τους στο στρες ξηρασίας.

Ευχαριστίες: Η συγκεκριμένη έρευνα χρηματοδοτήθηκε από την Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας.

EXOGENOUS APPLICATION OF PROLINE ON *Arabidopsis thaliana* PLANTS UNDER DROUGHT STRESS STUDIED BY CHLOROPHYLL FLUORESCENCE IMAGING

Moustakas M.¹, Sperdouli I.¹, Kouna T.¹, Antonopoulou C.² and I. Therios²

¹*Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, University Campus 54124 Thessaloniki, Greece. E-mail: moustak@bio.auth.gr*

²*Laboratory of Pomology, School of Agriculture, Aristotle University of Thessaloniki, University Campus 54124 Thessaloniki, Greece.*

By using chlorophyll fluorescence imaging, we studied the effect of drought stress (1, 6, 8, 10, 12, 16, 19 and 22 days) on four-week old *Arabidopsis thaliana* plants as well as on four-week old *Arabidopsis thaliana* plants supplemented for one week (4th week) with exogenous 10mM proline. The efficiency of PSII photochemistry (Fv/Fm) decreased significantly the 6th day of drought stress and then recovered fully on day 12th but decreased again after 16 days stress. The efficiency of PSII photochemistry of *Arabidopsis thaliana* plants with the exogenous application of proline remained almost unchanged up to the 22nd day of stress in contrast to those without proline that did not tolerate more than 19 days of drought stress. The beneficial effect of the exogenous application of proline was obvious after the 19th day of drought stress as revealed by the efficiency of PSII photochemistry and the assay of lipid peroxidation, since less reactive oxygen species were observed, possibly due to the increased proline concentration that provided effective antioxidant protection. The increased carbohydrate and proline concentration was obvious after 16 days of drought stress, while on the 19th day of stress proline concentration was more than 3-fold in the plants with the exogenous application of 10mM proline and resulted to drought tolerance.

Acknowledgements: This research was supported by a grant from the Greek General Secretariat for Research and Technology.

**ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ IFN- γ ΣΕ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ ΑΣΘΕΝΩΝ
ΜΕ ΜΗ-ΜΙΚΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟ ΠΝΕΥΜΟΝΑ****Μπάκα Σ., Οικονομοπούλου Μ.Θ., Ιακωβίδου-Κρίση Ζ.***Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, Ιατρική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο
Θεσσαλονίκης, Ελλάδα. E-mail: zik@med.auth.gr*

Οι ιντερφερόνες (INFs) ανήκουν στην υπεροικογένεια των κυτοκινών και χαρακτηρίζονται από πλειοτροπική δράση, αντιϊική, αντιμιτωτική, αντικαρκινική και ανοσορρυθμιστική. Έχουν περιγραφεί τρεις μεγάλες τάξεις INFs στον άνθρωπο: τύπου I (INFs α , β και ω), τύπου II (IFN- γ) και τύπου III. Αποτελούν γλυκοπρωτεϊνικά προϊόντα των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος των περισσότερων σπονδυλωτών, αλλά παράγονται και με την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA. Παρά το γεγονός ότι οι πολύπλοκοι μηχανισμοί δράσης αυτών παραμένουν ασαφείς, οι INFs βρίσκουν εφαρμογή στην κλινική πράξη για τη θεραπεία μολυσματικών ιώσεων και αριθμού κακοηθειών (μελάνωμα, λευχαιμία τριχωτών κυττάρων, μη Hodgkin's λέμφωμα). Διερευνάται, επίσης, η δράση των INFs ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό με άλλες θεραπευτικές προσεγγίσεις (ραδιοθεραπεία και χημειοθεραπεία) στον καρκίνο του πνεύμονα, τα αποτελέσματα όμως παραμένουν ασαφή. Πειραματικά δεδομένα υποστηρίζουν ότι μερικές κυτοκίνες μεταξύ των οποίων οι INFs α και γ εκδηλώνουν γενετοξικές ιδιότητες σε λεμφοκύτταρα καλλιέργειών περιφερικού αίματος φυσιολογικών ανθρώπων, αν και δεν έχουν διευκρινιστεί οι μηχανισμοί. Στόχος της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση της *in vivo* κυτταροτοξικής και κυτταροστατικής συμπεριφοράς της IFN- γ . Ασθενείς με μη-μικροκυτταρικό καρκίνο πνεύμονα, μη δυνάμενοι να δεχθούν χημειοθεραπεία ή χημειοραδιοθεραπεία, υποβλήθηκαν σε θωρακική ραδιοθεραπεία. Μετά την υποτροπή του όγκου ακολούθησε τοπική έγχυση IFN- γ μέσω ινο-οπτικού βρογχοσκοπίου. Σε καλλιέργειες περιφερικού αίματος των ασθενών αυτών αμέσως μετά τη διάγνωση, τριάντα μέρες μετά τη ραδιοθεραπεία και μετά την πέμπτη έγχυση IFN- γ , προσδιορίστηκαν η συχνότητα των SCEs (Sister Chromatid Exchanges, χρωματιδιακές ανταλλαγές) και οι τιμές του PRI (Proliferation Rate Index, δείκτης ρυθμού πολλαπλασιασμού). Οι SCEs χρησιμοποιούνται συχνά ως υψηλής ευαισθησίας δείκτης της βλάβης του DNA και/ή της επακόλουθης επιδιόρθωσής του. Μελέτη της μεταβολής της συχνότητας αυτών μπορεί να συνεισφέρει στη διερεύνηση της κυτταρογενετικής βλάβης, που προκαλείται από διάφορους γενετοξικούς παράγοντες σε χαμηλή συγκέντρωση. Το PRI έχει καθιερωθεί ως αξιόπιστος δείκτης κυτταροστατικότητας. Ο καθορισμός των ρυθμών πολλαπλασιασμού σε καλλιέργειες λεμφοκυττάρων έχει αποδειχθεί ένας ιδιαίτερα χρήσιμος και ευαίσθητος δείκτης της κυτταροστατικής δράσης διάφορων περιβαλλοντικών ή θεραπευτικών παραγόντων. Τα αποτελέσματα έδειξαν μη στατιστικά σημαντική μείωση της συχνότητας των SCEs και των τιμών PRI των καλλιέργειών των λεμφοκυττάρων μετά την αγωγή με IFN- γ , γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η IFN- γ όχι μόνο δεν είναι κυτταροτοξική, αλλά αντίθετα ενισχύει τους επιδιορθωτικούς μηχανισμούς, όπως αποδείχθηκε και από προγενέστερες μελέτες σε άλλα βιολογικά μοντέλα.

CYTOGENETIC EFFECTS OF INTERFERON- γ ON LYMPHOCYTES OF PATIENTS WITH NON-SMALL CELL LUNG CANCER

Baka S., Ekonomopoulou M.T., Iakovidou-Kritsi Z.

¹Laboratory of General Biology, Medical School, Aristotle University of Thessaloniki, Greece. E-mail: zik@med.auth.gr

Interferons (INFs) belong to the group of cytokines and are characterized by pleiotropic action, antiviral, antimitotic, antitumoral and immunoregulative. There are three major groups of human INFs: type I (INFs $-\alpha$, $-\beta$ and $-\omega$), type II (IFN- γ) and type III. They are glycoprotein products of immune cells of most vertebrates, but they can also be produced by the technology of recombinant DNA. Despite the fact that the mechanisms of action are yet unclear, INFs are applied clinically in the treatment of infectious viral diseases (hepatitis B and C) as well as in malignancies, such as melanoma, hairy cell leukemia and non-Hodgkin's lymphoma. INFs' effect alone or combined with other treatment modalities (radiotherapy and chemotherapy) in lung cancer are under investigation, but the results remain vague. Experimental data suggest that some cytokines, such as IFN- α and IFN- γ exhibit cytogenetic properties in human normal lymphocytes from peripheral blood, but the mechanisms are not clear. The aim of the present study is to investigate the *in vivo* cytotoxic and cytostatic activity of IFN- γ . Patients with non-small cell lung cancer not eligible for chemotherapy or chemoradiotherapy have been treated with thoracic radiotherapy. After tumour relapse local treatment with instillations of IFN- γ through the fiberoptic bronchoscope followed. SCEs (Sister Chromatid Exchanges) and PRI (Proliferation Rate Index) were evaluated in lymphocytes of peripheral blood cultures from these patients immediately after the diagnosis, thirty days after radiotherapy and after the fifth instillation of IFN- γ . SCEs have been frequently used as highly sensitive indicator of DNA damage and/or of subsequent DNA repair. The study of their frequency changes can contribute in the investigation of the cytogenetic damage induced by various genotoxic agents at low concentration. PRI has been established as a valuable indicator of cytostaticity. The determination of proliferation rates in lymphocytes cultures has been proved to be a very useful and sensitive indicator of the cytostatic action of various environmental hazards or therapeutic agents. Our results showed that there is a statistically non-significant decrease of SCEs frequency and PRI values in lymphocytes after treatment with IFN- γ , suggesting that IFN- γ hasn't cytotoxic activity, but, in contrary, induces the repair mechanisms, as it has been proved by earlier studies in other biological models.

ΠΟΛΛΑΠΛΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΡΥΘΜΙΣΗΣ ΤΗΣ ΑΠΟΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΗΣ J ΕΠΕΙΤΑ ΑΠΟ ΑΝΑΣΤΟΛΗ ΤΩΝ ΔΥΟ ΒΑΣΙΚΩΝ ΜΟΝΟΠΑΤΙΩΝ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Μπαλαντίνου Ε., Τρουγκάκος Ι.Π., Χονδρογιάννη Ν. και Ε.Σ. Γκόνος

*Εργαστήριο Μοριακής & Κυτταρικής Γήρανσης, Ινστιτούτο Βιολογικών Εφαρμογών & Βιοτεχνολογίας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, Λεωφ. Βασ. Κων/νου 48 11635 Αθήνα
E-mail: ebalantin@eie.gr*

Η Απολιποπρωτεΐνη J (ApoJ) είναι μια εκκρινόμενη γλυκοπρωτεΐνη η οποία εμπλέκεται σε μια πληθώρα φυσιολογικών διεργασιών. Σκοπός αυτής της εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης της αναστολής του πρωτεασώματος και του λυσοσώματος στην έκφραση της ApoJ, καθώς και αν αυτά τα δύο πρωτεολυτικά μονοπάτια εμπλέκονται στην αποικοδόμησή της. Ολική και μερική αναστολή του πρωτεασώματος οδήγησε σε αύξηση τόσο των πρωτεϊνικών επιπέδων όσο και του RNA της ApoJ σε U-2 OS και WI38 κύτταρα. Δεδομένου ότι μεταγραφικά στοιχεία των HSF-1 και AP-1 έχουν βρεθεί στον υποκινητή της ApoJ, μελετήθηκε εάν αυτή η υπερ-έκφραση της ApoJ κατόπιν πρωτεασωμικής αναστολής μεσολαβείται από έναν από αυτούς τους μεταγραφικούς παράγοντες. Προηγούμενη χορήγηση αναστολέα του HSF-1 κατήργησε την επαγωγή του mRNA και της πρωτεΐνης στα U-2 OS κύτταρα, ενώ μείωσε την επαγωγή του mRNA της ApoJ αφήνοντας αναλλοίωτα τα επίπεδα πρωτεΐνης σε WI38 κύτταρα. Ο αναστολέας του AP-1 δεν κατάφερε να εξαφανίσει αυτήν την επαγωγή της ApoJ και στις δύο κυτταρικές σειρές. Επιπλέον, πειράματα επώασης με ραδιενεργή μεθειονίνη και ώσης για μερικές ώρες παρουσία και μη αναστολέα του πρωτεασώματος απέδειξαν ότι η ενδοκυτταρική μορφή της ApoJ συσσωρεύεται όταν ανασταλεί το πρωτεάσωμα, ενώ πειράματα ανοσοκατακρήμνισης της ApoJ ανιχνεύουν επιπλέον μορφές υψηλότερου μοριακού βάρους, οι οποίες ενδέχεται να απεικονίζουν συμπικτινωμένες μορφές της ApoJ. Αναστολή του λυσοσώματος οδήγησε σε αύξηση μόνο των πρωτεϊνικών επιπέδων και όχι του RNA. Προσθήκη αντισώματος έναντι της ApoJ στο μέσο καλλιέργειας είχε ως αποτέλεσμα μείωση των επιπέδων πρωτεΐνης της εκκρινόμενης μορφής ενδοκυτταρικά, υποδεικνύοντας ότι η εκκρινόμενη ApoJ ενδοκυτταρώνεται και οδηγείται για αποικοδόμηση στο λυσόσωμα. Αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η υπερ-έκφραση της ApoJ συσχετίζεται με μεταγραφική ενεργοποίηση μέσω του HSF-1 κατόπιν αναστολής του πρωτεασώματος και μετα-μεταφραστική συσσώρευση ένεκα μειωμένης αποικοδόμησης από το πρωτεάσωμα και το λυσόσωμα.

MULTIPLE LEVELS OF APOLIPOROTEIN J REGULATION UPON INHIBITION OF THE TWO MAIN CELLULAR PROTEOLYTIC PATHWAYS

Balantinou E., Trougakos I.P., Chondrogianni N., and E.S. Gonos

*Molecular & Cellular Aging Laboratory, Institute of Biological Research & Biotechnology, National Hellenic Research Foundation, 48 Vas. Constantinou Ave. 11635 Athens
E-mail: ebalantin@eie.gr*

ApolipoproteinJ/Clusterin (CLU) is a secreted glycoprotein with numerous physiological roles. The aim of our work was to examine the effect of proteasome or lysosome inhibition on CLU expression and to determine whether those proteolytic pathways are implicated in CLU degradation. Complete, as well as partial proteasome inhibition increased both mRNA and protein levels of CLU in U-2 OS and WI38 cells. Since transcriptional elements of HSF-1 and AP-1 are found in CLU promoter, we sought to identify whether CLU mRNA up-regulation after proteasome inhibition is mediated by one of these transcription factors. Pre-treatment of cells with a HSF-1 inhibitor abolished both CLU mRNA and protein induction in U-2 OS cells; whereas, in WI38 cells, although it prevented CLU mRNA up-regulation it further increased CLU protein levels. The AP-1 inhibitor did not abolish proteasome-inhibition-mediated CLU up-regulation in either cell line. Furthermore, pulse-chase experiments revealed accumulation of the intracellular CLU protein form upon proteasome inhibition, while a CLU-specific antibody immunoprecipitated additional higher molecular weight bands after proteasome inhibition that may correspond to ubiquitinated CLU. Lysosome inhibition led to elevated levels of CLU protein but did not induce any changes in the RNA level. Addition of a CLU antibody to the cell medium resulted in reduced protein levels of the secreted form intracellularly, suggesting that secreted CLU is endocytosed and targeted for degradation at the lysosome. These findings indicate that CLU up-regulation relates to both positive transcriptional regulation by HSF-1, after proteasome inhibition, and post-translational accumulation due to reduced proteasomal and lysosomal degradation.

**ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΕΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ ΠΑΝΩ ΣΤΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΤΟΥ
ΛΕΣΣΕΨΙΑΝΟΥ ΜΕΤΑΝΑΣΤΗ *Siganus luridus* ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΥΡΥΤΕΡΗ
ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΟΥ ΜΕΣΣΗΝΙΑΚΟΥ ΚΟΛΠΟΥ (ΝΑ ΙΟΝΙΟ)**

Μπαρδαμάσκος Γ.¹, Μεγαλοφώνου Π.²

Τομέας Ζωολογίας και Θαλάσσιας Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, 15784, Αθήνα
E-mail : ¹gbardama@biol.uoa.gr, ²pmegalo@biol.uoa.gr

Από το Δεκέμβριο του 2005 έως και τον Μάρτιο του 2008, συνελήφθησαν συνολικά 441 άτομα του γερμανού, *Siganus luridus*, με ψαροτούφεκο και μανωμένα δίχτυα από την ευρύτερη περιοχή του Μεσσηνιακού κόλπου (ΝΑ Ιόνιο Πέλαγος). Απευθείας παρατηρήσεις στο πεδίο με ελεύθερη κατάδυση αποκάλυψαν ορισμένες πλευρές της συμπεριφοράς του είδους σε σχέση με την αποφυγή, αναχαίτιση και διαφυγή από τους θηρευτές, καθώς και την επιλογή ενδιαιτήματος και τις τακτικές τροφοληψίας. Το είδος δείχνει προτίμηση σε ενδιαιτήματα που όχι μόνο έχουν άφθονη τροφή (μακροφύκη), αλλά παράλληλα διαθέτουν και θέσεις απόκρυψης, όπως τρύπες και σχισμές στο βραχώδες υπόστρωμα ή/και συστάδες *Posidonia oceanica*, διότι με τον τρόπο αυτό ελαττώνεται η πιθανότητα σύλληψης από τους θηρευτές. Άλλη μια τακτική για να αποφεύγει να γίνεται αντιληπτό από τους θηρευτές είναι η εύκρυψη (eucrypsis), δηλαδή η αλλαγή του προτύπου χρωματισμού ώστε να μοιάζει με το φόντο του υποστρώματος και η ακινητοποίησή του κοντά σε αυτό. Ο γερμανός σχηματίζει κοπάδια διαφορετικών μεγεθών που αριθμούν από λιγότερα από 10 έως περισσότερα από 30 ψάρια. Παρατηρήθηκε η συμμετοχή ατόμων των ειδών *Sparisoma cretense* (σκάρος) και πιο σπάνια *Sarpa salpa* (σάλπα), στο ίδιο κοπάδι με τον *Siganus luridus* κατά την αναζήτηση τροφής. Δύο πιθανές εξηγήσεις για αυτό το φαινόμενο, που αμφότερες σχετίζονται με την αριθμητική αύξηση του κοπαδιού, είναι αφενός η αύξηση της ικανότητας της άμυνας απέναντι στους θηρευτές, αφετέρου η απόκτηση πρόσβασης σε περιοχές με άφθονη τροφή οι οποίες βρίσκονται εντός της επικράτειας άλλων φυτοφάγων ψαριών με χωροκρατική συμπεριφορά.

PRELIMINARY OBSERVATIONS ON THE BEHAVIOR OF THE LESSEPSIAN FISH *Siganus luridus* IN THE MESSINIAKOS GULF (SE IONIAN SEA)

Bardamaskos G.¹, and P. Megalofonou²

Department of Zoology-Marine Biology, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, 15784, Athens.

E-mail: ¹gbardama@biol.uoa.gr, ²pmegalo@biol.uoa.gr

From December 2005 to March 2008, a total of 441 specimens of the dusky spinefoot, *Siganus luridus*, was sampled by spear fishing and gillnets in the Messiniakos Gulf (SE Ionian Sea). Direct observations in the field while free diving revealed some aspects of the species' behavior considering predator avoidance, deterrence and evasion as well as habitat selection and foraging tactics. It seemed that the species prefers habitats not only with available food (macroalgae) but also with available cover, such as crevices and holes in the rocky substrate or *Posidonia oceanica* patches, because in that way risk of capture by predators is reduced. Another tactic to avoid being detected by predators is eucrypsis, namely to change its colour pattern to match the background and freeze as close to the substrate as possible. The dusky spinefoot forms schools of different sizes, from less than 10 to more than 30 fish. Individuals of *Sparisoma cretense* and -less frequently- *Sarpa salpa* were observed to participate in the same school with *Siganus luridus* in the search for food. Two possible explanations for this phenomenon, which both have to do with the increased school size, are to deter predators from attacking and to gain access to good foraging areas defended by other herbivores displaying territoriality.

ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΚΑΡΔΙΟΜΥΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΕ ΗΠΙΟ ΚΑΙ ΙΣΧΥΡΟ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

Μπαρλάκα Ε., Μάρκου Θ., και Α. Λάζου

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζωων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124. E-mail: lazou@bio.auth.gr

Το οξειδωτικό στρες αποτελεί μια σημαντική διαταραχή της καρδιάς και ενέχεται στην παθογένεση ενός μεγάλου αριθμού καρδιαγγειακών ασθενειών. Τα τελικά διαφοροποιημένα καρδιακά μυοκύτταρα αντιδρούν στις διάφορες μορφές οξειδωτικού στρες είτε μέσω της εκδήλωσης της υπερτροφίας είτε μέσω του κυτταρικού θανάτου ο οποίος λαμβάνει χώρα με την μορφή της απόπτωσης ή της νέκρωσης ανάλογα με τη δόση του ερεθίσματος. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση των αποκρίσεων των καρδιομυοκυττάρων ενήλικου αρουραίου υπό την επίδραση διαφορετικών δόσεων οξειδωτικού στρες. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν δυο διαφορετικές συγκεντρώσεις υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂), 0.02 και 0.2 mM, που αντιστοιχούν σε «ήπιο» και το «ισχυρό» οξειδωτικό στρες. Παρατηρήθηκε ότι η βιωσιμότητα των κυττάρων δεν επηρεάζεται από τις μικρές δόσεις οξειδωτικού στρες, σε αντίθεση με τις μεγαλύτερες (0.2 και 0.5 mM) για τις οποίες η βιωσιμότητα παρουσιάζει στατιστικά σημαντική μείωση. Για να διερευνηθεί αν τα καρδιακά μυοκύτταρα αντιδρούν σε καταστάσεις στρες με υπερτροφία, μετρήθηκε το μέγεθος τους, και διαπιστώθηκε ότι δεν επηρεάζεται από το «ήπιο» οξειδωτικό στρες. Η απόπτωση στις δεδομένες πειραματικές συνθήκες στηρίχθηκε στη αναλογία των αντί και προ-αποπτωτικών μελών της οικογένειας Bcl-2, η οποία αποτελεί σημαντικό δείκτη εκδήλωσης του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Διαπιστώθηκε ότι στο «ισχυρό» οξειδωτικό στρες τα ολικά επίπεδα της προ-αποπτωτικής Bax αυξάνονται ενώ τα ολικά επίπεδα της αντι-αποπτωτικής Bcl-2 μειώνονται. Αντίθετα η μικρή δόση δεν φαίνεται να επηρεάζει τα επίπεδα εκφρασης τους. Στη συνέχεια διερευνήθηκαν τα μονοπάτια μεταγωγής σήματος που ελέγχουν τις παραπάνω αποκρίσεις και πιο συγκεκριμένα οι ERKs, p38 MAPK και MSK1. Οι δυο διαφορετικές δόσεις H₂O₂ ενεργοποιούν τις παραπάνω κινάσες με διαφοροποίηση ως προς τα επίπεδα φωσφορυλίωσης τους. Επιπλέον, η φωσφορυλίωση της MSK1 μειώθηκε σημαντικά από τον αναστολέα SB203508 και όχι από τον PD98059, γεγονός που αποδεικνύει ότι η φωσφορυλίωση της εξαρτάται από την p38 MAPK και όχι από τις ERKs. Συνοψίζοντας, το «ήπιο» και το «ισχυρό» οξειδωτικό στρες επάγουν διαφορετικές αποκρίσεις των καρδιομυοκυττάρων ενεργοποιώντας παρόμοια σηματοδοτικά μονοπάτια αλλά με διαφορά ως προς την ένταση.

DIFFERENTIAL RESPONSE OF CARDIAC MYOCYTES TO MILD AND SEVERE OXIDATIVE STRESS

Barlaka E., Markou T., and A. Lazou

*Laboratory of Animal Physiology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki,
Thessaloniki 54124, Greece. E-mail: lazou@bio.auth.gr*

Oxidative stress has been implicated in the pathogenesis of a variety of cardiovascular diseases. The terminally differentiated cardiac myocytes respond to the different forms of oxidative stress either through adaptive growth (hypertrophy) or through cellular death which takes part as apoptosis or necrosis, depending on the dose of the stimuli. The aim of this study was to examine the response of adult rat cardiac myocytes to different doses of oxidative stress. In order to induce oxidative stress, two different concentrations of H₂O₂, 0.02 and 0.2 mM, were used, which are equivalent to "mild" and "severe" oxidative stress. Low doses of oxidative stress did not affect cell viability in contrast to the higher ones (0.2 and 0.5 mM) where cell viability appeared to have a statistically significant decrease. To determine whether cardiac myocytes respond to stress stimuli by hypertrophy, cell area was measured after exposure to oxidative stress. Mild oxidative stress did not result in cardiomyocyte hypertrophy. In addition, mild oxidative stress did not influence apoptosis as the levels of the pro-apoptotic Bax and anti-apoptotic Bcl-2 proteins did not change. On the other hand, severe oxidative stress increased the total levels of Bax while decreased Bcl-2 affecting, thus, the equilibrium between anti and pro apoptotic members of the Bcl-2 family proteins. The signaling pathways participating in these responses were also examined. The two different doses of H₂O₂ activated ERKs, p38 MAPK and MSK1 although the maximal response was different in each case. In addition, phosphorylation of MSK1 was decreased significantly by the SB203508 inhibitor but not by the PD98059, which led to the conclusion that the phosphorylation of MSK1 depends on p38 MAPK, not on ERKs. In conclusion, "mild" and "severe" oxidative stress lead to different responses of cardiac myocytes by differentially activating similar signaling pathways.

**ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ PPAR ΣΤΟ ΗΠΑΡ ΤΗΣ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ (*SPARUS AURATA*)
ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΜΕΡΙΚΗ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΩΝ ΙΧΘΥΕΛΑΙΩΝ ΜΕ ΕΛΑΙΑ
ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ**

Μπαστάκης Ε.Γ.,¹ Καϊτετζίδου Ε.,¹ Φουντουλάκη Ε.,² Αντωνοπούλου Ε.¹

¹ Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ.
E-mail: eaanton@bio.auth.gr

² Ινστιτούτο Υδατοκαλλιέργειών, ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε., Αγ. Κοσμάς, Αθήνα

Η αύξηση των ιχθυοκαλλιιεργειών σε συνδυασμό με το υψηλό κόστος των ιχθυοτροφών και με την ταυτόχρονη μείωση των ιχθυοαποθεμάτων καθιστούν επιτακτική την ανάγκη αντικατάστασης των ιχθυελαίων με έλαια φυτικής προέλευσης. Οι PPARs αποτελούν μεταγραφικούς παράγοντες που εμπλέκονται μεταξύ άλλων στο μεταβολισμό των σπονδυλωτών συμπεριλαμβανομένων και των τελεόστεων και απαντώνται σε τρεις ισομορφές (α, β και γ) με διακριτούς ρόλους. Στην παρούσα εργασία, χρησιμοποιήθηκαν τσιπούρες αρχικού μέσου βάρους 100gr, και μελετήθηκε η επίδραση της μερικής υποκατάστασης του ιχθυελαίου (FO) σε ποσοστό 70% στις τροφές, από τα ακόλουθα έλαια φυτικής προέλευσης: σογιέλαιο (SO), φοινικέλαιο (PO) και λάδι ελαιοκράμβης (RO). Η σίτιση διήρκησε 5 ½ μήνες. Η εκτροφή έγινε ανάλογα με το μέγεθος των ψαριών και τη θερμοκρασία. Η έκφραση των PPARs στο ήπαρ μελετήθηκε με Real Time PCR, χρησιμοποιώντας ειδικούς εκκινητές για την τσιπούρα. Η μερική υποκατάσταση των ιχθυελαίων με φυτικά έλαια φαίνεται να επηρεάζει την έκφραση των PPAR σε μεταγραφικό επίπεδο. Μάλιστα, ο PPAR α που εμπλέκεται στον καταβολισμό των λιπαρών οξέων, μειώθηκε σημαντικά στα ψάρια που σιτίστηκαν με φυτικά έλαια, σε σχέση με εκείνα που σιτίστηκαν με FO. Το ίδιο ισχύει και για τον PPAR β. Αντίθετα, η έκφραση του PPAR γ, που ελέγχει τη διαφοροποίηση του λιπώδους ιστού, επηρεάστηκε από το είδος του φυτικού ελαίου στην τροφή. Έτσι, η σίτιση με RO οδήγησε σε αύξηση του PPAR γ, σε αντίθεση με τη σίτιση με PO που μείωσε τα επίπεδα της έκφρασης του PPAR γ σε σχέση με τη σίτιση με FO. Επιπλέον, η σίτιση με SO δεν επηρέασε στατιστικά την έκφραση του PPAR γ. Συνεπώς, η έκφραση των PPAR ρυθμίζεται από διατροφικούς παράγοντες, υποδεικνύοντας τη σημασία των PPAR στη μεταβολική λειτουργία στα ψάρια.

**PPAR EXPRESSION IN THE LIVER OF SEA BREAM (*SPARUS AURATA*)
AFTER PARTIAL FISH OIL SUBSTITUTION WITH PLANT OIL SOURCES**

Bastakis E.G.¹, Kaitetzidou E.¹, Fountoulaki E.², Antonopoulou E.¹

¹ *Department of Zoology, School of Biology, A.U.Th., Thessaloniki*

E-mail: eaanton@bio.auth.gr

² *Hellenic Centre for Marine Research, Ag. Kosmas, Athens*

The increase in aquaculture in combination with the high cost of fish diet and the simultaneous reduce of fish stocks, result in the demand of partial substitution of fish oil with other plant oil sources. PPARs are transcription factors, involved in the regulation of energy metabolism in vertebrates including teleost fishes. There are three isotypes of PPARs (α , β and γ) with distinct functions. In the present study, sea bream of 100 gr were used and the partial substitution (70%) of fish oils (FO) with plant oils were given in the fish diets for 5^{1/2} months. The feeding protocol was adapted both to the fish weight and to water temperature. The plant oils that were used were: soy oil (SO), palm oil (PO) and rapeseed oil (RO). The expression of PPAR was studied with Real Time PCR using specific primers for sea bream. Fish oil partial substitution with plant oil sources affected the transcription mRNA levels of PPAR. PPAR α , which is involved in the fatty acid catabolism, decreased significantly in the fish with the three plant oil diets compared to the FO. This was also the case for PPAR β . On the other hand, PPAR γ , which is involved in the adipocyte differentiation, was either increased or decreased dependent on the plant oil sources. Thus, RO diet raised PPAR γ , in contrast to the PO diet which diminished the expression of it. However, SO diet did not affect PPAR expression. From these, it appears that PPAR expression is mediated by nutritional factors, suggesting the potential of PPAR role in the metabolic function in fish.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΤΗΣ ΚΑΡΒΑΚΡΟΛΗΣ, ΕΝΟΣ ΣΥΣΤΑΤΙΚΟΥ
ΤΟΥ *OREGANO VULGARE L. SPP HIRTUM IN VITRO*: Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ BCL-2**

Μπάτση Χ.¹, Λενέτη Ε.², Μάνος Γ.² και Ε. Κωλέττας¹

¹Εργαστήριο Φυσιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110 Ιωάννινα.

E-mail: ekoletas@cc.uoi.gr

²Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, Κωστάκιοι Άρτας, Τ.Ε.Ι. Ηπείρου, 47100 Άρτα.

E-mail: gmanos@teiep.gr

Συστατικά αρωματικών φυτών με αντι-οξειδωτική ικανότητα συμβάλλουν σημαντικά στην υγεία, παρεμποδίζοντας το οξειδωτικό στρες. Το αιθέριο έλαιο του *Oregano vulgare L. spp. hirtum* (ελληνική ποικιλία), διακρίνεται για την άριστη ποιότητα με υψηλές συγκεντρώσεις σε τοκοφερόλη, φαινολικές ενώσεις – όπως η καρβακρόλη και σε φλαβονοειδή. Από ελάχιστες, κυρίως χημικές μελέτες φαίνεται ότι έχουν αντι-οξειδωτική ικανότητα, όμως η βιολογική δράση ή/και ο μηχανισμός δράσης της καρβακρόλης (CAR) δεν έχει μελετηθεί. Καθώς θεωρείται ότι η CAR έχει πιθανές αντι-οξειδωτικές ιδιότητες, μελετήθηκαν οι επιδράσεις της στον πολλαπλασιασμό και την απόπτωση των κυττάρων Jurkat, καθώς επίσης και οι αντι-οξειδωτικές της δράσεις παρουσία υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂). Η καρβακρόλη, δε φαίνεται να έχει αντι-οξειδωτικές ιδιότητες και επήγαγε την απόπτωση των κυττάρων Jurkat διαμέσου της εξωγενούς πορείας απόπτωσης που διεξάγεται μέσω των υποδοχέων θανάτου, όπως ανιχνεύθηκε με την ενεργοποίηση των κασπασών-8 και -3 και την πρωτεολυτική διάσπαση της PARP-1. Επιπλέον, δεν παρεμπόδισε την απόπτωση που επάγεται από το H₂O₂. Επιπλέον, ενώ χαμηλές συγκεντρώσεις H₂O₂ επήγαγαν την απόπτωση, υψηλές συγκεντρώσεις επήγαγαν τη νέκρωση των κυττάρων Jurkat. Η επαγωγή της απόπτωσης οφείλονταν στην μειορρύθμιση της έκφρασης της αντι-αποπτωτικής πρωτεΐνης Bcl-2. Η υπερέκφραση της Bcl-2, ανέστειλε την απόπτωση των κυττάρων Jurkat που επάγεται από την καρβακρόλη και το H₂O₂.

Συγχρηματοδοτήθηκε από την ΕΕ στα πλαίσια του προγράμματος «ΑΡΧΙΜΗΔΗΣ Ι» του ΕΠΕΑΕΚ ΙΙ του 3^{ου} ΚΠΣ του ΥΠ.Ε.Π.Θ., με χρηματοδότηση από εθνικούς πόρους και το ΕΚΤ.

STUDY OF THE EFFECTS OF CARVACROL, A COMPONENT OF *OREGANO VULGARE* L. SPP *HIRTUM* IN VITRO: THE ROLE OF BCL-2

Batsi C.¹, Leneti E.², Manos G.², and E. Kolettas¹

¹Laboratory of Physiology, Medical School, University of Ioannina, 45110 Ioannina,
E-mail: ekolettas@cc.uoi.gr

²School of Agricultural Technology, T.E.I. of Epirus Greece, Kostakioi Artas, 47100 Artas,
E-mail: gmanos@teiep.gr

Components of aromatic plants with anti-oxidants properties contribute importantly to health by preventing oxidative stress. The ethereal oil of *Oregano vulgare* L. spp. *hirtum* (greek variant), is distinguished for its exceptional quality with high concentrations in *tokoferol*, *phenolic compounds* – such as carvacrol and *flavonoids*. Few, chemical studies have proved that they have anti-oxidant effects, but their biological action or/and the acting mechanism of carvacrol (CAR) has not been studied. It has been suggested that CAR has possible anti-oxidant properties. Due to this fact we investigated its effects on cell proliferation and apoptosis of Jurkat cells, as well as the anti-oxidant effects in the presence of hydrogen peroxide (H₂O₂). Carvacrol, did not have any anti-oxidant effects and induced the apoptosis of Jurkat cells through the death receptors. This was detected with the activation of caspase-8 and -3 and the proteolytic cleavage of PARP. Furthermore it did not prevent the H₂O₂ induced apoptosis. Moreover, low concentrations of H₂O₂ induced apoptosis while high concentrations induced necrosis of Jurkat cells. The induction of apoptosis was related to the downregulation of the expression of the anti-apoptotic protein Bcl-2. Overexpression of Bcl-2, suppressed the Carvacrol and H₂O₂ induced apoptosis of Jurkat cells.

This research was co-funded by the EU in the framework of the program “ARCHIMEDES I” of the “Operational Program for Education and Initial Vocational Training” of the 3rd Community Support Framework of the Hellenic Ministry of Education, funded by national sources and the ESF.

**ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΗΣ ΚΑΤΑΓΡΑΦΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ
ΧΑΡΑΚΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΤΩΝ ΣΠΑΡΟΕΙΔΩΝ *DIPLODUS ANNULARIS* ΚΑΙ
DIPLODUS VULGARIS ΣΤΟ ΒΟΡΕΙΟ ΑΙΓΑΙΟ**

Μπαχαρίδης Π., Δεληγιώργη Ε.-Σ., Τσίκληρας Α., Αντωνοπούλου Ε.

Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., 541 24, Θεσσαλονίκη
E-mail: eantono@bio.auth.gr

Τα δύο σπαροειδή (σπάρος, *Diplodus annularis* και κακαρέλος, *Diplodus vulgaris*) μοιράζονται συχνά το ίδιο ενδιαίτημα. Απαντώνται κυρίως σε αμμώδεις και βραχώδεις βυθούς καθώς και σε λειμώνες φανερόγαμων (*Posidonia* sp., *Zostera* sp.). Για τον προσδιορισμό των βιολογικών χαρακτηριστικών καταγράφηκε το ολικό μήκος (TL, cm) και βάρος (W, gr) των ατόμων, εξετάστηκε το στομαχικό περιεχόμενο και υπολογίστηκαν ο ηπατοσωματικός (HSI) και γοναδοσωματικός δείκτης (GSI) καθώς και οι παράμετροι αύξησης για το κάθε είδος. Για τα άτομα *D. annularis* (n = 135) με μέσο TL=11,81±1,14 και μέσο W=30,20±0,93, ο HSI υπολογίστηκε 0,996±0,004 και ο GSI 0,382 ± 0,004. Αντίστοιχα, για το *D. vulgaris* (n = 76) με TL=118,07±2,08 και W=31,06±1,88, ο HSI υπολογίστηκε 0,812±0,008 και ο GSI 0,167±0,009. Οι παράμετροι αύξησης που υπολογίστηκαν για το *D. annularis* ήταν $L_{\infty}=20,11$ cm, $K=0,21$ yr⁻¹ και $t_0=-1,81$ yr ενώ για το *D. vulgaris* βρέθηκαν $L_{\infty}=16,4$ cm, $K = 0,36$ yr⁻¹ και $t_0=-1,16$ yr. Με την ανάλυση του στομαχικού περιεχομένου για το *D. annularis* (n = 107) με μέσο βάρος στομαχιού= 0,21±0,12 προέκυψε ότι σε βιομάζα επικράτησαν τα ροδοφύκη, ενώ σε αριθμό ατόμων τα καρκινοειδή. Για το *D. vulgaris* (n = 42) με βάρος στομαχιού = 0,15 ± 0,16 επικράτησαν τόσο σε βιομάζα όσο και σε αριθμό ατόμων τα καρκινοειδή. Η εργασία θα συνεχιστεί με ανάλυση περισσότερων δειγμάτων ανά εποχή.

Χρηματοδοτήθηκε από τη ΓΓΕΤ Υπουργείο Ανάπτυξης στο πλαίσιο των Διακρατικών Συνεργασιών Ελλάδας-Τυνησίας 2005-2007.

PRELIMINARY RESULTS OF BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE SPARID SPECIES *DIPLODUS ANNULARIS* AND *DIPLODUS VULGARIS* IN NORTH AEGEAN

Baharidis P., Deligiorgi E-S., Tsikliras A., Antonopoulou E.

*Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki.*E-mail: eamtono@bio.auth.gr*

Both sparid species (annular seabream, *Diplodus annularis* and common two banded seabream, *Diplodus vulgaris*) often share the same habitat and are mostly found in sandy and rocky bottoms as well as in sea-grass beds (*Posidonia* sp., *Zostera* sp.). The total length (TL, cm) and body weight (W, gr) were recorded for all specimens for the determination of their biological characteristics. Furthermore, a stomach content analysis was performed and hepatosomatic (HSI) and gonadosomatic (GSI) indexes were calculated. Finally, the growth parameters were also calculated. For the *D. annularis* specimens (n=135) with mean TL=118,14±1,14 and mean W=30,20±0,93, the average value of the HSI was 0,996±0,004 and the GSI was 0,382±0,004. Respectively, for the *D. vulgaris* specimens (n=76) with mean TL=118,07±2,08 and mean W=31,06±1,88, the average value of the HSI was 0,812±0,008 and the GSI was 0,167±0,009. The growth parameters for *D. annularis* were found $L_{\infty}=20,11$ cm, $K=0,21$ yr⁻¹ and $t_0 = -1,81$ yr and for *D. vulgaris* were found as following: $L_{\infty}= 16,4$ cm, $K=0,36$ yr⁻¹ and $t_0 = -1,16$ yr. The results that derived from the stomach content analysis of *D. annularis* (n= 107) with stomach weight=0,21±0,12 showed a weight dominance of Rhodophyceae and a numeric dominance of Crustaceans. On the other hand, in *D. vulgaris* stomach content (n= 42) with stomach weight=0,15±0,16 Crustaceans dominated either in mass or in number. This work is in progress with more seasonal samples.

Supported by GSRT of the Ministry of Development under the Research and Cooperation scheme between Greece and Tunisia.2005-2007

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΕΙΔΙΚΩΝ ΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΤΗΣ ΕΝΕΡΓΟ-ΠΟΙΗΣΗΣ ΤΟΥ
ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ NF-κΒ ΣΤΟ Κ.Ν.Σ. ΣΤΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΤΗΣ
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΑΥΤΟΑΝΟΣΗΣ ΕΓΚΕΦΑΛΟΜΥΕΛΙΤΙΔΑΣ ΣΕ ΠΟΝΤΙΚΙΑ**

**Μπεϊνά Σ.^{1,2}, Εμμανουήλ Μ.¹, Ταουφίκ Έ.¹, Τσέλιος Θ.³, Flavell R.⁴, Karin M⁵,
Παπαζαφείρη Π.², Probert L.¹**

*¹Εργαστήριο Μοριακής Γενετικής, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Αθήνα., ²
Τομέας Φυσιολ. Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Αθήνα, E-mail: sofia_biology@yahoo.gr ³Τομέας Οργανικής Χημείας, Τμήμα
Χημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών, ⁴Section of Immunobiology and Howard Hughes
Medical Institut, Yale University, USA, ⁵Laboratory of Gene Regulation and Signal
Transduction, Department of Pharmacology, UCSD, USA*

Η Πειραματική Αυτοάνοση Εγκεφαλομυελίτιδα (ΠΑΕ) είναι ένα ζωϊκό μοντέλο για την Σκλήρυνση κατά Πλάκας (MS) στον άνθρωπο. Στη μελέτη αυτή, θελήσαμε να προσδιορίσουμε τον κυτταροειδικό ρόλο του μεταγραφικού παράγοντα NF-κΒ στη ΠΑΕ σε ποντίκια. Για την ενεργοποίηση του κανονικού μονοπατιού του NF-κΒ απαραίτητη είναι η καταλυτική δράση της ΙΚΚβ κινάσης που συμμετέχει στο ΙΚΚ σύμπλοκο κινασών. Χρησιμοποιήσαμε το Cre-loxP σύστημα ανασυνδυασμού για να επιτύχουμε κυτταροειδικό αποκλεισμό της ΙΚΚβ κινάσης, σε ενδοθηλιακά και μακροφάγα/ μικρογλοιακά κύτταρα σε ποντίκια. Διασταυρώσαμε διαγονιδιακά ποντίκια όπου η Cre ρεκομπινάση ενεργοποιείται από τον Tie2 υποκινητή με τα αντίστοιχα ΙΚΚβ^{F/F} ποντίκια που φέρουν ειδικές αλληλουχίες (floxed-F) οι οποίες αναγνωρίζονται από την Cre στη γονιδιακή περιοχή της ΙΚΚβ (endΙΚΚβΚΟ). Αντίστοιχα, στα μακροφάγα/ μικρογλοιακά κύτταρα η Cre ρεκομπινάση ενεργοποιείται από τον Mac1/CD11b υποκινητή (mΙΚΚβΚΟ). Πραγματοποιήσαμε χαρακτηρισμό των Mac1/CD11b-Cre ποντικών μετά από διασταύρωση με ROSA ποντίκια αναφοράς και ιστολογική ανάλυση τμημάτων του εγκεφάλου. Στη συνέχεια, έγινε ανοσοποίηση με το πεπτιδίο MOG₃₅₋₅₅ στα endΙΚΚβΚΟ, στα mΙΚΚβΚΟ και τα αντίστοιχα ποντίκια ελέγχου (ΙΚΚβ^{F/F}), και παρακολουθήσαμε την πορεία της νόσου. Στα endΙΚΚβΚΟ δεν υπήρξε διαφορά στην κλινική εικόνα σε σχέση με τα ποντίκια ελέγχου, ενώ στα mΙΚΚβΚΟ παρατηρήσαμε καθυστέρηση στην έναρξη και τάση για πιο ήπια κλινική εικόνα κατά την χρόνια φάση. Για τον λόγο αυτό μελετήσουμε την ικανότητα αντιγονοπαρουσίασης στα mΙΚΚβΚΟ σε σχέση με τα ποντίκια ελέγχου ex vivo. Συμπερασματικά, ο ρόλος της ΙΚΚβ κινάσης και άρα του NF-κΒ στο Κ.Ν.Σ. ποικίλει ανάλογα με τον κυτταρικό τύπο που μελετάται κατά την ΠΑΕ.

STUDY OF CELL-SPECIFIC EFFECTS OF TRANSCRIPTION FACTOR NF- κ B ACTIVATION IN THE C.N.S. IN EXPERIMENTAL AUTOIMMUNE ENCEPHALOMYELITIS MODEL IN MICE

Beina S.^{1,2}, Emmanouil M.¹, Taoufik E.¹, Tselios T.³, Flavell R.⁴, Karin M.⁵, Papazafiri P.², Probert L.¹

¹Laboratory of Molecular genetics, Hellenic Pasteur Institute, Athens ² Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens, Athens, E-mail: sofia_biology@yahoo.gr ³ Department of Organic-Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Patras, Patra ⁴ Section of Immunobiology and Howard Hughes Medical Institut, Yale University, USA, ⁵Laboratory of Gene Regulation and Signal Transduction, Department of Pharmacology, UCSD, USA

Experimental Autoimmune Encephalomyelitis (EAE) is an animal for Multiple Sclerosis (MS) in human. In this study, we tried to determine the cell-specific role of transcription factor NF- κ B during EAE in mice. IKK β kinase is an essential catalytic component of the IKK kinase complex involved in the activation of the canonical NF- κ B pathway. We used the Cre-loxP recombination system to achieve cell-specific deletion of IKK β kinase, in endothelial cells and macrophages/microglia in mice. We crossed transgenic mice in which Cre recombinase is driven by the Tie2 promoter with IKK $\beta^{F/F}$ transgenic mice which bear specific sequences (floxed - F) recognised by Cre in IKK β gene (endIKK β KO). Correspondingly, for specific deletion of IKK β kinase in macrophages/microglia, we used transgenic mice in which Cre recombinase is driven by Mac1/CD11b promoter (mIKK β KO). We characterized Cre expression in Mac1/CD11b-Cre mice using ROSA reporter mice and performed histological analysis of brain sections. We immunized with MOG₃₅₋₅₅ peptide to induce EAE in endIKK β KO, mIKK β KO and littermate control mice (IKK $\beta^{F/F}$) and followed daily the disease course. We observed that clinical symptoms of the disease in endIKK β KO are identical to control, but, on the contrary, there is a delay in the disease onset and a trend for more mild clinical course during the chronic phase in mIKK β KO compared to control. Therefore, we also studied the antigen-presentation capacity in mIKK β KO compared to control mice ex vivo. In conclusion, it seems that the contribution of IKK β kinase, and thus NF- κ B, in the C.N.S. during EAE varies according to the cell type studied.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΟΓΚΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΣΥΝΘΕΤΙΚΟΥ ΠΕΠΤΙΔΙΟΥ HB-19

Μπίρμπας Χ.¹, Courty J.² και Κατσώρης Π.¹

¹Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας. ²University Paris 12, Dept. of Biology,
Paris, France.

Το HB-19 είναι ένα συνθετικό πεπτίδιο που προσδένεται στην νουκλεολίνη της κυτταρικής επιφάνειας. Η νουκλεολίνη είναι μια πρωτεΐνη μοριακού βάρους 110 kDa, που απαντάται στον πυρήνα, το κυτταρόπλασμα αλλά και στην επιφάνεια των κυττάρων, συνδεδεμένη με διαμεμβρανικές πρωτεΐνες οπότε και δρα ως υποδοχέας χαμηλής συγγένειας αυξητικών παραγόντων, λιποπρωτεϊνών και ορισμένων ιών. Παρουσιάζει πλήθος λειτουργιών, αλληλεπιδρώντας τόσο με πρωτεΐνες, όσο και με νουκλεϊκά οξέα. Στη συγκεκριμένη εργασία μελετήσαμε την βιολογική δράση του πεπτιδίου HB-19 και βρέθηκε ότι το HB-19 αναστέλλει την *in vitro* δέσμευση των αυξητικών παραγόντων MK (Midkine) και HARP (Heparin Affin Regulator Peptide) στην επιφάνεια κυττάρων CHO (Chinese Hamster Ovary). Το πεπτίδιο αυτό αναστέλλει τον *in vitro* πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων B16 και MDA-MB231, των κυττάρων HUVEC και την *in vitro* αγγειογένεση που επάγουν οι αυξητικοί παράγοντες HARP, VEGF και FGF στα κύτταρα αυτά. Επίσης παρουσιάζει *in vivo* ογκοκατασταλτική δράση και βρέθηκε να αναστέλλει την αγγειογένεση στο σύστημα της χοριοαλλαντοϊδικής μεμβράνης εμβρύου όρνιθας. Το HB-19 δεσμεύεται στη νουκλεολίνη της επιφάνειας του κυττάρου και την άσκηση των βιολογικών του δράσεων διαμεσολαβούν οι κινάσες SRC και ERK1/2 καθώς αναστέλλει την ενεργοποίησή τους σε κύτταρα HUVEC. Τέλος, μελετήθηκε η δράση δυο ακόμα συνθετικών πεπτιδίων, τροποποιημένων μορφών του HB-19, τα οποία αναστέλλουν την αγγειογένεση στο σύστημα της χοριοαλλαντοϊδικής μεμβράνης εμβρύου όρνιθας, σε μικρότερο όμως βαθμό από το HB-19. Συνοψίζοντας τα παραπάνω αποτελέσματα, φαίνεται ότι το HB-19 εμφανίζει βιολογικές δράσεις που το καθιστούν υποψήφιο μόριο για αντινεοπλασματική χρήση.

STUDY OF THE ANTI TUMOR ACTION OF THE SYNTHETIC PEPTIDE HB-19

Birmpas Ch.¹, Courty J.² and Katsoris P.¹

¹University of Patras, Department of Biology, ²University Paris 12, Dept. of Biology, Paris, France.

HB-19 is a synthetic peptide which binds cell surface expressed nucleolin. Nucleolin is a ubiquitous and multifunctional 110 kDa protein interacting with various proteins, DNA and RNA sequences. It is involved, inter alia, in chromatin organization, transcription, rRNA maturation, ribosome assembly and acts as a shuttling protein between cytoplasm and nucleus. Nucleolin is expressed also in the cell surface where it acts as a low affinity receptor of growth factors, lipoproteins and certain viruses. Cell surface expressed nucleolin acts also as a protein chaperone, during the translocation of bind protein through the cell. In the present work, we investigated the biological actions of the peptide HB-19. Our results suggest that HB-19 inhibits the *in vitro* binding of growth factors MK (Midkine) and HARP (Heparin Affin Regulator Peptide) to the surface of CHO cells. HB-19 inhibits the *in vitro* cell proliferation of various cell lines, inhibits cell proliferation and angiogenesis induced by HARP. Furthermore, HB-19 inhibits the *in vivo* tumor growth angiogenesis on the chicken embryo CAM assay. HB-19 binds to cell surface expressed nucleolin and in its biological action possibly involved SRC and ERK1/2 kinases as HB-19 induces their activation in HUVEC cells. We also studied the action of two other peptides, modified forms of HB-19, which inhibits angiogenesis on the chicken embryo CAM assay, but in smaller degree from HB-19. Taken together, these results indicate that HB-19 could constitute an interesting tool for tumor therapy strategy.

**Ο ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΣ ΠΡΟΘΥΜΟΣΙΝΗΣ α ΚΑΙ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΤΟΥ MIF
ΕΝΙΣΧΥΕΙ ΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ ΦΟΝΙΚΩΝ
ΚΥΤΤΑΡΩΝ *IN VITRO***

**Μπιρμπίλης Α.^{1,3}, Καραχάλιου Χ. Ε.¹, Ιωάννου Κ.¹, Σκοπελίτη Μ.¹,
ΑΙ-Αbed Υ.², Θυφρονίτης Γ.³, Τσιτσιλώνη Ο.¹**

¹Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ,

²The Feinstein Institute for Medical Research, New York,

³Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων.

Τα φυσικά φονικά (NK) κύτταρα έχουν ως κύρια λειτουργία τους την αναγνώριση και τη λύση νεοπλασματικών κυττάρων και κυττάρων μολυσμένων από ιούς. Η ενεργοποίησή τους επάγεται μετά από αλληλεπίδρασή τους με αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα, όπως τα μονοκύτταρα-μακροφάγα και τα δενδριτικά κύτταρα. Στην παρούσα μελέτη, επιδράσαμε με διαλυτούς παράγοντες στα μονοκύτταρα-μακροφάγα, ώστε να επιτύχουμε την παραγωγή και έκκριση από αυτά των κατάλληλων κυτταροκινών, που ενισχύουν την αντικαρκινική δράση των NK κυττάρων. Συγκεκριμένα, ενεργοποιήσαμε συνδυαστικά μονοκύτταρα-μακροφάγα (από τις σειρές THP-1 και U937 και περιφερικό αίμα υγιών δοτών), με (1) το πολυπεπτίδιο μήκους 109 αμινοξέων προθυμοσίνη α (προΤα) και το ανοσοδραστικό της πεπτίδιο προΤα(100-109), γνωστά για την επαγωγή της παραγωγής IL-12 από τα μακροφάγα και (2) με 4 συνθετικούς μεταβολίτες-αναστολείς της δράσης του, κατασταλτικού για τα NK κύτταρα, MIF, τους ISO-1, KFIII-53y, KFIII-54w και KFIII-55y. Η φαγοκυτταρική ικανότητα των μονοκυττάρων-μακροφάγων προσδιορίστηκε με τη δοκιμασία zymosan, η κυτταροτοξική ικανότητα των NK κυττάρων με τη πρότυπη δοκιμασία 51-χρωμίου και οι κυτταροκίνες στο υπερκείμενο καλλιέργειών μονοκυττάρων με ELISA. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η προΤα και το προΤα(100-109) σε συνδυασμό με ιδιαίτερα χαμηλές συγκεντρώσεις αναστολέων του MIF ενίσχυσαν την αντιμικροβιακή δραστηριότητα των μονοκυττάρων-μακροφάγων και αύξησαν την κυτταροτοξικότητα των NK κυττάρων *in vitro*. Η εδραίωση του παραπάνω συνδυαστικού πρωτοκόλλου είναι δυνατό, μελλοντικά, να οδηγήσει στη χρησιμοποίησή του στην ανοσοθεραπεία του καρκίνου, με σκοπό την επαγωγή της βέλτιστης αντικαρκινικής απόκρισης των NK κυττάρων.

Χρηματοδότηση: ΓΓΕΤ Διακρατική συνεργασία Ελλάδας-ΗΠΑ (05 NON EU-404)

**THE COMBINATION OF PROTHYMOSIN α AND MIF INHIBITORS
ENHANCES THE CYTOTOXICITY OF NATURAL KILLER CELLS *IN VITRO***

**Birmpilis A.^{1,3}, Karachaliou X. E.¹, Ioannou K.¹, Skopeliti M.¹,
Al-Abed Y.², Thyphronitis G.³, Tsitsiloni O.¹**

¹*Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens,*

²*The Feinstein Institute for Medical Research, New York*

³*Faculty of Biological Applications and Technologies, University of Ioannina.*

Natural killer (NK) cells' primary function is the recognition and lysis of neoplastic cells and virus-infected cells. Their activation is induced upon their interaction with antigen-presenting cells, such as monocytes-macrophages and dendritic cells. In this study, we treated monocytes with soluble factors, in order they produce and secrete cytokines, capable of enhancing the anti-cancer activity of NK cells. Specifically, we concomitantly activated monocytes-macrophages (from the cell lines THP-1 and U937 and the peripheral blood of healthy donors), with (1) the 109 amino-acid long polypeptide prothymosin α (proT α) and its immunoreactive peptide proT α (100-109), both known to induce the production of IL-12 by macrophages and (2) 4 synthetic metabolites-inhibitors of MIF, i.e., ISO-1, KFIII-53y, KFIII-54w and KFIII-55y, as MIF is known to exert an inhibitory effect on NK cells. The phagocytic capacity of monocytes-macrophages was evaluated using the zymosan assay, the cytotoxic ability of NK cells was determined by standard ⁵¹Cr assay and cytokines in the supernatant of monocytes-cell cultures were measured using ELISA. Our results show, that proT α and the peptide proT α (100-109) in combination with relatively low concentrations of MIF inhibitors enhanced the antimicrobial activity of monocytes-macrophages and increased the cytotoxicity of NK cells *in vitro*. The consolidation of this combined protocol, could eventually lead to its future use in cancer immunotherapy, aiming to induce optimal immunologic-anticancer responses of NK cells.

Funding: GSRT, Bilateral cooperation between Greece-USA (05 NON EU-404)

**ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΤΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ ΑΞΙΩΝ ΤΟΥ ΠΑΡΚΟΥ ΤΟΥ Α.Π.Θ.,
ΜΕΣΑ ΑΠΟ ΜΙΑ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΚΑΤΑΓΙΣΜΟΥ ΙΔΕΩΝ**

Μπλιώνης Γ.Ι., Πυροβέτση Μ.Δ., Παντής Ι.Δ.

*Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., 541 24, Θεσσαλονίκη.
E-mail: blionis@bio.auth.gr*

Στα πλαίσια των εργαστηρίων του μαθήματος της Περιβαλλοντικής Εκπαίδευσης στο Τμήμα Βιολογίας του Α.Π.Θ., κατά το έτος 2005, εφαρμόστηκε η μέθοδος του καταγισμού ιδεών, αφενός για να γίνει επίδειξη εφαρμογής της μεθόδου και αφετέρου για να καταγραφούν οι απόψεις των φοιτητών σχετικά με την αξία του Πανεπιστημιακού Πάρκου του Α.Π.Θ. Σε ένα τρίτο επίπεδο, στόχος ήταν να διερευνηθούν και να συνειδητοποιήσουν οι φοιτητές τις πολλαπλές αξίες του Πάρκου, ώστε να ευαισθητοποιηθούν και να κινητοποιηθούν για την προστασία του. Συνεπώς, η συγκεκριμένη εφαρμογή συνδυάζει και στοιχεία ανάλυσης αξιών. Επιλέχθηκε το συγκεκριμένο θέμα γιατί επρόκειτο για τον πιο κοντινό και οικείο στους φοιτητές χώρο πρασίνου, αλλά και γιατί αντιμετωπίζει έντονες πιέσεις μαζί με αρκετά προβλήματα υποβάθμισης και συρρίκνωσης, που πιθανότατα συνδέονται και με μια χαμηλή εκτίμηση του χώρου από τους κύριους χρήστες του. Οι απαντήσεις κατηγοριοποιήθηκαν μέσα από μια διαδικασία ποιοτικής ανάλυσης, σύμφωνα με βασικές κατηγορίες περιβαλλοντικών αξιών που έχουν προταθεί στη βιβλιογραφία. Αναδείχθηκε ο κυρίαρχος ρόλος αξιών κοινωνικής χρησιμότητας, ενώ καταγράφηκαν και αξίες που έχουν χαρακτηριστεί «βιοκεντρικές», όπως η αξία για τη βιοποικιλότητα μέσα στην πόλη (παροχή ενδιαιτημάτων χλωρίδας και πανίδας). Ωστόσο, δεν έλλειψε και η καταγραφή αρνητικών αξιών, όπως η «στέρωση πολύτιμων θέσεων στάθμευσης αυτοκινήτων» ή η «αύξηση της πιθανότητας εγκληματικών πράξεων κατά τις νυκτερινές ώρες». Η συγκεκριμένη εφαρμογή, αλλά και η κατηγοριοποίηση, μπορούν να φανούν πολλαπλά χρήσιμες για την προσέγγιση περιβαλλοντικών αξιών σε μαθητές, φοιτητές, πολίτες που ζουν και εργάζονται εντός Προστατευόμενων Φυσικών Περιοχών, ή σε αστικές περιοχές και σε άλλες κοινωνικές ομάδες που εμπλέκονται σε κοινωνικές αντιπαραθέσεις με περιβαλλοντικό χαρακτήρα. Στην κατηγορία των αξιών κοινωνικής χρησιμότητας καταγράφηκαν και αξίες μάλλον τολμηρές, όπως η αξία του πάρκου για ερωτικά ραντεβού («πολύτιμος χώρος σε ζευγαράκια»). Τέτοιες προτάσεις δεν γίνονται σε πιο αυστηρές και αργές διαδικασίες, κάτι που αποβαίνει εις βάρος της ζωντανίας, της σπιρτάδας και της οικειότητας που τόσο ιδιαίτερα μπορεί να αναδείξει ο καταγισμός ιδεών. Αυτό προέκυψε από τη σύγκριση της μεθόδου με άλλες τεχνικές, είτε πιο παραδοσιακές, όπως οι κλασικού τύπου προφορικές απαντήσεις των φοιτητών στην ερώτηση, είτε πιο πρωτοποριακές, όπως το παιχνίδι ρόλων. Επίσης, διαπιστώθηκε η υπεροχή της μεθόδου σε χαρακτηριστικά όπως η ταχύτητα και η πληθώρα παραγωγής ιδεών. Τα πλεονεκτήματα αυτά της μεθόδου συζητούνται σε σύγκριση με τα αναφερόμενα από τη βιβλιογραφία μειονεκτήματα και συνάγονται συμπεράσματα που μπορούν να αποβούν χρήσιμα για την εφαρμογή του καταγισμού ιδεών μέσα στην τάξη.

BRAINSTORMING AS A MEANS OF ANALYZING ENVIRONMENTAL VALUES OF A.U.Th. CAMPUS PARK

Blionis G.J., Pyrovetsi M.D., Pantis J.D.

*Department of Ecology, School of Biology, A.U.Th., 541 24, Thessaloniki.
E-mail: blionis@bio.auth.gr.*

Within the frame of Environmental Education undergraduate course at the School of Biology of A.U.Th., in 2005, we applied a brainstorming session in order: a) to exhibit the process of this teaching method and b) to record the student views concerning the environmental values of the University Campus Park. At another level, we aimed at encouraging the students to reflect on and realize the multiple values of the Park, in order to increase their awareness, sensitization, and motivation for protection. Consequently, the particular application combines elements of Values Realization. The Campus Park was chosen as a green space very close to the every day life of the students, facing intense pressures and problems of degradation that are possibly linked with a low appreciation by its main users. The answers were categorized through a process of qualitative analysis, based on major categories of environmental values found in the bibliography. Values of social usefulness were the most numerous. Values that have been termed "biocentric", like the "provision of habitats for species of flora and fauna", were also present. It was interesting to record even negative values, like the "occupation of valuable spaces for car parking" and the "increase of the possibility for criminal actions during the night". The particular application, as well as the categorization made, may be found useful for analysing environmental values by pupils, students, citizens who live and work within protected natural areas or urban areas, and generally social groups that are involved in conflicts on environmental issues. Within the category of social usefulness values, we recorded also propositions of a rather unusual type, like the "provision of valuable space for romantic dates". Usually, such statements are not revealed through more traditional teaching processes, depriving them from the liveliness, ingenuity and familiarity that characterize E.E. We reached to this conclusion, which is in accordance with other relevant research, through comparing the outcomes with those from a traditional questioning and answering session (Q & A), as well as from more modern methods, such as role playing. Brainstorming also proved to reveal plethora of ideas produced in a very short period. These advantages are discussed in a cross examination with the disadvantages that are reported in the bibliography, and useful recommendations are drawn for applying brainstorming in Environmental Education.

**ΜΕΛΕΤΗ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ ΑΓΚΥΡΟΒΟΛΗΣΗΣ ΚΑΙ ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗΣ ΤΗΣ
ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ NS4B ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΗΣ ΗΠΙΑΤΙΤΙΔΑΣ C (HCV) ΣΤΟ
ΕΝΔΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΟ ΔΙΚΤΥΟ (ΕΔ): ΣΥΝΤΗΞΗ ΤΗΣ NS4B ΜΕ ΤΟ ΕΝΖΥΜΟ ΤΗΣ
ΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ CD39 ΑΝΑΔΕΙΚΝΥΕΙ ΕΝΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ
ΣΥΣΤΗΜΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗΣ
ΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΤΟ ΕΔ.**

Μπολέτη Χ.^{1,4}, Σμυρλή Δ.², Χριστοφορίδης Σ.³, Μαυρομαρά Π.⁴

¹Μονάδα Οπτικής Μικροσκοπίας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Βασ. Σοφίας 127, Αθήνα
11521, E-mail: hboleti@pasteur.gr

²Εργαστήριο Μοριακής Παρασιτολογίας, Τμήμα Μικροβιολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο
Παστέρ, Βασ. Σοφίας 127, Αθήνα 11521, E-mail: penny@pasteur.gr

³Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων & Βιοϊατρικό
Ερευνητικό Ινστιτούτο FoRTH, Ιωάννινα, E-mail: schristo@cc.uoi.gr

⁴Εργαστήριο Μοριακής Ιολογίας, Τμήμα Μικροβιολογίας Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ,
Βασ. Σοφίας 127, Αθήνα, E-mail: penelopm@pasteur.gr

Η NS4B, μια πολυ-διαμεμβρανική πρωτεΐνη του HCV εντοπίζεται στο ΕΔ των μολυσμένων κυττάρων και είναι απαραίτητη στην αντιγραφή του ιικού γονιδιόματος. Η μελέτη μας εξευνά τη φύση σηματοδοτικών αλληλουχιών της NS4B που αγκυροβολούν και συγκρατούν την πρωτεΐνη στη μεμβράνη του ΕΔ. Μια σειρά από μεταλλάξεις ελλείψεως με τμήματα από το NH₂-τελικό μισό της NS4B εκφράστηκαν σαν χημειρικές πρωτεΐνες με την εξω-νουκλεοτιδάση CD39. Το μεμβρανικό ένζυμο CD39 έχει δύο διαμεμβρανικές περιοχές με ισχυρή σηματοδοτική αλληλουχία για εντοπισμό στην κυτταροπλασματική μεμβράνη. Ο εντοπισμός και η τοπολογία αυτών των χημειρικών πρωτεϊνών αναλύθηκε με συνεστιακή μικροσκοπία και μελέτη της ενζυμικής ενεργότητας της εξω-ΑΤΡάσης των NS4B-CD39 χημειρικών πρωτεϊνών στην επιφάνεια επιμολυσμένων κυττάρων που εκφράζουν τις χημειρικές πρωτεΐνες. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η 2^η προβλεπόμενη διαμεμβρανική περιοχή (TMD2) της NS4B απαιτείται για τη διεύθυνση της προβλεπόμενης διαμεμβρανικής περιοχής 1 (TMD1) στη μεμβράνη του ΕΔ ενώ οι διαμεμβρανικές περιοχές 1+2 (TMD1 και TMD2) συνεργικά φαίνεται να συμβάλουν στη συγκράτηση των χημειρικών πρωτεϊνών στο ΕΔ. Η μελέτη αυτή επιδεικνύει ότι εντοπισμός και συγκράτηση μιας πρωτεΐνης στη μεμβράνη του ΕΔ μπορεί να οφείλεται σε συνεργική δράση πολλαπλών δομικών στοιχείων της πρωτεΐνης, που συχνά είναι δύσκολο να εντοπισθούν από *in silico* ανάλυση. Παράλληλα η μελέτη αυτή ανέδειξε ένα πειραματικό σύστημα για την αναγνώριση αλληλουχιών συγκράτησης πρωτεϊνών στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου.

STUDY OF THE ER ANCHORING AND RETENTION SIGNALS OF THE HCV NS4B PROTEIN: FUSION OF NS4B TO THE PLASMA MEMBRANE ENZYME CD39 REVEALS AN EXPERIMENTAL SYSTEM TO IDENTIFY ER RETENTION SIGNALS

Boleti H.^{1,4}, Smirlis D.², Christoforidis S.³, Mavromara P.⁴

¹Light Microscopy unit, Institut Pasteur Hellenique, 127 Vas. Sofias Ave., 11521, Athens Greece, E-mail: hboleti@pasteur.gr

²Molecular Parasitology Laboratory, Dep. of Microbiology, Institut Pasteur Hellenique, 127 Vas. Sofias Ave., 11521, Athens Greece, E-mail : penny@pasteur.gr

³Lab. of Biological Chemistry Medical School. Univ. of Ioannina, Biomedical Research Institute, FoRTH, Ioannina, Greece, E-mail : schristo@cc.uoi.gr

⁴Molecular Virology Laboratory, Dep. of Microbiology, Institut Pasteur Hellenique, 127 Vas. Sofias Ave., 11521, Athens Greece, E-mail: penelopm@pasteur.gr

The Hepatitis C virus (HCV) NS4B protein, an endoplasmic reticulum (ER) associated multispinning membrane protein with four predicted transmembrane domains, plays an important role in HCV replication. This study investigated the nature of signals in the NS4B sequence that mediate targeting, anchoring and retention in the ER membrane. A series of NS4B deletion mutants containing parts of its N-terminus were expressed as chimeras with the ectonucleotidase CD39 at the C-terminus of the NS4B deleted polypeptides. CD39 is a double spanning membrane enzyme with a strong plasma membrane targeting signal. The localization and topology of these mutants were analyzed by immunofluorescence and by assaying the ecto-ATPase activity of the NS4B CD39-chimeras at the surface of transfected cells. Our results indicate that the putative Transmembrane Domain 2 (TMD 2) is required for insertion of putative TMD1 in the ER membrane while both TMD1 and TMD2 together seem to contribute to the retention of the N-terminal half of the NS4B molecule in the ER. However, retention in the ER also requires sequences upstream the NS4B transmembrane domains. This study shows that targeting and retention of a protein in the ER membrane may result from the concerted action of several structural motifs often difficult to be defined as ER targeting or retention signals by *in silico* analysis. Additionally this study revealed an efficient experimental system to identify ER retention signals.

**ΑΠΛΗ ΑΝΤΙΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΑΜΙΝΟΞΙΚΩΝ ΚΑΤΑΛΟΙΠΩΝ ΤΗΣ RAD51
ΠΡΟΚΑΛΕΙ ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΤΗΝ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΤΗΣ, ΣΕ
ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ**

**Μπούτου Ε.¹, Παπαδημητρίου Κ.¹, Παλιακάσης Κ.¹, Παππά Β.²,
Stuerzbecher H.-W.³ και Κ. Βοργιάς¹**

¹Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Αθήνα, Ελλάδα
E-mail: eboutou@biol.uoa.gr, cvorgias@biol.uoa.gr

²Μονάδα Έρευνας, Β' Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική, ΓΠΝ Αττικών, Αθήνα, Ελλάδα

³Institute of Pathology, UK-SH, Campus Luebeck, Luebeck, Γερμανία

Η διατήρηση της ακεραιότητας του γονιδιώματος εξασφαλίζεται από την ανοικτή επικοινωνία μεταξύ των μηχανισμών επιδιόρθωσης του DNA, της ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου και της βιωσιμότητας ενός κυττάρου. Κομβικό ρόλο στη σύνδεση των προαναφερθεισών μονοπατιών κατέχει ο βασικός παράγοντας επιδιόρθωσης του DNA μέσω ομόλογου ανασυνδυασμού, Rad51, που αλληλεπιδρά παράλληλα με τις πρωτεΐνες BRCA2 και p53. Οι πρωτεΐνες BRCA2 και p53 εμπλέκονται τόσο στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου όσο και στον έλεγχο της βιωσιμότητας ενός κυττάρου, ανάλογα με την αποτελεσματικότητα της επιδιόρθωσης. Ειδικά η BRCA2 ρυθμίζει την διαθεσιμότητα, την ενεργότητα καθώς και την υποκυτταρική τοπολογία της Rad51. Με στόχο τη διερεύνηση σε μοριακό επίπεδο της αλληλεπίδρασης της Rad51 με την BRCA2 σχεδιάστηκε, δημιουργήθηκε και μελετήθηκε μια σειρά απλών αμινοξικών μεταλλαγών της Rad51 (Rad51mx, x:2,3,5,6,8,9), που αναμενόταν να επηρεάσουν την δημιουργία συμπλόκου μεταξύ Rad51 και BRCA2. Παρατηρήθηκε τροποποίηση της υποκυτταρικής κατανομής των μεταλλαγμένων μορφών της Rad51, συνδεδεμένων με την κυανή φθορίζουσα πρωτεΐνη (ECFP-Rad51mx), σε σχέση με την Rad51 φυσικού τύπου (Rad51wt), συνδεδεμένη με την κίτρινη φθορίζουσα πρωτεΐνη (EYFP-Rad51wt). Ειδικότερα, οι Rad51m5 και Rad51m6 εντοπίζονται κυρίως στον πυρήνα του κυττάρου σε αντίθεση με την κυτταροπλασματική κυρίως κατανομή τόσο της Rad51wt όσο και των Rad51m2,3,8,9. Επιπλέον, η Rad51m6, μεταναστεύει στον πυρήνα και η μετανάστευση αυτή συνοδεύεται αρχικά από αλλαγή του κυτταρικού κύκλου και ακόλουθο θάνατο του κυττάρου που την εκφράζει μέσω ενός μονοπατιού που δεν περιλαμβάνει διάσπαση της πολυμεράσης PARP. Το φαινόμενο αυτό δεν παρατηρείται σε κύτταρα που υπολείπονται της Caspase-3 (MCF7).

SINGLE AMINO-ACID RESIDUE SUBSTITUTIONS OF RAD51 STRONGLY AFFECT ITS BEHAVIOUR IN CARCINOMA CELLS

**Boutou E.¹, Papadimitriou K.¹, Paliakassis C.¹, Pappa V.²,
Stuerzbecher H.-W.³, and C. Vorgias¹**

¹*Dept. of Biochemistry & Molecular Biology, Faculty of Biology, Athens University, Athens, Greece, E-mail: eboutou@biol.uoa.gr, cvorgias@biol.uoa.gr*

²*2nd Propaeudeutic Clinic of Internal Medicin , Attikon University Hospital, Athens*

³*Institute of Pathology, UK-SH, Campus Luebeck, Luebeck, Germany*

Effective dialogue between pathways controlling DNA repair through homologous recombination, cell cycle progression and cell fate determination ensures genomic integrity. DNA recombinase Rad51, through its physical interaction with at least BRCA2 and p53, seems to play a crucial role in such processes. Moreover, BRCA2 is considered to regulate Rad51's subcellular location as well as Rad51's nuclear translocation and function in DNA repair foci. In order to further analyse Rad51-BRCA2 interaction, a number of Rad51 mutant forms, (Rad51mx, x:2,3,5,6,8,9), were created, expected to affect Rad51-BRCA2 complex formation. Expression of these mutants forms in various cell lines in junction to the Enhanced Cyan Fluorescent Protein (ECFP-Rad51mx) showed that: i) Rad51m5 and Rad51m6 are detected in the cell nucleus in contrast with Rad51wt and Rad51m2,3,8,9 which remain mainly in the cytoplasm. ii) Rad51m6 translocation to the nucleus is accompanied by cell cycle modification and later on by cell death, independent of PARP cleavage pathway. Quite interestingly, Caspace-3 defective MCF7 Rad51m6 expressing cells remain viable.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΑΠΟΦΛΟΙΩΜΕ-
ΝΟΥ ΣΗΣΑΜΙΟΥ ΣΕ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΖΩΑ ΣΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΟΙΣΤΡΟΓΟ-
ΝΙΚΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ER α ΚΑΙ ER β ΣΤΟΝ ΠΡΟΣΤΑΤΗ ΚΑΙ ΤΗ ΜΗΤΡΑ
ΑΡΟΥΡΑΙΩΝ**

Μυτηληνάκης Μ.Χ., Αναγνώστης Α. και Α.Ι. Παπαδόπουλος

*Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών
Επιστημών, ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ*

Κατά τα τελευταία χρόνια όλο και περισσότερη έρευνα πραγματοποιείται στον τομέα των βιοδραστικών τροφίμων με στόχο την βελτίωση ή έστω διατήρηση σε καλή κατάσταση της υγείας μας. Σύμφωνα με μελέτες κατά τα τελευταία χρόνια το σησάμι συγκαταλέγεται στην κατηγορία αυτή των τροφίμων και του έχει προσδοθεί και φυτοοιστρογόνος δράση. Έχει διαπιστωθεί ότι περιέχει πλήθος χημικών ενώσεων γνωστών ως λιγνάνια που πέρα από την πιθανή φυτοοιστρογόνο δράση τους διαθέτουν και αντιοξειδωτικές, και αντιμεταλλαξιγόνες ιδιότητες. Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας καταβλήθηκε προσπάθεια για τη μελέτη της επίδρασης του χρόνου κατανάλωσης απόφλοιωμένου σησαμιού μέσω της διατροφής στην έκφραση των οιστρογονικών υποδοχέων ER α και ER β στη μήτρα και τον προστάτη πειραματοζώων. Για το σκοπό χορηγήθηκε σε ομάδες αρουραίων Wister, τροφή εμπλουτισμένη σε ποσοστό 30% με αποφλοιωμένο σησάμι για χρονικό διάστημα 2,4,6 και 8 εβδομάδων. Μέσω της μεθοδολογίας Western blotting διαπιστώθηκε μία αυξητική τάση στην έκφραση του ER α στη μήτρα ανάλογη με τη διάρκεια χορήγησης της τροφής ενώ παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση στην έκφραση του ER β στον προστάτη. Έχει προγραμματιστεί να προσδιοριστούν και τα επίπεδα του mRNA για τον κάθε ένα από τους δύο τύπους οιστρογονικών υποδοχέων στους ίδιους ιστούς με την μεθοδολογία της Quantitative RT-PCR ώστε να αποκτήσουμε μία ευκρινέστερη και πληρέστερη άποψη.

**EFFECT OF TIME PERIOD SUPPLYING A SESAME RICH DIET UPON THE
EXPRESSION OF ESTROGEN RECEPTORS ER α ER β IN PROSTATE AND
UTERUS OF WISTER RATS**

Mitilinakis M.C., Anagnostis A., Papadopoulos A.I.

*Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Faculty of Sciences,
ARISTOTLE UNIVERSITY OF THESSALONIKI*

During the last few years, intense research is conducted in the field of bioactive food with the objective to improve or at least maintain our health in a good state. According to studies during the last few years, sesame is included to this food category chemical compounds known as lignans are contained in sesame that, beyond the possible phytoestrogenic action, they have also antioxidant and antimutational characteristics. In this research, effort was made to study the impact that time has, during consumption of shelled sesame, in the expression of the estrogen receptors ER α and ER β in the uterus and prostate of experimental animals. For this purpose, food enriched with shelled sesame by 30% was given to groups of Wister rats for time period of 2, 4, 6 and 8 weeks. By applying the Western Blotting methodology, an increase of the expression levels of ER α in uterus was ascertained proportional to the duration of food supplied while a significant increase of the expression of ER β was observed in prostate. It is programmed to define the mRNA levels for each type of both estrogen receptors in the same tissues using Quantitative RT – PCR in order to obtain a more clear and precise picture.

ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΕΡΙΟΧΩΝ ΑΚΡΑΙΑΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΣΤΑ ΠΛΗΡΗ ΠΡΩΤΕΩΜΑΤΑ ΔΥΟ ΦΥΤΩΝ

Μυτιληναίου Ε., Κιρμιτζόγλου Ι., Προμπονάς Β.

Ερευνητικό Εργαστήριο Βιοπληροφορικής, Τμήμα Βιολογικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο
Κύπρου, ΤΘ 20537, CY 1678, Λευκωσία, Κύπρος. E-mail: vprobou@ucy.ac.cy

Η ολοκλήρωση του προσδιορισμού της αλληλουχίας των βάσεων των γονιδιωμάτων δύο σημαντικών τόσο από βιολογική-βιοτεχνολογική όσο και από οικονομική άποψη φυτών (*Arabidopsis thaliana* και *Oryza sativa*) άνοιξε το δρόμο για τη διεξαγωγή συγκριτικών γονιδιωματικών μελετών. Τέτοιου είδους μελέτες αναμένεται να ρίξουν φως στη λειτουργία και εξέλιξη όχι μόνο των συγκεκριμένων ειδών αλλά και των φυτικών οργανισμών γενικότερα. Με δεδομένο ότι το % περιεχόμενο σε GC των γονιδιωμάτων του *A. thaliana* και του *O. sativa* παρουσιάζει σημαντικές διαφορές, πραγματοποιήσαμε την παρούσα έρευνα ώστε να διαπιστώσουμε: (1) κατά πόσο αυτές οι διαφορές αντικατοπτρίζονται στην εμφάνιση των περιοχών ακραίας σύστασης (ΠΑΣ) σε συγκεκριμένα αμινοξικά κατάλοιπα και (2) να εντοπίσουμε πιθανούς συσχετισμούς με τη λειτουργία των αντίστοιχων πρωτεϊνικών μορίων. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήσαμε τους ευρύτερα διαδεδομένους αλγορίθμους για τον εντοπισμό ΠΑΣ (SEG, CAST). Το πρότυπο εμφάνισης ΠΑΣ του *A. thaliana* ήταν περισσότερο όμοιο με τα γονιδιώματα-ελέγχου (*Mus musculus*, *Homo sapiens*, *Caenorhabditis elegans*). Αξιοσημείωτη ήταν η παρατήρηση ότι στο *O. sativa*, περίπου 37% των ΠΑΣ αντιστοιχούσαν στο κατάλοιπο Ala (κωδικόνια GCN), γεγονός που υποδεικνύει συσχετισμό με το %GC. Παράλληλα, εντοπίσαμε τις πιθανές ορθόλογες πρωτεΐνες με βάση την τεχνική bidirectional best hit αναζήτησης με το λογισμικό BLASTP και επιπλέον εφαρμογή αυστηρών ευριστικών φίλτρων για αποφυγή 'ψευδώς θετικών' ευρημάτων. Στη συνέχεια συσχετίσαμε τους τύπους ΠΑΣ (ή την απουσία τους) μεταξύ ορθόλογων πρωτεϊνών με το σχολιασμό με βάση το Gene Ontology. Προέκυψε ότι η διατήρηση ή όχι ΠΑΣ μεταξύ ορθόλογων σχετίζεται με συγκεκριμένους τύπους λειτουργιών ή βιολογικών διεργασιών, όπως Binding, Motor activity, Biopolymer metabolism (GO: 0005488, 0003774, 0043283) [διατήρηση τύπου ΠΑΣ], Lipid metabolism (GO:0006629) [τα ορθόλογα δεν έχουν ΠΑΣ]. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι η μελέτη των ΠΑΣ μπορεί να δώσει λειτουργικές αλλά και εξελικτικές πληροφορίες σε γονιδιωματικό επίπεδο.

COMPARATIVE ANALYSIS OF COMPOSITIONALLY BIASED REGIONS OF TWO COMPLETE PLANT PROTEOMES

Mytilineou E., Kirmitzoglou I., Promponas V.

Bioinformatics Research Laboratory, Department of Biological Sciences, University of Cyprus, P.O. Box 20537, CY 1678, Nicosia, Cyprus. E-mail: vprobou@ucy.ac.cy

The recent completion of the genomes of two plant species of utmost biological-biotechnological and financial interest (namely *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa*) have paved the way towards comparative plant genomic analyses. Studies of this kind may shed light into the function and evolution of the respective species but also of plant species in general. Taking into account that *A. thaliana* and *O. sativa* possess significant differences in %GC content, we carried out this research in order to answer the following questions: (1) whether these differences are reflected in the appearance of compositionally biased regions (CBRs) in the proteins encoded by these genomes and (2) investigate any possible correlation with functional aspects of the respective protein molecules. Along these lines we have employed the most widespread algorithms for CBR detection (SEG, CAST). Our results indicate that *A. thaliana* exhibits a CBR pattern reminiscent of those identified in our control genomes (*Mus musculus*, *Homo sapiens*, *Caenorhabditis elegans*). A significant observation was that in the *O. sativa* proteome, approximately 37% of CBRs correspond to the amino acid type Ala (codons GCN), thus indicating a strong correlation with %GC content. In addition, we identified putatively orthologous proteins, utilizing the bidirectional best BLASTP hit approach and filtering with strict heuristics in order to avoid unwanted false positives. Then we correlated CBR types (or their absence) between orthologous proteins with annotations obtained by Gene Ontology for *A. thaliana* gene products. We report that conservation of the CBR type (or its absence) is strongly correlated to specific functions or biological processes, such as Binding, Motor activity, Biopolymer metabolism (GO: 0005488, 0003774, 0043283) [orthologs with the same CBR type], Lipid metabolism (GO:0006629) [orthologs without any CBR]. Our results indicate that the detailed study of CBRs may provide both functional and evolutionary information both at the gene/protein and the genomic/proteomic level.

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ ΠΟΥ ΕΠΑΓΟΝΤΑΙ ΑΠΟ
ΤΟ BENZO[α]ΠΥΡΕΝΙΟ ΣΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ A549**

Νεοφύτου Χρ., Παπαζαφείρη Π.

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπων, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (PAHs) είναι διαδεδομένοι περιβαλλοντικοί ρύποι και έχουν αναγνωριστεί ως χημικά μεταλλαξογόνα.. Η πρόκληση μεταλλαγής εξαρτάται από την διεισδυτικότητα των PAHs στο κύτταρο, την τοξικότητά τους και την ικανότητα που έχουν να συνδέονται ομοιοπολικά με το DNA. Ο τρόπος δράσης των PAHs είναι έμμεσος αφού μπορούν να επιδράσουν μόνο μετά από μεταβολική ενεργοποίηση. Αντιπροσωπευτικό μέλος των PAH είναι το βενζο[α]πυρένιο (B[a]P) το οποίο έχει συσχετιστεί με την καρκινογένεση. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα πνεύμονα, A549, με στόχο να διερευνηθεί η επίδραση του B[a]P στο σηματοδοτικό μονοπάτι της πρωτεϊνικής κινάσης Akt και του παράγοντα HIF-1α, ενώ παράλληλα εξετάστηκε η πιθανότητα σύνδεσης των δύο μονοπατιών σε αυτό το κυτταρικό σύστημα. Τα αποτελέσματα, έδειξαν ότι επώαση των κυττάρων με B[a]P, οδηγεί σε μικρή αύξηση της ενεργοποιημένης Akt ενώ παρατηρείται έντονη ενεργοποίηση της Akt παρουσία αυξανόμενης συγκέντρωσης ορού. Στην περίπτωση του HIF-1α, τα επίπεδά του ελαττώνονται παρουσία B[a]P, ενώ παρουσία ορού παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων όπως και στην ενεργοποιημένη Akt. Παρατηρήσαμε, επίσης, ότι το BaP δεν προκαλεί κατακερματισμό του DNA. Συμπερασματικά, φαίνεται ότι στο συγκεκριμένο σύστημα η σύνδεση μεταξύ του μονοπατιού επιβίωσης της Akt και του παράγοντα HIF-1α παρατηρείται μόνο παρουσία αυξητικών παραγόντων ενώ ο μηχανισμός δράσης του B[a]P στις δύο αυτές πρωτεΐνες φαίνεται να είναι ανεξάρτητος. Επιπλέον, το B[a]P δεν φαίνεται να δρα προ-αποπτωτικά στο συγκεκριμένο σύστημα.

**INVESTIGATION OF SIGNALING PATHWAYS INDUCED BY
BENZO[a]PYRENE IN THE A549 CELL LINE**

Neophytou Ch., Papazafiri P.

Department of Animal and Human Physiology, School of Biology, Faculty of Sciences, National and Kapodistrian University of Athens

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are ubiquitous environmental pollutants that have been identified as chemical mutagens. Induction of a mutation depends on their ability to infiltrate the cell membrane and to bind covalently with DNA, as well as on their toxicity. PAHs need to be metabolized in order to induce mutations. Benzo[a]pyrene (BaP) is a representative member of the PAHs family and has been characterized as a carcinogen. In the present study we have used human lung epithelial cells, A549, in order to investigate the effects of B[a]P on the activation of the survival pathway of Akt and the stabilization of the transcriptional factor HIF-1a. In parallel, we tested any possible correlation between the above pathways. Our results showed that treatment with B[a]P lead to a slight increase of activated Akt levels while a more significant activation of the Akt pathway is induced when cells are incubated with increased concentrations of serum. On the other hand, HIF-1a protein levels showed a decrease in the presence of B[a]P but responded as the activated Akt in the presence of increasing serum concentrations. Also, no DNA fragmentation was observed during treatment with B[a]P. In conclusion, it seems that correlation between the two activation pathways is observed only in the presence of growth factors whereas B[a]P seems to affect these two proteins in an independent manner. Furthermore, B[a]P does not seem to induce apoptosis in this cell line.

ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΕΙΣ ΤΑΣΕΙΣ ΣΤΟ ΑΝΑΣΤΗΜΑ ΚΑΙ ΣΤΙΣ ΣΩΜΑΤΙΚΕΣ ΑΝΑΛΟ- ΓΙΕΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΣΥΓΧΡΟΝΟΥ ΕΛΛΗΝΙΚΟΥ ΦΟΙΤΗΤΙΚΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ

Νικηφόρου Μ., Παπαχριστοφόρου Χ., Δρετάκη Ο., & Σ.Κ. Μανώλης

Ερευνητική Ομάδα Βιολογικής Ανθρωπολογίας, Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου,
Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη
15781 Αθήνα. Email: smanol@biol.uoa.gr

Μια δευτερογενής τάση είναι μια προοδευτική αλλαγή κατά τη διάρκεια του χρόνου. Οι δευτερογενείς τάσεις στα ανθρώπινα μορφολογικά γνωρίσματα που εκτείνονται στα τελευταία 200 χρόνια είναι καλά τεκμηριωμένες. Γενικά, οι τάσεις είναι περιγραφές των αλλαγών στο ανάστημα, βάρος, ή τους δείκτες ωριμότητας. Πολλοί παράγοντες συμβάλλουν στις δευτερογενείς τάσεις των ανθρωπομετρικών διαμέτρων. Αν και η πρωταρχική αιτία των δευτερογενών τάσεων παραμένει άγνωστη, μερικές από τις συχνότερα αναφερόμενες πιθανότητες είναι η βελτιωμένη υγεία και διατροφή, οι ρυθμοί ανάπτυξης και ωρίμανσης που αλλάζουν, και οι αλλαγές στο κοινωνικοοικονομικό επίπεδο. Ο στόχος της παρούσας εργασίας είναι να αξιολογηθούν οι δευτερογενείς αλλαγές στο ανάστημα και διάφορες άλλες διαμέτρους και δείκτες μεταξύ δύο χρονικών περιόδων (1985-1992 και 2001-2007) στους φοιτητές του Τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Αθηνών. Μετρήθηκαν το ανάστημα, το ύψος καθημένου, η διακρωμική διάμετρος, και η εγκάρσια πυελική διάμετρος. Το μήκος κάτω άκρου υπολογίστηκε ως ανάστημα μείον το ύψος καθημένου. Επίσης υπολογίστηκε και η αναλογία ύψους καθημένου/αναστήματος (SHSR). Παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των αρρένων των δύο χρονικών περιόδων, ιδιαίτερα στο μέσο ανάστημα, στο ύψος καθημένου, στην εγκάρσια πυελική διάμετρο και στο μήκος κάτω άκρου. Μια άλλη χαρακτηριστική παρατήρηση είναι ότι η επικρατούσα τιμή του αναστήματος είναι πολύ υψηλότερη από εκείνη του προηγούμενου διαστήματος (182.00 -172.00). Γενικά, παρατηρήσαμε μια αύξηση του μέσου αναστήματος, το οποίο οφείλεται κυρίως στην αύξηση του ύψους καθημένου αλλά και του μήκους κάτω άκρου. Μια άλλη σημαντική παρατήρηση είναι η σημαντική μείωση της εγκάρσιας πυελικής διαμέτρου, ενώ η διακρωμική διάμετρος παρουσιάζει μικρή, ασήμαντη αύξηση. Αυτό το πρότυπο των αλλαγών παρατηρείται επίσης στα θήλεα. Σαφώς, υπάρχει μια σημαντική αύξηση στο ανάστημα και στο ύψος καθημένου ενώ το μήκος κάτω άκρου παρουσιάζει μικρή ασήμαντη αύξηση. Ομοίως η εγκάρσια πυελική διάμετρος παρουσιάζει σημαντική μείωση, ενώ η διακρωμική διάμετρος παρουσιάζει ασήμαντη αύξηση. Η αναλογία SHSR δεν παρουσιάζει αλλαγές και στα δύο φύλα. Υπάρχουν δευτερογενείς αυξήσεις στο ανάστημα, στο ύψος καθημένου και στο μήκος κάτω άκρου στους φοιτητές και των δύο φύλων από τη δεκαετία του '80, και η σημαντική μείωση στην εγκάρσια πυελική διάμετρο. Το ύψος καθημένου και το μήκος κάτω άκρου συμβάλλουν σχεδόν εξίσου (52%, 48% αντίστοιχα) στην δευτερογενή αύξηση του αναστήματος των φοιτητών. Αντίστοιχα, το ύψος καθημένου συμβάλλει περίπου κατά 84% στην δευτερογενή αύξηση του αναστήματος των φοιτητριών.

SECULAR TRENDS IN STATURE AND BODY PROPORTIONS IN A SAMPLE OF MODERN STUDENT GREEK POPULATION

Nikiforou M., Papachristoforou Chr., Dretaki O. & S.K. Manolis

*Dept of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of
Athens, Panepistimiopolis 15784 Athens, Greece, Email: smanol@biol.uoa.gr*

A secular trend is a progressive change over time. Secular trends in human morphological traits spanning the last 200 years are well documented. Generally, the trends are descriptions of changes in stature, weight, or indicators of maturity. Many factors contribute to secular trends in anthropometric diameters. Although the root cause of secular trends remains unknown, some of the more commonly cited possibilities are improved health and nutrition, changing rates of growth and maturation, and changes in socioeconomic status.

The objective is to evaluate secular changes in height, and several other diameters and indices between two time periods, 1980-1990 and 2001-2007 in Biology students of both sexes at the University of Athens. Height, sitting height, biacromial breadth, and biiliac breadth were measured. Leg length was estimated as height minus sitting height. Sitting height/height ratio (SHSR) was also calculated.

There were observed differences between males of the two time-intervals, especially in mean height, mean sitting height, biiliac breadth and leg length. Another characteristic observation is that the predominant value of height is much higher than this of the previous decade (182.00 -172.00). Generally, we observed an increase of the mean height, which mainly is due to the increase of sitting height and leg length. Another important observation is the significant decrease of biiliac breadth, while the biacromial breadth shows a small, non-significant increase. This pattern of changes is observed also in females. Clearly, there is a significant increase in height, and in sitting height, whilst the leg length shows a small non-significant increase. Similarly bi-iliac diameter shows a significant decrease, whilst biacromial breadth shows a non-significant increase. In both sexes SHSR does not show changes.

There are secular increases in height, sitting height and estimated leg length in students of both sexes since 80's, and significant decrease in biiliac breadth. Sitting height and estimated leg length contribute almost equally (52%, 48% respectively) to the secular increase in height of the male students. Respectively, sitting height contributes about 84% of the secular increase in height in female students.

**ΕΠΙΔΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΕ ΜΟΛΥΝΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΑΙΓΑΙΟΣΑΥΡΑ (*PODARCIS
ERHARDII*) ΑΝΑΛΟΓΑ ΜΕ ΤΗΝ ΗΛΙΚΙΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΚΤΑΣΗ ΝΗΣΙΩΝ ΤΟΥ
ΚΕΝΤΡΙΚΟΥ ΑΙΓΑΙΟΥ**

**Νικολούζου Ε.¹, Παφίλης Π.^{2,3}, Φουφόπουλος J.², Τσιτσιλώνη Ρ.¹ και
Ε.Δ. Βαλάκος¹**

¹Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθήνας, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσσια, 157-84, Αθήνα

²School of Natural Resources and Environment, Dana Building, 430 East University, University of
Michigan, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA

³Modern Greek Program, Department of Classical Studies, 2160 Angell Hall, 435 S. State University
of Michigan, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA

Το Αιγαίο Πέλαγος αποτελεί ένα εξαιρετο σύστημα μελέτης της επίδρασης του κατακερματισμού στη γενική βιολογία ζωικών οργανισμών καθώς περιλαμβάνει πάνω από 3.000 νησιά διαφορετικής ηλικίας και μεγέθους. Έχει αποδειχτεί ότι η γενετική ποικιλότητα των πληθυσμών ελαττώνεται αντιστρόφως ανάλογα με το μέγεθος και ανάλογα με την ηλικία των νησιών. Επίσης είναι καλά τεκμηριωμένο ότι η αποδοτικότητα του ανοσολογικού συστήματος (ΑΝΣ) εξαρτάται άμεσα από την γενετική ποικιλότητα. Στην παρούσα εργασία, χρησιμοποιώντας ως μοντέλο την αιγαιοσαύρα (*Podarcis erhardii*), προσπαθήσαμε να διαλευκάνουμε την επίδραση του φυσικού κατακερματισμού, όπως προκύπτει από το νησιωτισμό, στην επιδεκτικότητα των ζώων σε πιθανές μολύνσεις. Η αιγαιοσαύρα αποτελεί φυσικό ξενιστή για το αιμοπαράσιτο *Hepatozoon* sp. Πραγματοποιήσαμε τεχνητή μόλυνση κάτω από εργαστηριακές συνθήκες σε τρεις πληθυσμούς σαυρών που προέρχονται από ένα μεγάλο και νέο νησί (Νάξος), από ένα μικρότερο σε μέγεθος αλλά αρχαιότερο σε ηλικία (νησίδα Κοπριές, 11.500 χρόνια) και από ένα πολύ μικρό νησί που έχει διαχωριστεί πολύ πρόσφατα (νησίδα Δασκαλιό, 1.500 χρόνια). Τα ζώα από τη Νάξο παρουσίασαν μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στη μόλυνση και περιορισμένο παρασιτικό φορτίο ενώ συναφής εικόνα προκύπτει για τα ζώα από το Δασκαλιό. Αντίθετα η μόλυνση στα ζώα από τις Κοπριές επιτεύχθηκε ταχύτατα και σε μεγαλύτερους αριθμούς, υποδηλώνοντας τη ελλειψη ισχυρης ανοσολογικής απόκρισης. Πιστεύουμε ότι τα συγκεκριμένα ευρήματα μπορούν να δικαιολογηθούν από την περιορισμένη γενετική ποικιλότητα των Κοπριών, λόγω μικρού μεγέθους και μεγάλης ηλικίας. Σύμφωνα με τα πρώτα αυτά αποτελέσματα φαίνεται ότι η ανθεκτικότητα στην μόλυνση σχετίζεται άμεσα με τα χαρακτηριστικά του κάθε νησιού (έκταση και ηλικία) που επιδρούν στη γενετική ποικιλότητα του πληθυσμού.

PRONENESS TO INFECTION IN AEGEAN WALL LIZARD (*PODARCIS ERHARDII*) DEPENDING THE AREA AND THE AGE OF CENTRAL AEGEAN ISLANDS

Nikoulouzou E.¹, Pafilis, P.^{2,3}, Foufopoulos J.², Tsitsiloni R.¹, and E.D. Valakos¹

¹*Section of Human and Animal Physiology, Department of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, 157-84 Athens, Greece*

²*School of Natural Resources and Environment, Dana Building, 430 East University, University of Michigan, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA*

³*Modern Greek Program, Department of Classical Studies, 2160 Angell Hall, 435 S. State, University of Michigan, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA*

Encompassing over 3.000 islands of an astonishing variety of sizes and geographic isolation from the mainland, the Aegean Sea area provides an excellent system for assessing the effects of fragmentation on the general biology of organisms. It is generally acknowledged that genetic diversity is positively correlated with island area and negatively correlated with island age. Furthermore it is well established that the efficiency of immune system (IS) is depended directly on genetic variation. In this paper we try to clarify the impact of natural fragmentation, as it is defined by isularity, on the prones of individuals in possible infections, using as model the Aegean wall lizard (*Podarcis erhardii*). We expect that reduced genetic variation in small and old islands, would impair immune response increasing thus the susceptibility to infections by parasites. The evaluation of tolerance against parasites in a population is a pivotal aim of the new discipline of Immunoecology and is related strongly to the ability for survivor, especially in remote and isolates biotopes as islands. Aegean wall lizard is the natural host for the hemoparasite *Hepatozoon* sp. We examined individuals coming from three different populations: a large and young island (Naxos, 7,000 ya), a smaller but older islet (Kopries, 11,500 ya) and a tiny and very young islet (Daskalio, 1,500 ya). Animals from Naxos, exhibited a better ability to resist parasite infection than animals from Kopries while animals from Daskalio had a middle average. Resistance to parasitism implicates a stronger immune response. We believe that the underlying reason is the limited genetic variation of Kopries, due to the small size and the age of the island. According to our results, it seems that resistance to infection is related to the features of an island (area and age) that resulted in the decreased genetic variation of a population.

*The project is co-funded by the European Social Fund and National Resources – (EPEAEK II)
PYTHAGORAS*

**ΔΙΑΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗ ΜΙΚΡΩΝ ΠΟΤΑΜΩΝ ΜΕΣΑΙΟΥ ΥΨΟΜΕΤΡΟΥ
(τύπου RM-1)**

Ντισλίδου Χ.^{1*}, Αρτεμιάδου Β^{2}. και Λαζαρίδου Μ.^{1***}**

¹Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, ΤΘ. 134, ΤΤ54124,
Θεσσαλονίκη, E-mail: chntisli@bio.auth.gr*, mlazarid@bio.auth.gr***

²Τμήμα Αγροτικής Ανάπτυξης, Περιφέρεια Θεσσαλίας, Φαρσάλων 148, ΤΚ 41335, Λάρισα,
E-mail: luteus07@gmail.com**

Στην Ευρωπαϊκή Ένωση υπάρχουν πολλές μέθοδοι για την εκτίμηση της ποιότητας των ρεόντων υδάτων. Για να είναι τα αποτελέσματα συγκρίσιμα πρέπει αυτές να διαβαθμονιμηθούν μεταξύ τους σύμφωνα με το στόχο της Κοινής Στρατηγικής Υλοποίησης (Common Implementation Strategy). Σκοπός της Ευρωπαϊκής Άσκησης Διαβαθμονόμησης (Intercalibration Exercise) είναι να διασφαλισθεί η συμβατότητα με τους κανονιστικούς ορισμούς της Οδηγίας και η συγκρισιμότητα των αποτελεσμάτων που προκύπτουν από τις μεθόδους εκτίμησης των διαφόρων Κρατών Μελών, οι οποίες οφείλουν να χρησιμοποιούν ποιοτικά βιολογικά στοιχεία (Working Group 2.5 INTERCALIBRATION 2003). Στην παρούσα εργασία έγινε διαβαθμονόμηση για μικρούς ποταμούς μεσαίου υψομέτρου (τύπου RM-1) από μία βάση αναφοράς που περιείχε 175 δείγματα. Ο πολυμετρικός δείκτης που χρησιμοποιείται στην Ευρωπαϊκή άσκηση διαβαθμονόμησης για το Μεσογειακό ποταμό τύπου RM-1 συσχετίστηκε ικανοποιητικά με το Ελληνικό Σύστημα Αξιολόγησης όπως και οι υπόλοιποι βιολογικοί δείκτες που τον αποτελούν. Επίσης, υπολογίστηκαν τα όρια κατηγοριών ποιότητας και εναρμονίστηκαν με τη βάση αναφοράς.

INTER-CALIBRATION OF SMALL RIVERS OF MID ALTITUDE (TYPE RM-1)

Ntislidou, C.^{1*}, Artemiadou, V.^{2} and Lazaridou M.^{1***}**

*¹Dept of Zoology, Faculty of Biology, Aristotle University, GR- 54124, Thessaloniki,
E-mail: chntisli@bio.auth.gr, mlazarid@bio.auth.gr*

*² Department of Agricultural Development, Region of Thessalia, Farsalon 148, 41335 Larissa
E-mail: luteus07@gmail.com***

In the European Union there are a variety of methods for the assessment of the ecological quality of rivers. The evaluation results to be comparable, they have to be calibrated according to the Common Implementation Strategy (CIS). The inter-calibration process aims at consistency and comparability in the classification results of the monitoring systems operated by each Member State for the biological quality elements (Working Group 2.5 INTERCALIBRATION 2003). The present paper deals with the intercalibration of small, mid altitude (type RM-1) rivers that their database comprises of 175 samples. The Inter-calibration Common multimetric index, which is using for the Mediterranean river type R-M1, was well related to the Hellenic Evaluation System (HES), as well as the other biological metrics that constitute the multimetric index. In addition, the anchor of the quality boundaries was calculated and a harmonization with the benchmark database took place.

ΔΥΝΑΜΙΚΗ ΚΑΙ ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΤΟΥ ΕΥΡΩΠΑΪΚΟΥ ΟΡΝΙΟΥ *Gyps fulvus* ΣΤΗΝ ΚΡΗΤΗ

Ξηρουχάκης Σ.

Μουσείο Φυσικής Ιστορίας Κρήτης, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τ.Θ. 2208, Ηράκλειο 71409.
E-mail: sxirouch@nhmc.uoc.gr

Με βάση το μέγεθος και την παραγωγικότητα του πληθυσμού των Όρνιων στην Κρήτη την περίοδο 1996-2002 (δηλ. 379 άτομα/ 142 αναπαραγωγικά ζευγάρια και 0.53 νεαρά/ ζευγάρι/ έτος αντίστοιχα) επιχειρήσαμε την κατασκευή ενός πληθυσμιακού προτύπου για την επόμενη δεκαετία. Ο πεπερασμένος ρυθμός βιωσιμότητας ανά ηλικία εκτιμήθηκε από τις καταγεγραμμένες περιπτώσεις θανάτου την περίοδο 1992-2002 και ένα στατικό πίνακα ζωής. Η βιωσιμότητα μέχρι την ενηλικίωση και η μέση διάρκεια ζωής υπολογίστηκαν από απλούς μαθηματικούς τύπους ενώ ο πληθυσμός θεωρήθηκε σταθερός και απομονωμένος. Η εξέλιξη του πληθυσμού προσομοιώθηκε με τη χρήση αλγεβρικών πινάκων Leslie (λογισμικό RAMAS age) λαμβάνοντας υπόψη την πυκνοεξάρτηση και την επίδραση του περιβάλλοντος. Η ετήσια θνησιμότητα των ενηλίκων ατόμων εκτιμήθηκε σε 4-5% ενώ η μέση διάρκεια ζωής ενός όρνιου ως ενήλικο σε 19.5 χρόνια. Η θνησιμότητα των νεαρών ατόμων το πρώτο χρόνο της ζωής τους υπολογίστηκε σε 50.6% ενώ η συνολική θνησιμότητα μέχρι την ενηλικίωση σε 81.13%. Κύρια αιτία θανάτου των ενηλίκων όρνιων ήταν η δηλητηρίαση (71.9%) ενώ των νεαρών η λιμοκτονία (91.3%). Οι τιμές βιωσιμότητας που εκτιμήσαμε και η παραγωγικότητα που καταγράψαμε για το είδος στην διάρκεια της μελέτης: α) εξηγούν την μείωση του πληθυσμού σε σχέση με την δεκαετία του 1980 (πιθανόν λόγω υψηλότερης θνησιμότητας μεταξύ των ενηλίκων ατόμων, απόρροια ορισμένων μαζικών δηλητηριάσεων) και β) προβλέπουν την οριακή διατήρηση του με ελαφρά πτωτική τάση για την τρέχουσα δεκαετία. Η αναμενόμενη πληθυσμιακή μεταβολή κυμαίνεται από -9% έως +2%. Συνολικά η στρατηγική του είδους δείχνει να βασίζεται στον ρυθμό επιβίωσης ατόμων υψηλής παραγωγικότητας με σημαντικότερη δημογραφική παράμετρο την βιωσιμότητα των ενηλίκων.

POPULATION DYNAMICS AND TRENDS OF THE EUROPEAN GRIFFON VULTURE *Gyps fulvus* IN CRETE

Xirouchakis S.

*Natural History Museum of Crete, University of Crete, P.O. Box. 2208, Heraklion 71409.
E-mail: sxirouch@nhmc.uoc.gr*

In the present study we developed a demographic model for the Griffon Vulture in Crete based on its population size and productivity during 1996-2002 (i.e. 379 individuals/ 142 breeding pairs and 0.53 chicks/ pair/ year). Age-specific mortality was estimated by the death records of different age-groups between the years 1992-2002 and by constructing a static life-table. Survivorship to adulthood and the average adult longevity were calculated by simple mathematical formulas while the population was considered to be stable and isolated (i.e. null emigration and immigration rates). The evolution of the population was simulated by using Leslie matrices (*RAMAS age software*) incorporating environmental stochasticity and density-dependence. The adult death rate was calculated at 4-5% per year and the mean lifetime of an adult griffon at 19.5 years. Mortality of first-year birds was found to be 50.6% whereas pre-adult mortality was estimated at 81.13%. The main mortality cause was poisoning for the adult birds (71.9%) and starvation for the juvenile (91.3%). According to the survival rates calculated and the productivity observed during the study period the model: a) explained the decline of the population compared to late 1980s (most probably due to an increased adult mortality caused by certain mass poisoning incidences), and b) predicted a marginally stable population with slightly negative trends for the current decade. The anticipated population fluctuation will range between -9% to +2%. Overall the species strategy seems to be based on a high survival rate between individuals of high-reproductive value with adult survival being the most influential demographic parameter.

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΜΕ ΤΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΠΟΛΥΚΥΣΤΙΚΩΝ ΩΟΘΗΚΩΝ

Οικονόμη Ε., Ιωαννίδης Α. και Μπάγκος Π.Γ.

*Τμήμα Πληροφορικής με Εφαρμογές στην Βιοιατρική, Πανεπιστήμιο Στερεάς Ελλάδας,
Παπασιοπούλου 2-4, Λαμία 35100. E-mail: pbagos@ucg.gr*

Ο υποδοχέας της ινσουλίνης (insulin receptor, INSR) είναι μια μεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη αποτελούμενη από 2 α αλυσίδες και 2 β αλυσίδες που συνδέονται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς. Τα υποστρώματα του υποδοχέα ινσουλίνης (insulin receptor substrate, IRS) είναι οι βασικοί μεσολαβητές για την μετάδοση του σήματος της ινσουλίνης. Πολλοί πολυμορφισμοί ενός νουκλεοτιδίου του υποδοχέα της ινσουλίνης και των υποστρωμάτων του έχουν κατά καιρούς συσχετιστεί με το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών το οποίο είναι η πιο συχνή δυσλειτουργία των ωοθηκών και η πιο συχνή ενδοκρινολογική παθολογία στις γυναίκες. Σε μια προσπάθεια συνεκτίμησης όλων των δεδομένων που έχουν παρουσιαστεί από τις επιμέρους μελέτες που συσχετίζουν τον υποδοχέα ινσουλίνης και τα υποστρώματά του με την εμφάνιση του συνδρόμου πολυκυστικών ωοθηκών, προχωρήσαμε σε μια μετα-ανάλυση των επιδημιολογικών μελετών. Στη μελέτη μας συμπεριλήφθηκαν 22 έρευνες οι οποίες συγκέντρωναν πληροφορίες για συνολικά 1374 ασθενείς και 1439 υγιή άτομα (μάρτυρες). Οι πολυμορφισμοί που μας απασχόλησαν περισσότερο είναι: ο πολυμορφισμός Gly972Arg του IRS-1 (8 μελέτες), κατά τον οποίο η Γλυκίνη στη θέση 972 αντικαθιστάται από Αργινίνη και ο σιωπηλός γενετικός πολυμορφισμός His1058 C/T (4 μελέτες), ο οποίος βρίσκεται στη περιοχή της κινάσης της τυροσίνης του υποδοχέα. Επιπλέον βρήκαμε δύο άλλους πολυμορφισμούς του IRS-2, τον πολυμορφισμό Gly1057Asp (3 μελέτες) και τον Cys1008Arg (2 μελέτες). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο πολυμορφισμός Gly972Arg συσχετίζεται ισχυρά με το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, σε αντίθεση με τον σιωπηλό πολυμορφισμό His1058. Όσον αφορά τους πολυμορφισμούς Cys1008Arg και Gly1057Asp, παρατηρήθηκε μια στατιστικά σημαντική συσχέτιση, αλλά τα αποτελέσματα είναι επισφαλής λόγω του μικρού αριθμού έως σήμερα διαθέσιμων μελετών.

**CORRELATION BETWEEN POLYMORPHISMS OF INSULIN RECEPTOR
AND ITS SUBSTRATES WITH THE
RISK OF DEVELOPING POLYCYSTIC OVARY SYNDROME**

Ikonomi E., Ioannidis A. and Bagos P.G.

*Department of Informatics with Applications in Biomedicine, University of Central Greece,
Papasiopoulou 2-4, Lamia, 35100. E-mail: pbagos@ucg.gr*

The insulin receptor (INSR) is a tetrameric membrane glycoprotein composed of two α and two β subunits, linked together by disulfide bonds. Insulin receptor substrate (IRS) proteins are critical to signal transduction in insulin target tissues. IRS-1 is the major cytoplasmic substrate of the insulin receptor and is required for several effects of insulin such as glucose transport. When IRS-1 is dysfunctional, IRS-2 is the main docking protein for the intracellular propagation of the insulin signal. Various single nucleotide polymorphisms (SNPs) of INSR and IRSs have been implicated in susceptibility to Polycystic Ovary Syndrome (PCOS). PCOS is one of the most common endocrine disorders affecting women of reproductive age and is characterized by hyperandrogenism and insulin resistance in most patients. In order to quantify the results extracted from previous studies, we conducted a meta-analysis to evaluate the association of PCOS with the insulin receptor and its substrates. We identified 22 eligible studies, which included 1374 PCOS cases and 1439 healthy controls. Two polymorphisms were of major interest in our meta-analysis: the Gly972Arg polymorphism, a Gly to Arg substitution at codon 972 of IRS-1 (8 studies) and the C/T single nucleotide polymorphism at His1058 (4 studies), which is located in the tyrosine kinase domain of INSR. Moreover we found two other minor silent polymorphisms of INSR, the Gly1057Asp polymorphism (3 studies) and the Cys1008 (2 studies). The results of the meta-analysis suggest that Arginine at position 972 is strongly associated with genetic susceptibility to PCOS, whereas the T allele of the C/T single nucleotide polymorphism at His1058 is not. The results of the Cys1008 and Gly1057Asp polymorphisms also revealed statistical significant associations with PCOS. However, these last results should be evaluated carefully considering the small number of currently available studies.

**ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ ser326cys ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ OGG1
ΣΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ
ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗΣ ΕΝΩΣΗΣ ΔΟΞΟΡΟΥΒΙΚΙΝΗΣ ΣΕ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ
ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ *IN VITRO*.**

Παναγίδης Α., Ουρανού Δ., Στεφάνου Γ., Δημόπουλος Ν.Α.

*Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 265 00 Πάτρα
E-mail: ndemop@biology.upatras.gr*

Η 8-οξογουανίνη (8-οxoG) είναι ένα τροποποιημένο νουκλεοτίδιο, που σχηματίζεται στο DNA λόγω οξειδωτικής βλάβης. Προκαλεί μεταστροφές του τύπου G:C σε T:A. Απομακρύνεται από τη γλυκοζυλάση της 8-οxoG της οποίας το γονίδιο (hOGG1) χαρτογραφείται στη θέση 3p26.2 του ανθρώπινου γονιδιώματος. Ένας καλά μελετημένος πολυμορφισμός του hOGG1 είναι μια μετάλλαξη που έχει ως αποτέλεσμα την υποκατάσταση του αμινοξέος σερίνη από κυστεΐνη στο κωδικόνιο 326 (ser326cys). Η δοξορουβικίνη είναι μια αντικαρκινική ένωση που ανήκει στην κατηγορία των ανθρακυκλινών. Έχουν προταθεί διάφοροι μηχανισμοί για τη δράση της, μεταξύ των οποίων η δημιουργία ελευθέρων ριζών με αποτέλεσμα την πρόκληση γενετικών βλαβών. Μελετήθηκε η συμμετοχή του παραπάνω πολυμορφισμού στην εκδήλωση της κυτταροτοξικής και κυτταρογενετικής δράσης της δοξορουβικίνης, σε καλλιέργειες ανθρώπινων λεμφοκυττάρων *in vitro*. Προσδιορίστηκαν οι γενότυποι 9 εθελοντών ως προς τον πολυμορφισμό ser326cys. Επιλέχθηκαν 2 δότες, ένας ομοζυγώτης ως προς τον πολυμορφισμό και ένας ομοζυγώτης ως προς τον κανονικό τύπο, από τους οποίους πραγματοποιήθηκαν καλλιέργειες λεμφοκυττάρων περιφερικού αίματος με επίδραση δοξορουβικίνης. Η κυτταρογενετική της δράση μελετήθηκε με τη μέθοδο αναστολής της κυτταροκίνησης (CBMN) σε συνδυασμό με τη μέθοδο FISH. Παρατηρήθηκε αύξηση τόσο στην κυτταροτοξικότητα, όσο και στη συχνότητα των μικροπυρήνων (MN), οι οποίοι προέρχονται από χρωμοσωματική θραύση και σε μικρότερο βαθμό από χρωμοσωματική καθυστέρηση. Η δοξορουβικίνη προκαλεί υψηλότερη συχνότητα MN στον ομοζυγώτη cys/cys, υποδεικνύοντας συμμετοχή του πολυμορφισμού ser326cys στην εκδήλωση της γενετικής της δράσης. Μελετήθηκε επίσης ανοσοκυτταροχημικά ο σχηματισμός της 8-οxoG. Η δοξορουβικίνη επάγει το σχηματισμό της 8-οxoG υποδηλώνοντας την εμπλοκή της οξειδωτικής βλάβης στην επαγωγή των μικροπυρήνων.

**EVALUATION OF THE EFFECT OF POLYMORPHISM ser326cys OF THE
hOGG1 GENE ON THE CYTOGENETIC AND CYTOTOXIC ACTIVITY OF
THE ANTICANCER DRUG DOXORUBICIN IN HUMAN LYMPHOCYTES
CULTURED *IN VITRO***

Panayides A., Ouranou D., Stephanou G., Demopoulos N.A.

Department of Biology, University of Patras, 265 00 Patras, Greece

E-mail : ndemop@biology.upatras.gr

8-oxoG is one of the most common DNA lesions and can be generated by oxidative stress as well as by the effect of genotoxic compounds on cells. 8-oxoG is highly mutagenic, yielding GC to TA transversions upon its replication by DNA polymerases. The human oxoguanine DNA glycosylase (hOGG1) gene encodes a DNA glycosylase/apurinic lyase which catalyzes the excision and removal of 8-oxoG adducts from DNA. It is located on chromosome 3p26.2. A G > C sequence variant leading to an amino acid change from serine to cysteine at codon 326 (Ser326Cys) is a well studied hOGG1 polymorphism. Doxorubicin (DOX) is an anthracycline effective anticancer drug. It is cytotoxic to the cell through a plethora of mechanisms. Among them is ROS mediated DNA damage. The aim of this study is the evaluation of the involvement of Ser326Cys polymorphism to the DOX cytotoxic and cytogenetic activity in human lymphocytes, cultured *in vitro*. The hOGG1 Ser326Cys polymorphism was assessed in 9 healthy donors. Human lymphocyte cultures were established from peripheral blood of two selected donors, one ser/ser homozygote (wild type) and one cys/cys homozygote (variant type) and treated with various DOX concentrations. CBMN assay in combination with FISH was used to evaluate micronucleus (MN) frequency. Increased cytotoxicity and MN frequency were observed after DOX treatment. MNi were generated mainly due to chromosome breakage and in a lesser extent due to chromosome delay. Furthermore DOX showed a trend to be more cytotoxic as well as genotoxic in the cys/cys than ser/ser homozygote, assuming a possible involvement of the ser326cys polymorphism in the expression of the drug genetic activity. The ability of DOX to provoke 8-oxoG DNA adducts was also studied by immunocytochemistry. An enhancement of 8-oxoG formation in DOX treated cultures was shown, indicating the involvement of the oxidative stress on the generation of micronuclei after DOX treatment.

**ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ α -ΕΛΙΚΩΝ
ΔΙΑΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ****Πανούσης Ν.Ι. και Χαμόδρακας Σ.Ι.**

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρων και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Αθήνα 157 01, E-mail: shamodr@biol.uoa.gr*

Στις πρωτεΐνες, οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ α -ελίκων είναι σημαντικές για το πρωτεϊνικό δίπλωμα και για αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνικών δομικών αυτοτελών στοιχείων. Αυτές οι αλληλεπιδράσεις μεγάλης εμβέλειας έχουν ενδιαφέρον γιατί παρέχουν σταθερότητα σε πολλές πρωτεϊνικές δομές. Οι α -ελικοειδείς διαμεμβρανικές πρωτεΐνες αποτελούν ένα ιδιαίτερα χρήσιμο σύνολο για μελέτες που αφορούν το πακετάρισμα α -ελίκων, αφού είναι ιδιαίτερα πλούσιες σε τέτοιες αλληλεπιδράσεις. Αυτές, συχνά, καθοδηγούν και τον προσανατολισμό του πρωτεϊνικού μορίου σε σχέση με την λιπιδική διπλοστιβάδα. Αναπτύχθηκε μια υπολογιστική μέθοδος για την ανάλυση α -ελικοειδών αλληλεπιδράσεων σε διαμεμβρανικές πρωτεΐνες. Ανακτήθηκε ένα μη-ομόλογο σύνολο 20 πρωτεϊνών, με 4, 5 και 6 α -έλικες από την PDB-TM, και καθορίστηκαν τα κατάλοιπα των διαμεμβρανικών α -ελίκων τους, καθώς και τα άτομα τους. Θεωρήθηκε ότι, δύο κατάλοιπα μεταξύ δύο α -ελίκων αλληλεπιδρούν, αν η απόσταση δύο (οποιαδήποτε) μη-υδρογονικών ατόμων τους είναι μικρότερη από 4 Å. Υπολογίστηκαν αριθμοί αλληλεπιδρώντων ζευγαριών καταλοίπων και μετατράπηκαν σε συχνότητες για όλα τα δυνατά ζευγάρια καταλοίπων. Βρέθηκαν σημαντικές προτιμήσεις για συγκεκριμένες αλληλεπιδράσεις ζευγαριών καταλοίπων, που οδηγούν στο συμπέρασμα ότι το πακετάρισμα α -ελίκων, οδηγείται από συγκεκριμένες, ιδιαίτερα ευνοϊκές, αλληλεπιδράσεις ζευγαριών καταλοίπων. Μια ανάλυση σε αυτά τα πλαίσια θα μπορούσε να δημιουργήσει ένα σύνολο δεδομένων για την εκμάθηση ενός προγνωστικού αλγορίθμου που θα προβλέπει στο πρωτεϊνικό δίπλωμα αλληλεπιδράσεις μεγάλης εμβέλειας. Επιπλέον, λαμβάνοντας υπόψη ότι η επιτυχία των αλγορίθμων πρόγνωσης δευτεροταγούς δομής ανέρχεται σε 75-80%, αυτή η ανάλυση θα μπορούσε να ενσωματωθεί σε αλγορίθμους πρόγνωσης, στοχεύοντας στη βελτιστοποίηση της απόδοσής τους.

COMPUTATIONAL STUDIES OF INTERACTIONS BETWEEN α -HELICES IN TRANSMEMBRANE PROTEINS

Panousis N.J., and Hamodrakas S.J.

*Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 157 01,
E-mail: shamodr@biol.uoa.gr*

In proteins, α -helix- α -helix interactions are important for protein folding and for determining interactions between structural domains. These long-range interactions are of interest because they provide stabilization in several protein structures. Transmembrane α -helical proteins provide a useful set for studies of α -helical packing, because they are particularly rich in helix-helix interactions and their segments often direct protein orientation with respect to the lipid bilayer. To gain further information about residue contacts at the helical interface, a computational method has been developed for an analysis of α -helical- α -helical interactions in membrane proteins. A non-redundant set of 20 transmembrane proteins, with solved structures, was retrieved from PDB-TM, with 4, 5 and 6 transmembrane α -helical segments and the residues of the transmembrane α -helices were determined. A distance-based method was developed to calculate contacts between any two α -helices. In this method, residues from two α -helices were considered to interact if the distance between any two non-hydrogen atoms of the interacting residues is less than 4.0 Å. Utilizing this definition the number of interacting pairs of all types of residues were calculated and transformed into normalized frequencies. Certain, specific preferences for interacting residue-pairs were found, which indicate that α -helical packing is favoured through specific long-range interactions. An analysis along these lines may establish a training set for a prediction algorithm that might predict protein folding via long-range interactions. Also, bearing in mind that the performance of secondary structure prediction algorithms has an upper limit of 75-80%, such an analysis may be incorporated into secondary structure prediction algorithms aiming at an optimization of their performance.

**ΕΛΑΤΤΩΜΑΤΙΚΗ ΜΕΤΑΓΩΓΗ ΤΟΥ GH ΣΗΜΑΤΟΣ ΩΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ
ΜΕΤΑΛΛΑΞΗΣ ΤΟΥ GHR ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΣΕ ΑΣΘΕΝΗ ΜΕ GHTD****Παπαγεωργίου Π., Ρόχας Χιλ, Α.-Π., Καραγεώργου Μ., Σπηλιώτη Β.Ε.**

*Ερευνητικό Εργαστήριο Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας, Μονάδας Παιδιατρικής
Ενδοκρινολογίας και Διαβήτη, Παιδιατρικής Κλινικής, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου
Πατρών. E-mail: penny.papag@hotmail.com*

Εισαγωγή: Περιγράψαμε τη Διαταραχή Μεταγωγής Σήματος της GH (GHTD) σε 4 παιδιά, με καθυστέρηση της ανάπτυξης, χαμηλό IGF-1 αλλά φυσιολογικές δοκιμασίες παραγωγής GH και IGF-1, τα οποία παρουσιάζουν ελαττωματική φωσφορυλίωση του STAT3. Η GHTD θεραπεύεται με hGH. **Σκοπός:** Η μελέτη του μηχανισμού της διαταραχής της μετάδοσης σήματος του GH άξονα σε ένα GHTD ασθενή.

Μέθοδοι: Σε πρωτογενείς καλλιέργειες ινοβλαστών από βιοψίες ούλων 1 μάρτυρα (M) και 1 GHTD παιδί (A), μελετήθηκε η κινητική της ενεργοποίησης των πρωτεϊνών GHR, JAK2, JAK1, STAT3 και STAT5 μετά από επαγωγή με 200 ng/ml hGH με Western immunoblotting (WI). Μελετήθηκε, επίσης, η έκφραση του GHR και της ουβικουτίνης (Ub) σε βασικό επίπεδο και μετά από επαγωγή με 200 ng/ml hGH με κυτταρικό ανοσοφθορισμό (KA). Πραγματοποιήσαμε αλληλούχιση του γονιδίου του GHR.

Αποτελέσματα: Σε WI παρατηρήθηκε 1) μειωμένη κινητική της ενεργοποίησης της JAK1, JAK2 και STAT3 2) φυσιολογική ενεργοποίηση της STAT5 και 3) μειωμένη έκφραση του GHR στους ινοβλάστες του A σε σχέση με του M. Επίσης σε KA παρατηρήθηκε αυξημένη έκφραση: 1) της Ub 2) του GHR στο κυτταρόπλασμα, μετά από επαγωγή με 200ng/ml hGH, χωρίς να προσεγγίζει ποσοτικά τα φυσιολογικά επίπεδα του M. Η αλληλούχιση του GHR γονιδίου έδειξε μετάλλαξη στο εξόνιο 10 του γονιδίου του GHR στο σημείο 853 (M28466.1) το οποίο προκαλεί αλλαγή Pro→Thr.

Συμπεράσματα: Η καθυστέρηση στην ενεργοποίηση των πρωτεϊνών του GH άξονα, πιθανόν να οφείλεται στην μετάλλαξη του GHR γονιδίου, που μπορεί να επηρεάζει την τριτοταγή δομή της πρωτεΐνης και την λειτουργικότητα της, συνεπάγοντας μεγαλύτερη αποδόμηση της μεταλλαγμένης πρωτεΐνης γεγονός που εξηγεί και την αυξημένη έκφραση της Ub.

IMPAIRED ACTIVATION OF THE SIGNAL TRANSDUCTION PATHWAY AS A RESULT OF THE MUTATION IN THE GHR GENE IN A PATIENT WITH GHTD

Papageorgiou P., Rojas-Gil A.-P., Karageorgiou M., Spiliotis B.E.

*Pediatric Endocrine Research Laboratory, Division of Pediatric Endocrinology and Diabetes,
Pediatric Clinic, Medical School, University of Patras
E-mail: penny_papag@hotmail.com*

Introduction: We have previously described Growth Hormone Transduction Defect (GHTD) in 4 children with severe growth delay, normal secretion of GH, low levels of IGF-1 but normal response of IGF-1 after the administration of hGH. These children, who responded to hGH therapy, presented impaired phosphorylation of the transcription factor STAT3. **Objective:** To examine the mechanism of GH signaling transduction defect in a GHTD patient.

Methods: In primary cultures of fibroblasts from gingival biopsies of 1 control (C) and 1 GHTD patient (P) we studied the expression kinetics and the activation of GHR, JAK2, JAK1, STAT3 and STAT5 proteins after induction with 200ng/ml GH by Western-Immunoblotting (WI). We, also, studied by immunofluorescence microscopy (IF) the expression of GHR and ubiquitin (Ub) at the basal level and after induction with 200ng/ml GH. Sequencing of the GHR gene was also performed.

Results: We observed by WI: 1) reduced activation kinetics of JAK1, JAK2 and STAT3 2) normal activation of STAT5 and 3) reduced expression of GHR in the fibroblasts of P compared to C. Also, we observed by IF increased expression: 1) of Ub 2) of GHR after induction with 200ng/ml GH with cytoplasmic localization without reaching the normal quantitative levels of the M. The sequencing of GHR gene showed a mutation in exon 10 of the GHR gene at the point 853 (M28466.1), which causes an amino acid change Pro→ Thr.

Conclusions: The delay in the activation of the proteins in the GH axis may be due to the position of the GHR mutation, which may affect the tertiary structure of the protein and its function. The increased levels of degradation of the mutated GHR protein could be the result of this mutation which can also explain the increased expression levels of Ub.

**ΑΠΟΥΣΙΑ ΤΗΣ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΚΗΣ ΘΕΣΗΣ, SNP G197T, ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ
ΠΡΩΤΑΜΙΝΗΣ-1 ΣΕ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΥΣ ΑΝΔΡΕΣ ΤΗΣ ΔΥΤΙΚΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ**

Παπαδημητρίου Σ.¹, Δάβανος Ν.¹, Περιμένης Π.², Σπάθας Δ.Χ.¹

¹Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500, Πάτρα,
E-mail: spadimitr@med.upatas.gr

²Ουρολογική Κλινική, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500, Πάτρα,
E-mail: petperimenis@upatras.gr

Πρόσφατες μελέτες^{1,2} ανέδειξαν την παρουσία μιας πολυμορφικής θέσης (SNP **G197T**) στο τέλος του πρώτου εξονίου του γονιδίου της πρωταμίνης-1 (PRM1), σε ένα ποσοστό ανδρών με ιδιοπαθή υπογονιμότητα. Ο πολυμορφισμός αυτός οδηγεί σε αντικατάσταση μιας συντηρημένης αργινίνης από σερίνη στην αμινοξική αλληλουχία της πρωταμίνης-1 (**R34S**), με ενδεχόμενες συνέπειες στο πακετάρισμα και την ακεραιότητα του DNA στην κεφαλή του σπερματοζωαρίου, γεγονός, που μπορεί να οδηγήσουν σε ιδιοπαθή υπογονιμότητα. Στη παρούσα μελέτη διερευνήθη η ύπαρξη ή μη του παραπάνω πολυμορφισμού σε 100 άνδρες εντοπίας προέλευσης που παρακολουθούνται από την Ουρολογική Κλινική του Περιφερειακού Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Πατρών για προβλήματα υπογονιμότητας αγνώστου αιτιολογίας. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν απουσία της ως άνω πολυμορφικής θέσης στους ασθενείς αυτούς και επομένως η ιδιοπαθής υπογονιμότητα που παρουσιάζουν, δεν μπορεί να αποδοθεί στον συγκεκριμένο πολυμορφισμό του γονιδίου της πρωταμίνης-1. Ωστόσο, τρεις από τους παραπάνω ασθενείς, βρέθηκε να παρουσιάζουν ελλείψεις στις περιοχές AZF του Υ χρωμοσώματος, ενώ η αιτία της υπογονιμότητας των υπολοίπων χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

Αναφορές

1. Iguchi et al.,(2006),An SNP in protamine-1:a possible genetic cause of male infertility?. *J. Med. Genet.*,**43**:382-384
2. Ravel et al.,(2007), Mutations in the protamine 1 gene associated with male infertility, *Mol.Hum.Reprod.*,**13**(7):461-464

**ABSENCE OF POLYMORPHIC SITE, SNP G197T, OF PROTAMINE -1 GENE
IN MEN WITH IDIOPATHIC INFERTILITY, IN WESTERN GREECE**

Papadimitriou S.¹, Davanos N.¹, Perimenis P.², Spathas D.H.¹

¹Laboratory of General Biology, Medical School, University of Patras, 26500, Patra,
E-mail: spapadimitr@med.upatas.gr

²Clinic of Urology, Medical School, University of Patras, 26500, Patra,
E-mail: petperimenis@upatras.gr

Recent studies^[1,2] revealed the presence of a polymorphic site (SNP **G197T**), at the end of the first exon of the protamine-1 (PRM1) gene in certain males with idiopathic infertility. This polymorphism leads to the substitution of one conserved arginine residue by serine in the amino acid sequence of the protamine-1 protein (**R34S**), with putative consequences to the packaging and the integrity of DNA in the spermatozoan head, factors that can cause idiopathic infertility. In this study, the presence or absence of this polymorphism has been investigated, in a group of 100 patients, of local origin, attending the Urology Clinic of the Patras University Hospital for infertility problems of unknown aetiology. Our results showed, absence of this SNP in the group studied and therefore, their idiopathic infertility cannot be attributed to polymorphism of the protamine-1 gene at this site. However, three of these patients were found to bear deletions in the AZF regions of the Y chromosome, while the cause of infertility in the rest, remains unknown and requires further investigation.

References

1. Iguchi et al.,(2006),An SNP in protamine-1:a possible genetic cause of male infertility?, *J. Med. Genet.*,**43**:382-384
2. Ravel et al.,(2007), Mutations in the protamine 1 gene associated with male infertility, *Mol.Hum.Reprod.*,**13**(7):461-464

**ΤΟ ΣΗΣΑΜΙ ΩΣ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΟ ΤΡΟΦΙΜΟ – ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΙ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΟΙ
ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ****Παπαδόπουλος Α.Ι. ****Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών
Επιστημών, Αριστοτέλειο Παν/μιο Θεσ/νίκης*

Το σησάμι και το περικάρπιό του αποτελούν πηγή ενώσεων με ευεργετική επίδραση στην υγεία. Μελετήθηκαν ιδιότητες συστατικών όπως λιγνάνια και πολυφαινολικό εκχύλισμα που απομονώθηκαν από το σησάμι και το περισπέρμιό του σε συνθήκες *in vitro*. Ελέγχθηκαν για την επίδρασή τους στη λιπιδική υπεροξειδωση, τη δράση της 15-λιποξυγενάσης που σχετίζεται με αντιφλεγμονώδη δράση και ενίσχυση της απόπτωσης στα καρκινικά κύτταρα, για μεταλλαξιγόνο και αντιμεταλλαξιγόνο δράση έναντι του βιοενεργοποιημένου βένζο-α-πυρένιου (BaP) σύμφωνα με τη μέθοδο Ames, καθώς και την επίδραση στη δραστηριότητα ισομορφών της τρανσφεράσης της γλουταθειόνης όπως της ηπατικής ισομορφής 1-1 που συνδέεται άμεσα με μεταβολισμό φαρμακευτικών ενώσεων. Έντονη και ποικίλη δραστηριότητα εντοπίστηκε σε μεγάλο αριθμό λιγνάνων που για πρώτη φορά απομονώθηκαν από τον καρπό και το περικάρπιο του σησαμιού. Σε ορισμένα εντοπίστηκε και αντιοξειδωτική και αντιμεταλλαξιγόνο δράση, σε ορισμένα μόνο η μία ή η άλλη ενώ δύο φάνηκε να ενισχύουν τη μεταλλαξιγόνο δράση του BaP. Εκχύλισμα πολυφαινολών από το περικάρπιο, προκάλεσε αναστολή της μεταλλαξι-γόνου δράσης του BaP, παρέχοντας πιθανότατα προστασία στο γενετικό υλικό των βακτηρίων μέσω παρεμπόδισης της βιοενεργοποίησης της ένωσης BaP. Μελετήθηκαν επίσης σε συνθήκες *in vitro*, επιπτώσεις στη φυσιολογία του οργανισμού όπως μεταβολές σε βιοχημικά χαρακτηριστικά από ηπατικά ένζυμα αποτοξίνωσης, (κυτόχρωμα P450 και τρανσφεράση της γλουταθειόνης GST). Για την ομάδα των GSTs, προσδιορίστηκαν τα επίπεδα του mRNA συγκεκριμένων ισοενζυμικών μορφών με αποτύπωση κατά Northern όπως και της πρωτεΐνης τους με ανοσοανίχνευση μέσω αποτύπωσης κατά Western. Η χορήγηση αποφλοιωμένου και μη καρπού για χρονική περίοδο οκτώ εβδομάδων, ενίσχυσε την έκφραση των περισσότερων ισομορφών της GST πλην της ισομορφής της GST 1-1 η οποία μειώθηκε. Οι μεταβολές αυτές συνδυάστηκαν με αύξηση της δραστηριότητας της ισομορφής EROD του κυτοχρώματος P450 και της συγκέντρωσης της γλουταθειόνης στο ήπαρ. Με χρήση υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης και ανιχνευτή παράταξης δόδων UV6000LP, προσδιορίστηκαν τα επίπεδα στο πλάσμα του αίματος συγκεκριμένων λιγνάνων, μετά από χορήγηση προϊόντων σησαμιού σε πειραματόζωα για σύντομη ή μεγαλύτερη χρονική περίοδο. Ένα από τα σημαντικότερα ευρήματα είναι ότι η μορφή ή το προϊόν που καταναλώνεται παίζει σημαντικό ρόλο στην ποσοτική και ποιοτική απορρόφηση των λιγνάνων. Μελετήθηκε και μελετάται η επίδραση της διατροφής με σησάμι, (καρπός και περικάρπιο) στα επίπεδα των οιστρογονικών υποδοχέων ERα και ERβ σε ιστούς των πειραματόζωων όπως η μήτρα, το παχύ έντερο, ο προστάτης. Με χρήση μεθοδολογίας ανοσοανίχνευσης και ποσοτικής (Q) RT-PCR, επιβεβαιώθηκε η ευεργετική επίδραση του σησαμιού μέσω μεταβολής της αναλογίας των συγκεντρώσεων ERα/ERβ αυξάνοντας τα επίπεδα του ERβ.

* Προσκεκλημένος ομιλητής

SESAME AS BIOACTIVE FOOD-CELLULAR AND MOLECULAR MECHANISMS

Papadopoulos A.I. *

*Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Faculty of Sciences,
Aristotle University of Thessaloniki*

Sesame and its pericarp contain bioactive substances beneficial to health status of the organism. Properties of compounds isolated from the sesame and its pericarp, i.e. lignans and a rich in polyphenols extract, were studied under *in vitro* conditions. They were studied for their effect towards lipid peroxidation, activity of 15-lipoxygenase that is claimed to act as anti-inflammatory and increases apoptosis in cancer cells, for mutational and antimutational activity towards bioactivated benzo-a-pyrene (BaP) by means of Ames' test, as well as the effect upon the activity of isoenzymes of glutathione S transferase such as hepatic isoenzyme 1-1 that is directly connected to drug metabolism. Significant but varying activity was detected in a large number of novel lignans isolated from sesame and its pericarp. In certain lignans, both, antimutational and antioxidative activity could be detected, in certain either of the two while for two lignans their presence in the assay resulted to augmentation of the mutational activity of BaP. Extract rich in polyphenols inhibited the mutational activity of BaP by preventing its bioactivation. Physiological parameters after treating experimental animals with sesame or its products were estimated by *in vivo* experiments. It was studied the effect upon the activity of detoxification hepatic enzymes such as P450 and glutathione S transferases (GSTs). For the family of GSTs, there were investigated the levels of mRNA for certain categories of the enzyme family, by means of Northern blotting as well as the levels of the expressed protein by means of Western blotting. It was revealed that consumption of sesame for eight weeks led to increase of the levels of the most of GST isoenzymes except of GST1-1. These alterations were in parallel with increase in the activity of EROD of cytochrome P450 and levels of hepatic intracellular glutathione. By means of HPLC combined with Diode Array UV6000LP, were monitored the levels of the certain significant lignans in the blood after consumption of sesame products such as sesame, pericarp, tahena, sesame oil and polyphenol rich extract. The results of this series of experiments revealed that the quantity and quality of the lignans absorbed by the organisms depends upon the nature of the product consumed. Under investigation is the effect of sesame consumption upon the expression of estrogen receptors ERa and ERb in certain tissues such as prostate, uterus and colon. The methodology used is Western blotting and Quantitative RT-PCR and the results support the concept that sesame is a bioactive food beneficial for the health since its consumption lowers the ratio of ERa/ERb by increasing the levels of ERb.

* *Invited speaker*

**ΟΙ ΠΟΛΛΑΠΛΕΣ ΕΓΧΥΣΕΙΣ ΣΥΤΤΕΝΕΪΚΩΝ Η ΑΛΛΟΓΕΝΩΝ ΜΕΣΕΓΧΥΜΑ-
ΤΙΚΩΝ ΣΤΕΛΕΧΙΑΙΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΒΕΛΤΙΩΝΟΥΝ ΤΗΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ
ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ ΜΕ ΔΟΣΟ- ΚΑΙ ΧΡΟΝΟ- ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΟ ΤΡΟΠΟ**

**Παπαδοπούλου Α.^{1,2}, Γιαννάκη Ε.¹, Αθανασίου Ε.¹, Ξαγοράρη Α.¹,
Αναγνωστόπουλος Α.¹, Φάσσας Α.¹, Γιάγκου Μ.²**

¹Μονάδα Γονιδιακής & Κυτταρικής Θεραπείας, Αιματολογική Κλινική & Μονάδα Μεταμό-
σχευσης Μυελού των Οστών, Γ.Π.Ν. «Γ. Παπανικολάου»

²Τομέας Γενετικής Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ

Τα μεσεγχυματικά κύτταρα (MSCs) μπορούν να διαφοροποιηθούν σε ένα ευρύ φάσμα κυττάρων και να δράσουν ανοσορρυθμιστικά. Εξετάστηκε η επίδραση των MSCs μυελού των οστών (MO) σε τύπου Β συνοβιοκύτταρα (FLS) αρθρικού υμένα και Τ-λεμφοκύτταρα σπλήνα, αρθρικών (AA) επίμυων καθώς και η *in vivo* πιθανή ανοσορρυθμιστική τους δράση στην Πειραματική Αρθρίτιδα (ΠΑ) που επάγεται με FCA. Το υπερκείμενο (sup) καλλιιεργειών συγγενεικών (syng) ή αλλογενών (allo) MSCs, ανέστειλε με δοσοεξαρτώμενο τρόπο τον πολλαπλασιασμό AA FLS. Η προσθήκη syng ή allo sup μείωσε δοσοεξαρτώμενα και τον πολλαπλασιασμό των διεγερμένων με ConA AA Τ-κυττάρων. Η κυτταρική επαφή των MSCs με τα ενεργοποιημένα Τ-κύτταρα (συγκαλλιέργεια) προκάλεσε ισχυρότερη αναστολή. Η εφάπαξ ενδοφλέβια, ενδοσπληνική ή ενδομυελική χορήγηση χαμηλών δόσεων MSCs ($0.5-5 \times 10^5$ κύτταρα/δέκτη) σε επίμυες με ΠΑ δεν απέδωσε κλινικό όφελος. Αντίθετα, οι επαναλαμβανόμενες χορηγήσεις υψηλών δόσεων (6×10^6 κύτταρα/ζώο), syng ή allo Y+MSCs σε θηλυκούς δέκτες, πριν την εμφάνιση της ΠΑ (ημ4 & ημ9 μετά το FCA), μείωσε σημαντικά την ανάπτυξη ΠΑ. Τα ζώα που έλαβαν MSCs, εμφάνιζαν ιστοπαθολογικά φυσιολογική αρχιτεκτονική της άρθρωσης. Αντίθετα, δεν παρατηρήθηκε κλινικό όφελος όταν οι χορηγήσεις έγιναν μετά την εμφάνιση της ΠΑ (ημ13 & ημ20 μετά το FCA). Δεν εντοπίστηκαν Y+ κύτταρα στο σπλήνα, στο MO ή σε καλλιιεργημένα FLS την ημ30 μετά τη χορήγηση FCA, υποδηλώνοντας ότι το κλινικό όφελος είναι κυρίως αποτέλεσμα ανοσορρύθμισης. Συμπερασματικά, τα MSCs θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στη θεραπεία της αρθρίτιδας, εφόσον η δόση και η χρονική στιγμή χορήγησης καθοριστούν.

**MULTIPLE INFUSIONS OF SYNGENEIC OR ALLOGENEIC MESENCHYMAL
STEM CELLS CAN AMELIORATE ADJUVANT ARTHRITIS IN A DOSE- AND
TIME-DEPENDENT MANNER**

**Papadopoulou A.^{1,2}, Yannaki E.¹, Athanasiou E.¹, Xagorari A.¹, Anagnostopoulos
A.¹, Fassas A.¹, Yiangou M.²**

*¹Gene and Cell Therapy Center, Hematology-BMT Unit, George Papanicolaou Hospital,
Thessaloniki, Greece, ²Department of Genetics, Development & Molecular Biology, School of Biology,
Aristotle University, Thessaloniki, Greece*

Mesenchymal stem cells (MSCs) obtain the potential to differentiate into a broad spectrum of tissues and they also exert immunoregulation. We aimed to explore the effect of MSCs from bone marrow (BM) on cultured fibroblast-like synoviocytes (FLS) from synovial membrane and spleen T-cells of rats with adjuvant arthritis (AA) (induced by FCA) as well as their potential *in vivo* immunomodulatory activity in AA. A dose-dependent inhibitory effect on AA-FLS proliferation, as well as on the proliferation of ConA stimulated AA T-lymphocytes was observed by the addition of syngeneic (syn) or allogeneic (allo) MSCs supernatant (sup). Cell to cell contact of syn or allo MSCs with activated AA T-cells (coculture) resulted in more profound inhibition. When low doses of MSCs ($0.5-5 \times 10^5$ cell/recipient) were administered iv, intrasplenic or intrabone marrow, either before or after the onset of AA, no clinical benefit was observed. In contrast, repeated, high dose (6×10^6 cell/rat) iv infusions of syn or allo Y+MSCs to female recipients, before the onset of AA (d4 and d9 post AA), significantly decreased the severity of AA. Histopathologically, MSCs-treated animals preserved a rather normal joint architecture. However, no clinical benefit was observed when the same cell dose was infused after the arthritis onset (d13 and d20 post AA). No Y+ cells could be detected in the spleen, BM or in cultured FLS by day 30 post FCA, suggesting that the observed benefit was probably due to the immunoregulatory activity of MSCs. Our data suggest that MSCs may serve as a new therapeutic approach for autoimmune arthritis however, dosing and timing need to be determined before these results could be clinically translated.

**ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΙ ΚΑΙ ΙΪΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΣΥΜΒΑΛΟΥΝ ΣΤΟ
ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ ΣΥΓΚΥΤΙΩΝ ΤΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ S ΤΟΥ ΑΠΛΟΥ ΕΡΠΗΤΑ
ΤΥΠΟΥ 1, HSV-1 (S)**

Παπαδοπούλου Μ., Σιβροπούλου Α.

*Εργαστήριο Γενικής Μικροβιολογίας, Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής
Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124
Θεσσαλονίκη, E-mail: asioropo@bio.auth.gr, michpapa@bio.auth.gr*

Το στέλεχος S του ιού έρπητα απλού τύπου 1, HSV-1 (S) είναι ένα αυτογενές συγκυτιακό μετάλλαγμα που προήλθε από το πρωτότυπο στέλεχος HSV-1 (F), μετά από διαδοχικές απομονώσεις του ιού από πλάκες. Ο συγκυτιακός φαινότυπος του στελέχους HSV-1 (S) οφείλεται σε μετάλλαξη (αντικατάσταση λευκίνης σε προλίνη στο κωδικόνιο 787) που βρίσκεται στην κυτοπλασματική περιοχή της γλυκοπρωτεΐνης B (gB). Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης έδειξαν τα ακόλουθα: (α) τόσο η ακτίνη του κυτοσκελετού όσο και οι Rho GTPάσες συνέβαλαν στο σχηματισμό των συγκυτίων, δεδομένου ότι αναστολείς του πολυμερισμού της ακτίνης ή της λειτουργίας των Rho GTPασών οδήγησαν σε δόσοεξαρτώμενη μείωση του σχηματισμού συγκυτίων και σε αξιοσημείωτη μείωση του πολλαπλασιασμού του ιού, (β) μελέτες ανοσοφθορισμού αποκάλυψαν ότι ο ιός εισέρχεται και μεταφέρεται στον πυρήνα των μολυσμένων κυττάρων μέσα σε κυστίδια ακτίνης (μεγέθους 0,5 - 2 μm). Επιπλέον, οι Rho GTPάσες (RhoA, Cdc42 και Rac) ήταν ενεργές κατά την διάρκεια των πρώτων σταδίων της μόλυνσης με τον HSV-1(S). Τα παραπάνω δεδομένα υποστηρίζουν την υπόθεση ότι η διείσδυση του HSV-1(S) σε κύτταρα Vero, γίνεται με μακροπινοκύτωση.

**CONTRIBUTION OF CELLULAR AND VIRAL FACTORS FOR THE
SYNCYTIUM FORMATION BY HSV-1(S)**

Papadopoulou M., Sivropoulou A.

*Laboratory of General Microbiology, Section of Genetics, Development and Molecular Biology,
School of Biology, Aristotele University of Thessaloniki, Thessaloniki 54124, Greece,
E-mail: asivropo@bio.auth.gr, michpapa@bio.auth.gr*

Herpes simplex virus 1 (HSV-1) (S) is a spontaneous syncytial mutant derived from the prototype HSV-1 (F) after extensive plaque purification and carries a mutation (Leu to Pro substitution at codon 787) in the cytoplasmic domain of glycoprotein B (gB), which is responsible for syncytial phenotype. The results of this study showed the following: (a) both actin and Rho GTPases contributed to the syncytial formation since inhibitors of actin polymerization or the function of Rho GTPases resulted to concentration-dependent reduction of syncytial phenotype and considerable reduction of viral propagation. (ii) immunofluorescence studies revealed that the virus was entered and transferred to the nucleus of infected cells inside actin vesicles (size 0.5-2 μ m). Additionally, the Rho GTPases (RhoA, Cdc42 and Rac) were active during early steps of HSV-1(S) infection. The above data support the hypothesis that HSV-1 (S) penetration in Vero cells is achieved through macropinocytosis.

**ΣΠΟΝΔΥΛΙΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΠΡΟΤΥΠΑ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ ΣΕ
ΜΥΚΗΝΑΪΚΟΥΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑ-ΜΥΚΗΝΑΪΚΟΥΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΤΗΣ
ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ****Παπαδοπούλου Μ.Π., Καράμπελα Α., Βάννα Β.¹, Μανώλης Σ.Κ.***Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπων, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 15781 Αθήνα. E-mail: smanol@biol.uoa.gr**¹Institute of Archaeology, UCL, 31-34 Gordon Square, WC1H 0PY, London, UK**E-mail: v.vanna@ucl.ac.uk*

Οι σπονδυλικές εκφυλιστικές παθήσεις είναι συχνές παθολογικές καταστάσεις που έχουν επιπτώσεις στους ανθρώπινους πληθυσμούς και συνδέονται με τη φυσική δραστηριότητα, το επάγγελμα, τους κοινωνικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες, τη διατροφή και τη διαίτα, το φύλο και την ηλικία, και τη γενετική προδιάθεση. Επομένως αποτελούν σημαντικούς δείκτες υγείας, παρέχοντας ανεκτίμητες πληροφορίες για τον τρόπο ζωής των αρχαίων πληθυσμών. Στόχος της παρούσας μελέτης ήταν να καταγραφεί η παρουσία οστεοαρθρίτιδας και ενδοσπονδυλικής δισκοπάθειας, να υπολογιστεί η επικράτησή τους και να παρατηρηθεί το πρότυπο τους στο σκελετό και η κατανομή στον πληθυσμό, σε οστεολογικά δείγματα από δύο αρχαιολογικές θέσεις της Πελοποννήσου, (Αρχαία Κόρινθο και Αγία Τριάδα Ηλείας). Το σκελετικό υλικό της Αρχαίας Κορίνθου προέρχεται από τέσσερις διαφορετικές θέσεις, μια εκ των οποίων χρονολογείται στην Υστεροελλαδική περίοδο III (1150-1060 π.Χ.) και οι υπόλοιπες σε επόμενες χρονικές περιόδους, [από την Γεωμετρική εποχή μέχρι τους Κλασικούς χρόνους (1060-330 π.Χ.)], ενώ το νεκροταφείο της Αγίας Τριάδας Ηλείας χρονολογείται στην Υστεροελλαδική περίοδο III (Μυκηναϊκή). Η ανάλυση των δεδομένων έδειξε ότι ο Μυκηναϊκός πληθυσμός επηρεάζεται λιγότερο συχνά από οστεοαρθρίτιδα και ενδοσπονδυλική δισκοπάθεια. Αν και η οστεοαρθρίτιδα συνδέεται πολύ με την ηλικία, πέρα από τη σωματική δραστηριότητα, η ενδοσπονδυλική δισκοπάθεια θεωρείται ένας πιο αξιόπιστος δείκτης δραστηριότητας. Τα ποσοστά και των δύο αυτών παθολογικών καταστάσεων, κι όχι μόνο της οστεοαρθρίτιδας, είναι μεγαλύτερα στο Μετά-Μυκηναϊκό δείγμα, γεγονός που προτείνει ότι εκείνη η ομάδα έχει πιο υψηλά επίπεδα δραστηριότητας. Οι δύο Μυκηναϊκές θέσεις επηρεάζονται εξίσου από ενδοσπονδυλική δισκοπάθεια, γεγονός που είναι ενδεικτικό όμοιων προτύπων δραστηριότητας και φορτίου εργασίας. Η υψηλότερη επικράτηση της οστεοαρθρίτιδας στην Αρχαία Κόρινθο μπορεί να αποδοθεί σε μεγαλύτερη διάρκεια ζωής. Αν και παγκοσμίως, η υψηλότερη επικράτηση της οστεοαρθρίτιδας απαντάται στην οσφυϊκή περιοχή της σπονδυλικής στήλης, στην παρούσα μελέτη, σε ένα από τους μετα-μυκηναϊκούς πληθυσμούς της Α. Κορίνθου, η αυχενική περιοχή επηρεάζεται δύο φορές περισσότερο απ' ό,τι η οσφυϊκή κι εμφανίζεται σε πολύ υψηλό ποσοστό (52,2%). Αυτό το πρότυπο και το υψηλό ποσοστό υποδηλώνουν μια αιτία που έχει σχέση με φυσική αλλά και απαιτητική σωματική δραστηριότητα.

VERTEBRAL PATHOLOGY AND ACTIVITY PATTERNS IN MYCENAEAN AND POST-MYCENAEAN POPULATIONS FROM THE PELOPONNESE

Papadopoulou M.P., Karabela A., Vanna V.¹, Manolis S.K.

*Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, School of Sciences, University of
Athens, Panepistimiopolis 157 84 Athens, Greece. E-mail: smanol@biol.uoa.gr*

*¹Institute of Archaeology, UCL, 31-34 Gordon Square, WC1H 0PY, London, UK
E-mail: v.vanna@ucl.ac.uk*

Spinal degenerative pathologies are common pathological conditions affecting human skeletal populations and are associated with activity and occupation, social and environmental factors, nutrition and diet, sex and age, and genetic predisposition. They are therefore important health indicators and provide invaluable information on lifestyle, economic and social organisation and status, dietary habits, subsistence and the physical environment. Considering the above, the aim of the present study was to record the presence of osteoarthritis and intervertebral disc disease in the vertebral column, estimate their prevalence and observe their pattern in the skeleton and distribution in the population, in osteological samples from the Peloponnese, namely Corinth and Aghia Triada in Eleia. The material from Corinth comes from four different sites, one dating to the Late Helladic III (1250-1060) and three to subsequent time-periods, more specifically, from the Geometric to the Late Classical (1060-330 BC). The bone assemblage from Aghia Triada dates to the Late Helladic III. This wide chronological span provided us with the opportunity to make comparisons among sites that date to the same time-period and between the Mycenaean (i.e. Late Helladic III) and post-Mycenaean groups. The analysis of the data collected showed that the Mycenaean population is considerably less frequently affected by both osteoarthritis and intervertebral disc disease. Although osteoarthritis is very closely associated with age apart from physical activity, intervertebral disc disease is considered to be a more reliable activity indicator. The fact that the percentages of both conditions, rather than only osteoarthritis, are greater in the post-Mycenaean sample, strongly suggests higher levels of activity in that group. The two Late Helladic assemblages from Corinth and Aghia Triada are equally affected by intervertebral disc disease, which is indicative of very similar activity patterns and workload. Higher prevalence of osteoarthritis in Corinth may be attributed to a greater life-span. Although for the world as a whole, the highest prevalence of osteoarthritis is in the lumbar spine, in the present study, in one of the post-Mycenaean populations from Corinth, the cervical spine is affected twice as much as the lumbar, and a very high percentage (52.2%) of the observed cervical vertebrae exhibit the condition. This pattern and high rate reflect an activity-related cause and a highly-demanding physical process.

**Η ΕΤΕΡΟΚΑΡΥΩΤΙΚΗ ΑΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑ ΣΤΟΥΣ ΑΦΥΛΕΤΙΚΟΥΣ
ΜΥΚΗΤΕΣ: ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΟΥ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟΥ
ΣΕ ΦΥΤΟΠΑΘΟΓΟΝΟΥΣ ΜΥΚΗΤΕΣ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *Verticillium***

Παπαϊωάννου Α. Ι., & Μ.Α. Τύπας

Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Πανεπιστημιούπολη 15701 Αθήνα, E-mail: matypas@biol.uoa.gr

Η ετεροκαρυωτική ασυμβατότητα αποτελεί φαινόμενο διαδεδομένο σε όλες τις ομάδες των υφομκήτων, ενώ ο παραφυλετικός κύκλος μέσω ετεροκαρύωσης στους αφυλετικούς μύκητες αποτελεί το μοναδικό τρόπο ανταλλαγής γενετικού υλικού στη φύση. Στην παρούσα εργασία βελτιστοποιήθηκε το σύστημα των μεταλλαγών *nit* (στο μονοπάτι καταβολισμού των νιτρικών ιόντων) ως προς τα στάδια απομόνωσής τους, κατάταξης σε διακριτούς φαινοτύπους και χρήσης των συμπληρωματικών μεταλλαγών σε δοκιμασίες ετεροκαρύωσης που εντάσσουν στελέχη των *V. dahliae* και *V. tricorpus* σε ομάδες βλαστητικής συμβατότητας (VCGs). Δοκιμάστηκε και αξιολογήθηκε ένα νέο σύστημα σήμανσης των μεταλλαγών *nit* με συμπληρωματικούς δείκτες ανθεκτικότητας σε πέντε κοινούς αντιμυκητιακούς παράγοντες και χρήσης αυτών σε δοκιμασίες ετεροκαρύωσης με αυξημένη επιλεκτική πίεση. Παράλληλα, σχεδιάστηκαν εκφυλισμένα εκκινητικά ολιγονουκλεοτιδία, με τα οποία πραγματοποιήθηκε η ενίσχυση με PCR, υποκλωνοποίηση και ανάλυση πρωτοδιάταξης (sequencing) τμημάτων των σχετιζόμενων γονιδίων: δυνητικής διαμεμβρανικής πρωτεΐνης (*Nchet-c*), πρωτεΐνης μεταφοράς γλυκολιπιδίων (*Pahet-c*), της μεγάλης υπομονάδας της ριβονουκλεοτιδικής αναγωγάσης τύπου I (*un-24*), πρωτεΐνης με επικράτεια HET (*het-6*), της μοριακής συνοδού Hsp90 (*mod-E*) και του συζευκτικού τύπου MAT1-2-1. Τα παραπάνω σημάνθηκαν με ραδιενεργή [³²P] dCTP για τη σάρωση γονιδιακής βιβλιοθήκης του *V. dahliae* και ανακτήθηκαν οι γονιδιακές αλληλουχίες. Οι ακριβείς θέσεις έναρξης/λήξης της μετάφρασης και τα όρια των εσωνίων προσδιορίστηκαν με ανάλυση *in silico* και επιβεβαιώθηκαν με χρήση μεθοδολογίας RT-PCR. Η πληθυσμιακή μελέτη του *mod-E* κατέδειξε την ύπαρξη δύο διακριτών ομάδων σε στελέχη του *V. dahliae*.

**GENETIC AND MOLECULAR STUDY OF HETEROKARYON
INCOMPATIBILITY IN PHYTOPATHOGENIC *Verticillium* SPECIES**

Papaioannou I.A. & M.A. Typas

*Department of Genetics and Biotechnology, Faculty of Biology, University of Athens,
Panemistiopolis, Athens 15701, Greece, E-mail: matypas@biol.uoa.gr*

Heterokaryon incompatibility is a widespread phenomenon in all groups of filamentous fungi, while parasexual cycle through heterokaryosis constitutes the only way of genetic material exchange in nature for the asexual members of these fungi. In this work, the construction, isolation and phenotypic classification of *nit* mutants (mutations in the catabolic pathway of nitrate) was optimized, and complementary mutants were used in heterokaryosis tests to group *V. dahliae* and *V. tricorpus* isolates in various vegetative compatibility groups (VCGs). Each *nit* mutant was placed on inhibitory concentrations of five common antifungal agents and double mutants resistant to these inhibitors were constructed to be used in complementary fashion in forced heterokaryosis experiments. Degenerate primers were designed and used for the PCR amplification, subcloning and sequencing of fragments of heterokaryon incompatibility-associated genes known to code for the following products: a putative transmembrane protein (*Nchet-c*), a glycolipid transfer protein (*Pahet-c*), the large subunit of class I ribonucleotide reductase (*un-24*), a protein with a HET domain (*het-6*), an Hsp90 chaperone (*mod-E*) and the MAT1-2-1 mating type. The PCR amplicons of these genes were labelled with [α^{32} -P] dCTP and used as DNA probes for screening a *V. dahliae* genomic library, and the corresponding complete genes sequences were retrieved. The exact positions of translation's start and termination codons as well as presence of introns were predicted by *in silico* analysis and confirmed by use of RT-PCR methodology. The population study of *mod-E* among *V. dahliae* isolates resulted in their grouping into two distinct groups.

**ΠΡΟΒΛΕΨΗ ΚΡΙΣΙΜΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΔΙΠΛΩΣΗ ΤΗΣ
ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ DHFR****Παπανδρέου Ν.Α., Θηραίου Τ., Ατλαμάζογλου Β., Ηλιόπουλος Η.***Εργαστήριο Γενετικής, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθήνας, E-mail: papandre@aua.gr*

Στην εργασία αυτή παρουσιάζεται μία μελέτη προσομοίωσης της αναδίπλωσης όλων των τροποποιημένων ακολουθιών, που προκύπτουν από όλες τις κυκλικές μεταθέσεις της αμινοξικής ακολουθίας της διϋδροφολικής αφυδρογονάσης του *e.coli* (ec-DHFR). Η πλήρης πειραματική μελέτη όλων των μεταθέσεων¹ έδειξε ότι σε 73 από τις 159 αμινοξικές θέσεις της πρωτεΐνης, κατανεμημένες σε 10 περιοχές, η διάσπαση του πεπτιδικού δεσμού με δημιουργία κυκλικά τροποποιημένης ακολουθίας, οδηγεί σε μη αναδίπλωση. Οι περιοχές αυτές ονομάστηκαν στοιχεία αναδίπλωσης (Folding Elements ή FE). Σε κάθε FE, η συνέχεια της πολυπεπτιδικής αλυσίδας είναι απολύτως απαραίτητη για την αναδίπλωση της πρωτεΐνης. Η προσομοίωση της πειραματικής αυτής εργασίας βασίστηκε στον αλγόριθμο MIR², που είναι μία δυναμική προσομοίωση Monte-Carlo σε διακριτό χώρο. Με μόνη πληροφορία την αμινοξική ακολουθία, δίνει μία ποσοτική πρόβλεψη για την τάση κάθε καταλοίπου να βρεθεί στον πυρήνα της αναδιπλωμένης πρωτεΐνης, που ονομάζεται προφίλ αναδίπλωσης (folding profile) της πρωτεΐνης. Αναλύοντας τις αλλαγές του προφίλ αναδίπλωσης μεταξύ της αρχικής και των τροποποιημένων ακολουθιών, καθορίστηκαν 10 περιοχές συνολικού μήκους 80 καταλοίπων, όπου η διάσπαση της αλυσίδας με ταυτόχρονη κυκλική μετάθεση της ακολουθίας οδηγούν σε μη αναδίπλωση. Οι περιοχές αυτές ονομάστηκαν προσομοιωμένα στοιχεία αναδίπλωσης (Simulated Folding Elements, SFEs). Η σύγκριση μεταξύ πειραματικών και προσομοιωμένων στοιχείων αναδίπλωσης έδωσε πολύ καλή αντιστοιχία σε 9 από τις 10 περιπτώσεις. Επίσης, προέκυψε ότι τα κέντρα βάρους των SFEs βρίσκονται κοντά σε αμινοξικές θέσεις του πυρήνα της DHFR, δίνοντας μία νέα σχέση μεταξύ ακολουθίας και τρισδιάστατης δομής.

1. Iwakura et al, *Nature Structural Biology* 7, 580 - 585 (2000)

2. Papandreou et al, *Eur J Biochem*, 271:4762-4768 (2004).

PREDICTION OF CRITICAL REGIONS FOR THE FOLDING OF PROTEIN DHFR

Papandreou N.A., Thireou T., Atlamazoglou V., Eliopoulos E.

Laboratory of Genetics, Agricultural University of Athens. E-mail: papandre@aua.gr

A folding simulation study of all circularly permuted sequences of e.coli dihydrofolate reductase (ec-DHFR) is presented. A complete experimental study¹ of all the permutations has shown that in 73 of the 159 amino acid positions distributed in 10 contiguous regions, cleavage of the peptide bond results in non-folding permuted sequences. These regions were named Folding Elements (FEs). Inside FEs, the contiguity of the polypeptide chain is necessary for folding. The simulation of the above experiment was based on the MIR algorithm², a Monte-Carlo dynamic folding simulation in a discrete space. Starting from sequence data, it gives a quantitative prediction on the tendency of each residue to be buried in the protein core, which is called a folding profile. The analysis of the modifications of folding profiles between the native and all permuted sequences resulted in the definition of 10 regions of a total length of 80 residues, where chain cleavage and sequence permutation led to a non-folding protein. These regions were called Simulated Folding Elements (SFEs). The comparison between experimental and simulated folding elements resulted in a good correspondence in 9 out of 10 cases. Moreover, it was shown that the centers of gravity of SFEs are positioned in the vicinity of the protein hydrophobic core, presenting a new relation between sequence and 3D structure.

1. Iwakura et al, *Nature Structural Biology* 7, 580 - 585 (2000)
2. Papandreou et al, *Eur J Biochem*, 271:4762-4768 (2004).

**ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΗΣ ΣΠΑΝΙΑΣ ΜΕΤΑΛΛΑΞΗΣ ΤΗΣ ΚΥΣΤΙΚΗΣ ΙΝΩΣΗΣ
I807M ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ****Παπουλίδης Ι.^{1,2}, Βήττας Σ.^{1,2}, Μαυροματίδου Π.¹, Καζανίδου Α.¹, Δροσο-
πούλου Ε.², Παπαδάκης Μ.³, Σκούρας Γ.Ζ.²**

¹Ευρωγενετική Α.Ε. Τεχνολογικό Πάρκο Θεσσαλονίκης, 6^ο χκμ Χαριλάου Θέρμης 57001, Θεσσαλονίκη. ²Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Α.Π.Θ. 54124, Θεσσαλονίκη. ³Λαϊκό Γενικό Νοσοκομείο, Κέντρο Μεσογειακής Αναιμίας, Μονάδα Προγεννητικού Ελέγχου, Αθήνα

Η κυστική ίνωση (CF) είναι η πιο κοινή γενετική ασθένεια των Καυκασίων, η οποία μεταβιβάζεται με υπολειπόμενο αυτοσωματικό τρόπο. Η συχνότητα εμφάνισης της νόσου στον ελληνικό πληθυσμό είναι 4-5% που σημαίνει 40 νέοι πάσχοντες κάθε χρόνο. Παρόλη την υψηλή συχνότητα και το μεγάλο αριθμό μεταλλάξεων του γονιδίου της CF (~1500), επικρατεί έντονος προβληματισμός για την αναγκαιότητα ελέγχου του πληθυσμού μας που αποδίδεται σε ηθικούς, κοινωνικούς και οικονομικούς λόγους. Το συνεχώς αυξανόμενο ποσοστό των εξωσωματικών γονιμοποιήσεων (IVF) και το γεγονός ότι κάποιες από τις μεταλλάξεις συσχετίζονται με περιπτώσεις υπογονιμότητας, συνηγορούν υπέρ του συστηματικού ελέγχου του πληθυσμού. Κατά τη διάρκεια γενετικού ελέγχου πριν από εξωσωματική γονιμοποίηση με τη μέθοδο PCR-DGGE, παρουσιάστηκε άγνωστο πρότυπο υποδεικνύοντας νουκλεοτιδική αντικατάσταση. Η ανάλυση της αλληλουχίας αποκάλυψε αντικατάσταση αδερίνης από γουανίνη (A to G) σε ετερόζυγη κατάσταση στη θέση 2553 η οποία οδηγεί σε αντικατάσταση Ισολευκίνης από Μεθειονίνη στη θέση 807 της πρωτεΐνης CFTR (I807M). Η αντικατάσταση αυτή βρίσκεται στην περιοχή R (κυτταροπλασματική) της διαμεμβρανικής πρωτεΐνης CFTR, η οποία αποτελεί μοναδικό χαρακτηριστικό της CFTR μεταξύ των πρωτεϊνών της υπερ-οικογένειας ABC (ATP binding cassette). Η I807M είναι πολύ σπάνια στον Καυκάσιο πληθυσμό και είναι καταχωρημένη στη διεθνή βάση δεδομένων (Cystic Fibrosis Mutation Database) ως πολυμορφισμός (Ferec *et al.*, 1992). Ωστόσο, πρόσφατες μελέτες εκτιμούν ότι η παραπάνω αντικατάσταση αποτελεί παθογόνο μετάλλαξη (Ambry Genetics, 2002; Danziger *et al.*, 2004) με συμπτώματα που αφορούν σε ανδρική υπογονιμότητα, προβλήματα ανάπτυξης και παγκρεατίτιδα. Λόγω του πολύ περιορισμένου αριθμού φορέων της I807M και την έλλειψη κλινικών στοιχείων και μοριακών δεδομένων, περαιτέρω διερεύνηση χρειάζεται για την επιβεβαίωση της πιθανής παθολογικής φύσης της μετάλλαξης.

DETECTION OF THE RARE MUTATION OF CYSTIC FIBROSIS I807M AT THE GREEK POPULATION

Papoulidis I.^{1,2}, Vittas S.^{1,2}, Mavromatidou P.¹, Kazanidou A.¹, Drosopoulou E.², Papadakis M.³, Scouras G.Z.²

¹*Eurogenetica S.A., Technology Park of Thessaloniki, 6th klm Charilaou-Thermis, 57001, Thessaloniki*

²*Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Faculty of Science, AUTh, 54124, Thessaloniki*

³*LAiko General Hospital, Center for Thalassemia, Unit of Prenatal Control, Athens*

Cystic Fibrosis (CF) is the most frequent life-threatening autosomal recessive disease in Caucasian population. The frequency in Greek population is 4-5%, which means about 40 new patients each year. Despite the high frequency and the large number of mutations of the respective gene (~1500), intensive discussions are in progress for the necessity of population screening for CF, due to ethical, social and economical reasons. Additional reason for CF screening is proceeding due to the increased percentage of In Vitro Fertilization (IVF) cases as well as the fact that at least some of the mutations are correlated with sub-fertility cases. During a pre-IVF genetic screening by PCR-DGGE an unknown pattern appeared, indicating a nucleotide substitution. Sequence analysis revealed a substitution of Adenine to Guanine (A to G) at position 2553, indicating an Isoleucine to Methionine change at the position 807 of the CFTR protein (I807M). This substitution lies in the R domain (cytoplasmic) of the CFTR transmembrane protein, which is the unique feature of CFTR within the ABC (ATP binding cassette) superfamily. I807M is a very rare DNA alteration in the Caucasian population and is submitted at the Cystic Fibrosis Mutation Database as a polymorphism (Ferec et al., 1992). However, recent studies have concluded that the above substitution is a pathogenic mutation (Ambry Genetics, 2002; Danziger et al., 2004) with clinical symptoms regarding CBAVD, growth complications and pancreatitis. Because of the limited number of I807M substitution carriers and the lack of clinical and molecular data, further functional study and more cases are needed for understanding its possible pathogenic effects.

**ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ADIPOR1 ΚΑΙ APP1 ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ
ΤΗΝ ΟΛΙΚΗ ΚΑΙ ΗΜW ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ ΣΕ ΛΕΠΤΑ ΚΑΙ ΠΑΧΥΣΑΡΚΑ
ΠΑΙΔΙΑ**

**Παππά Α.¹, Καρβέλα Α.¹, Ρόχας-Χιλ Α.Π.¹, Σαμκινίδου Ε.², Γεωργίου Γ.²,
Σπηλιώτη Β.Ε.¹**

¹Ερευνητικό Εργαστήριο Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας, Μονάδας Παιδιατρικής
Ενδοκρινολογίας και Διαβήτη, Παιδιατρικής Κλινικής, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου
Πατρών. E-mail: besspil@endo.gr

²Καραμανδάνειον Νοσοκομείο Παιδών, Πάτρα. E-mail: opoulo@hotmail.com

Εισαγωγή: Η παιδική παχυσαρκία σχετίζεται με την ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη. Η αδιπονεκτίνη και ο υποδοχέας της AdipoR1 ρυθμίζουν την ευαισθησία στην ινσουλίνη μέσω του μορίου App1, που σηματοδοτεί την πρόσληψη της γλυκόζης. **Σκοπός:** Να μελετηθεί η έκφραση των AdipoR1 και App1 σε λεπτά και παχύσαρκα παιδιά σε σχέση με τα επίπεδα της αδιπονεκτίνης.

Μέθοδοι: Αναπτύχθηκαν πρωτογενείς καλλιέργειες προ- και ώριμων λιποκυττάρων (ΛΚ) υποδόριου λιπώδους ιστού από βιοψίες χειρουργείων 17 παχύσαρκων (BMI \geq 95%) και 36 λεπτών (BMI $<$ 85%) προεφηβικών παιδιών δύο ηλικιακών ομάδων (2 μηνών-7 ετών ομάδα Α και 9-12 ετών ομάδα Β). Η έκφραση του AdipoR1 και App1 μελετήθηκε σε επίπεδο mRNA (mR) με RT-PCR και του AdipoR1 σε πρωτεϊνικό επίπεδο (Pr) με western immunoblotting. Η ολική και ΗΜW αδιπονεκτίνη (ΗΜW αδ) μετρήθηκε στον ορό αίματος των παιδιών.

Αποτελέσματα: Το mR του App1 βρέθηκε σημαντικά αυξημένο στα ώριμα ΛΚ των μικρότερων παχύσαρκων παιδιών σε σύγκριση με τα λεπτά. Το AdipoR1 Pr ήταν σημαντικά μειωμένο στα ώριμα ΛΚ των παχύσαρκων παιδιών. Η ολική αδιπονεκτίνη ήταν σημαντικά μειωμένη στα μεγαλύτερα παχύσαρκα παιδιά σε σύγκριση με τα μικρότερα, με την ΗΜW αδ να είναι μειωμένη στα παιδιά της ομάδας Β και αυξημένη στα μικρότερα παχύσαρκα παιδιά σε σύγκριση με τα λεπτά.

Συμπεράσματα: Η μείωση του AdipoR1 Pr καθώς και η μειωμένη ολική και ΗΜW αδ στα μεγαλύτερα παχύσαρκα παιδιά μπορεί να παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη στα παιδιά αυτά. Η αύξηση του App1 mR στα μικρότερα παχύσαρκα παιδιά δείχνει να ανταποκρίνεται στην αύξηση της ΗΜW αδ με πιθανό σκοπό την αύξηση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη στα παιδιά αυτά που ήδη παρουσιάζουν μειωμένο AdipoR1 Pr και παχυσαρκία.

DIFFERENCES IN THE EXPRESSION OF ADIPOR1 AND APPL1 IN RELATION TO TOTAL AND HMW ADIPONECTIN IN LEAN AND OBESE CHILDREN

Pappa A.¹, Karvela A.¹, Rojas-Gil A.P.¹, Samkinidou E.², Georgiou G.², Spiliotis B.E.¹

¹Research Laboratory of Pediatric Endocrinology, Division of Pediatric Endocrinology and Diabetes,
Pediatric Clinic, Medical School, University of Patras. E-mail: besspil@endo.gr

²Karamandaneio Children's Hospital, Patra. E-mail: opoulo@hotmail.com

Introduction: Childhood obesity is associated with the development of insulin resistance. Adiponectin and its receptor AdipoR1 regulate insulin sensitivity mediated by the protein Appl1, which is known to be involved in glucose uptake.

Aim: To study the expression levels of AdipoR1 and Appl1 in obese and lean patients in association with Adiponectin.

Methods: Primary cultures of pre- and mature adipocytes were developed from routine surgical biopsies of subcutaneous abdominal adipose tissue from 17 obese (BMI \geq 95%) and 36 healthy lean pre-pubertal children (BMI <85%) in 2 age groups (group A: 2 months-7 yrs and group B: 8-12 yrs). The expression of AdipoR1 and Appl1 was studied at the mRNA level (mR) with RT-PCR and AdipoR1 was also studied at the protein level (Pr) with western immunoblotting. Total and HMW adiponectin (HMW ad) were measured in the blood serum of the children.

Results: The mR of APPL1 was found significantly increased in the mature adipocytes of the younger obese children in comparison to the lean. The Pr of AdipoR1 was significantly decreased in the mature adipocytes of the obese children. Total Adiponectin was significantly decreased in the older obese children in comparison to the younger, whereas HMW ad was decreased in the children of group B and increased in the younger obese children in comparison to the lean.

Conclusions: The decrease observed in AdipoR1 Pr as well as the decrease in the total and HMW ad in the older obese children, may play a critical role in the development of insulin resistance in these children. The increase of APPL1 mR in the younger obese children may correspond to the increase observed in the HMW ad, with a possible attempt to increase insulin sensitivity in these children that already display decreased AdipoR1 Pr level and obesity.

**ΜΕΛΕΤΗ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ *BCL2L12* ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ
ΚΕΦΑΛΗΣ ΚΑΙ ΤΡΑΧΗΛΟΥ****Πάτσης Χ.Γ.¹, Γεωμελά Π.Α.¹, Γιωτάκης Ι.² και Α. Σκορίλας¹**¹Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Πανεπιστημιούπολη 157 84 Αθήνα. E-mail: ascorilas@biol.uoa.gr²Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιατρική Σχολή, Κλινική Ω.Ρ.Λ., "Ιπποκράτειο" Νοσοκομείο
Αθηνών

Ο καρκίνος κεφαλής και τραχήλου, που περιλαμβάνει αρκετά όργανα, αποτελεί τον έκτο πιο συχνό τύπο καρκίνου παγκοσμίως. Αν και οι σύγχρονες θεραπευτικές προσεγγίσεις έχουν συμβάλει στην βελτίωση της βιωσιμότητας των ασθενών, ωστόσο η κακή πρόγνωση της νόσου οφείλεται στην έλλειψη κατάλληλων καρκινικών δεικτών για την έγκαιρη διάγνωση της. Το γονίδιο *BCL2L12* ανακαλύφθηκε και κλωνοποιήθηκε πρόσφατα από τους Scorilas et al. και χαρακτηρίστηκε στην χρωμοσωμική θέση 19q13.3-13.4. Αποτελεί ένα νέο μέλος της *BCL2* οικογένειας των αποπτωτικών γονιδίων. Επιπλέον, έχει χαρακτηριστεί ένα νέο μετάγραφο του γονιδίου, το *BCL2L12-A*. Ο σκοπός της συγκεκριμένης εργασίας είναι η μελέτη της έκφρασης του γονιδίου *BCL2L12* στον καρκίνο κεφαλής και τραχήλου και η διερεύνηση της πιθανής του χρήσης ως διαγνωστικού ή προγνωστικού δείκτη του συγκεκριμένου τύπου καρκίνου. Στην εργασία αυτή, σε 93 δείγματα, χειρουργικά εξαιρεθέντα από ασθενείς με καρκίνο κεφαλής και τραχήλου, αναλύθηκε και μελετήθηκε η έκφραση, σε επίπεδο mRNA, του γονιδίου *BCL2L12*. Τα δείγματα ομογενοποιήθηκαν και έπειτα απομονώθηκε ολικό RNA, που μεταγράφηκε σε cDNA με την μέθοδο RT. Με την χρήση εξειδικευμένων εκκινητών ενισχύθηκαν τα cDNA του *BCL2L12* με την μέθοδο της συμβατικής PCR. Το γονίδιο GAPDH χρησιμοποιήθηκε ως ενδογενής μάρτυρας. Τα προϊόντα PCR ηλεκτροφορήθηκαν σε πήκτωμα αγαρόζης και ακολούθησε ημιποσοτικός προσδιορισμός με πυκνομέτρηση. Το γονίδιο *BCL2L12* βρέθηκε ότι παρουσιάζει διαφορετική έκφραση στους διάφορους τύπους ιστών που μελετήθηκαν, και με βάση αυτά τα προκαταρκτικά δεδομένα, τα επίπεδα mRNA του παραπάνω γονιδίου ίσως αποτελούν έναν εν δυνάμει καρκινικό δείκτη για την διάγνωση και την πρόγνωση του καρκίνου κεφαλής και τραχήλου.

EXPRESSION ANALYSIS OF THE *BCL2L12* GENE IN HEAD AND NECK CANCER

Patsis C.G.¹, Geomela P.-A.¹, Ioannis Yiotakis I.² and A. Scorilas¹

¹*Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Biology, University of Athens,
Panepistimiopolis 157 84 Athens. E-mail:ascorilas@biol.uoa.gr*

²*University of Athens, Medical School, ENT Clinic, "Ippokrateio" Hospital of Athens*

Head and neck cancer, which includes many organs, constitutes the sixth most common cancer worldwide. Although modern treatment approaches have contributed to improving the viability of patients, the poor prognosis of the disease is due to the lack of suitable cancer markers for early diagnosis. The *BCL2L12* gene was discovered and cloned recently by Scorilas et al. and it maps to the chromosomal location 19q13.3-13.4. It comprises a new member of the *BCL2* family of apoptotic genes. Moreover, a new transcript of the gene has been characterised, called *BCL2L12-A*. The aim of this project is the expression study of the *BCL2L12* gene in head and neck cancer and the investigation of its possible application as a diagnostic or prognostic marker for this particular cancer type.

In this study, the expression of the *BCL2L12* gene, at mRNA level, was analysed and evaluated in 93 samples, surgically removed from patients suffering from head and neck cancer. The samples were homogenised, total RNA was extracted and transcribed to cDNA by the RT method. Using gene-specific primers the *BCL2L12* cDNAs were amplified with regular PCR. The *GAPDH* gene was used as an internal control gene. PCR products were electrophoresed on agarose gel and semiquantification with densitometry followed.

The *BCL2L12* gene was found to present differential expression in the various types of tissues studied, and according to these preliminary data, the mRNA levels of the above gene might constitute a potential cancer marker for the diagnosis and the prognosis of head and neck cancer.

**REFLECT: ΑΥΤΟΜΑΤΗ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΟΝΤΟΤΗΤΩΝ ΣΕ
ΙΣΤΟΣΕΛΙΔΕΣ**

**Παφίλης Ε., Kuhn M., Horn H., Brown N., O'Donoghue S.I., Jensen L.J.,
Schneider R.**

*European Molecular Biology Laboratory, EMBL, Meyerhofstrasse 1, 69117, Heidelberg,
Germany. E-mail: {pafilis, mkuhn, heiko.horn, nigel.brown, odonoghue, lars.jensen,
reinhard.schneider}@embl.de*

Έστω ότι διαβάζετε στο διαδίκτυο για την ανακάλυψη μίας νέας ομάδας γονιδίων που σχετίζονται με μια συγκεκριμένη ασθένεια. Στο κείμενο αναφέρονται αρκετές πρωτεΐνες και χημικές ενώσεις τις οποίες δεν γνωρίζετε και για τις οποίες θα θέλατε να μάθετε περισσότερα. Δεν θα ήταν βολικός ένας μηχανισμός ικανός, όχι μόνο να αναγνωρίσει και να επισημάνει, αυτόματα, τις οντότητες αυτές, αλλά και να σας προσφέρει περιληπτικά την υπάρχουσα, για αυτές, γνώση? Πόσο μάλιστα, εάν αυτό ήταν εφικτό για οποιαδήποτε ιστοσελίδα επισκέπτεστε, άσχετα με το εάν πρόκειται για την αγαπημένη σας ενημερωτική σελίδα, για μία εγγραφή σε μία βάση βιολογικών δεδομένων, ή ακόμα και για μία ιστοσελίδα με πειραματικά αποτελέσματα? Εδώ παρουσιάζουμε την Reflect, μία υπηρεσία η οποία επιτρέπει στον χρήστη, όχι μόνο την αυτόματη αναγνώριση όλων των πρωτεϊνών και των χημικών ενώσεων στην τρέχουσα ιστοσελίδα του πλοηγτή (browser), αλλά και την δυναμική σύνδεσή τους με περιλήψεις των διαθέσιμων, για αυτές, πληροφοριών. Στην τρέχουσα έκδοση, η Reflect προσφέρεται ως επέκταση του πλοηγτή Firefox. Μοναχά με το πάτημα ενός κουμπιού οι πρωτεΐνες συνδέονται με ένα παράθυρο-περίληψη το οποίο περιέχει: μία σύντομη περιγραφή, την αμινοξική αλληλούχια, και, γραφικά: τη σύσταση από αυτόνομες δομικές μονάδες (domains) και την τρισδιάστατη δομή. Για τις χημικές ενώσεις, η Reflect, προσφέρει τη χημική τους δομή. Σε κάθε περίπτωση παρέχονται σύνδεσμοι για περαιτέρω πλοήγηση σε πιο εξειδικευμένες πηγές πληροφορίας. Η ίδια λειτουργικότητα είναι διαθέσιμη και στην διεύθυνση <http://reflect.embl.de> στην οποία ο χρήστης μπορεί να πληκτρολογήσει τη διεύθυνση μίας οποιασδήποτε ιστοσελίδας και να επισκευτεί την εμπλουτισμένη της μορφή, με την επιπλέον πληροφορία, χωρίς να απαιτείται η εγκατάσταση κάποιου λογισμικού.

REFLECT: AUTOMATED MARK-UP OF BIOLOGICAL ENTITIES IN WEB PAGES

Pafilis E., Kuhn M., Horn H., Brown N., O'Donoghue S.I., Jensen L.J., Schneider R.

*European Molecular Biology Laboratory, EMBL, Meyerhofstrasse 1, 69117, Heidelberg,
Germany. E-mail: {pafilis, mkuhn, heiko.horn, nigel.brown, odonoghue, lars.jensen,
reinhard.schneider}@embl.de*

Imagine you are reading on the web about the discovery of a new set of genes associated with a certain disease. The text contains several protein and chemical names you are not familiar with. Would not it be nice if there were a way to automatically recognize all of them and link them to information-rich summaries? Would not it be great if this was possible for any web site you visit, no matter if it is your favorite news portal, or a wikipedia entry, or even an experimental result page? Here we present Reflect, a service that provides users with automatic recognition of all proteins, and small molecule names in the current page in your browser, and their hyper-linking to knowledge summaries. In its current version, Reflect is available as a Firefox extension. With merely a button-click, protein names are dynamically connected to a pop-up window comprising a short description, the amino acid sequence and, graphically, the domain composition and the 3D structure. For the chemicals, Reflect provides a graph of their structure. In both cases links for further navigation to more detailed resources are included. The same functionality is also available at <http://reflect.embl.de>, a web page that allows the user to enter a web site address and retrieve its "reflected" version without having to install any pieces of software.

ΑΥΞΗΣΗ & ΕΚΜΕΤΑΛΛΕΥΣΗ ΤΗΣ ΤΡΟΦΗΣ ΣΤΟ ΚΟΙΝΟ ΧΤΑΠΟΔΙ
*Octopus vulgaris***Πέτζα Δ.¹, Κατσανεβάκης Σ.² & Γ. Βερροϊόπουλος¹**¹Τομέας Ζωολογίας – Θαλάσσιας Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Πανεπιστημιούπολη 157 84 Αθήνα. E-mail: dpetza@biol.uoa.gr²Ινστιτούτο Θαλάσσιων Βιολογικών Πόρων, Ελληνικό Κέντρο Θαλασσιών Ερευνών
(ΕΛΚΕΘΕ), 46.7 χλμ Αθηνών-Σουνίου, Τ.Θ. 712, 19013 Ανάβυσσος, Αττική.
E-mail: stelios@katsanevakis.com

Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε η συνδυασμένη επίδραση της σωματικής μάζας (m), του σταδίου ωριμότητας (ms), του τύπου της τροφής (ft) και της περιεκτικότητας της τροφής σε πρωτεΐνη (p) στον Ειδικό Ρυθμό Αύξησης (SGR, % ημέρα⁻¹) και στο Συντελεστή Εκμετάλλευσης της Τροφής (FE , %) σε άτομα του κοινού χταποδιού *O. vulgaris*, που η σωματική τους μάζα κυμαίνονταν από 89 έως 1153g. Τα πειράματα διεξήχθησαν σε κλειστό κύκλωμα ανακύκλωσης θαλασσινού νερού, σε σταθερή θερμοκρασία στους 20 °C. Χορηγήθηκαν πέντε διαφορετικοί τύποι τροφής: *Loligo vulgaris* (καλαμάρι), *Sardina pilchardus* (σαρδέλα), *Merluccius merluccius* (μπακαλιάρος), *Mytilus galloprovincialis* (μύδι) και *Parapenaeus longirostris* (γαρίδα) σε κορεσμό. Ο SGR και ο FE αναλύθηκαν με Γενικά Γραμμικά Μοντέλα, χρησιμοποιώντας τον τύπο της τροφής (ft) και το στάδιο ωριμότητας (ms) ως πιθανές κατηγορικές μεταβλητές πρόβλεψης και τη σωματική μάζα και την περιεκτικότητα της τροφής σε πρωτεΐνη (p) ως πιθανές συνεχείς μεταβλητές πρόβλεψης. Η επιλογή μοντέλου βασίστηκε στη διορθωμένη για μικρό δείγμα μορφή του Akaike's Information Criterion. Το καλύτερο μοντέλο για τον SGR ήταν αυτό με τις m και p ως συμμεταβλητές: $SGR = -16.66 + 5.36 \cdot \log(p) - 0.85 \cdot \log(m)$. Ως εκ τούτου, ο SGR μειώνεται με την σωματική μάζα και αυξάνεται με την περιεκτικότητα της τροφής σε πρωτεΐνη. Το καλύτερο μοντέλο για τον FE , ήταν αυτό με τον τύπο της τροφής ως τη μοναδική συμμεταβλητή. Ο μέγιστος και ο ελάχιστος FE παρατηρήθηκαν όταν χορηγούνταν ως τροφή γαρίδες και μύδια αντίστοιχα.

GROWTH AND FEED EFFICIENCY OF COMMON OCTOPUS *Octopus vulgaris*

Petza D.¹, Katsanevakis S.², and G. Verroiopoulos¹

¹Department of Zoology-Marine Biology, School of Biology, University of Athens,
Panepistimioupolis 157 84 Athens. E-mail: dpetza@biol.uoa.gr

²Institute of Marine Biological Resources, Hellenic Centre for Marine Research (HCMR), 46.7km
Athens-Sounio, P.O.712, 190 13 Anavissos, Attica.
E-mail: stelios@katsanevakis.com

In the present study, the combined effect of body mass (m), maturity stage (ms), food type (ft) and food protein content (p) on the Specific Growth Rate (SGR , % day⁻¹) and the Food Efficiency (FE , %) was examined, in common octopus *O. vulgaris* specimens. Body mass ranged between 89 and 1153g. The experiments were conducted in a closed seawater system, where temperature remained constant at 20 °C. Five different types of diets (i.e. food types) were provided: *Loligo vulgaris* (squid), *Sardina pilchardus* (sardine), *Merluccius merluccius* (cod), *Mytilus galloprovincialis* (mussel) and *Parapenaeus longirostris* (shrimp) *ad libitum*. Estimated SGR and FE were modelled with General Linear Models, using food type (ft) and maturation stage (ms) as potential factor predictor variables, and body mass (m) and food protein content (p) as potential continuous predictor variables. Model selection was based on the small-sample, bias-corrected form of Akaike's Information Criterion. The best model for SGR was the one with p and m as predictor variables: $SGR = -16.66 + 5.36 \cdot \log(p) - 0.85 \cdot \log(m)$. Hence, SGR decreased with body mass and increased with food protein content. The best model for FE was the one with food type as a single factor covariate. The maximum and minimum FE were observed, when food provided was shrimps and mussels respectively.

**ΔΟΜΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΗΣ ΖΟΝΑ PELLUCIDA
ΤΕΛΕΟΣΤΕΩΝ ΙΧΘΥΩΝ****Πετρονικολού Ν., Οικονομίδου Β.Α. και Χαμόδρακας Σ.Ι.**

Τομέας Βιολογίας Κυττάρων και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Αθήνα 157 01, E-mail: nektariapetronikou@gmail.com; veconom@biol.uoa.gr;
shamodr@biol.uoa.gr

Η zona pellucida (ZP) είναι η εξωκυτταρική πρωτεϊνική δομή που περιβάλλει τα ωοκύτταρα πολλών οργανισμών από τους ιχθύες ως τα θηλαστικά και παίζει πρωταρχικό ρόλο στη διαδικασία της ωογένεσης και γονιμοποίησης. Στους τελεόστεους ιχθύες, εναλλακτικά, ονομάζεται chorion ή vitelline envelope. Στα θηλαστικά και τους ιχθύες, κυρίως, συγκροτείται από 3 πρωτεΐνες (ZP1, ZP2 και ZP3), οι οποίες έχουν μια χαρακτηριστική αυτοτελή δομική περιοχή κοντά στο C-τελικό άκρο, γνωστή ως ZP domain. Το δομικό αυτό στοιχείο αποτελείται από ~260 αμινοξικά κατάλοιπα, με έναν αριθμό συντηρημένων καταλοίπων κυστεΐνης (Cys). Στα θηλαστικά, οι πρωτεΐνες ZP1 και ZP2 έχουν 10 συντηρημένα κατάλοιπα Cys αντί για 8, που έχουν οι ZP3, ενώ στους τελεόστεους ιχθύες έχουν 12. Συλλέχθηκαν οι αλληλουχίες ZP1, ZP2 και ZP3 πρωτεϊνών τελεόστεων ιχθύων οι οποίες χωρίστηκαν σε δύο ομάδες, μία με τις πρωτεΐνες ZP1 και ZP2 μαζί, και μία με τις ZP3, και εν συνεχεία έγιναν στοιχίσεις τους, σε κάθε ομάδα χωριστά. Από τις στοιχίσεις προέκυψε μία ακολουθία 'συναίνεσης' για το ZP domain ανά ομάδα πρωτεϊνών (ZP1 και ZP2 μαζί, ZP3 χωριστά). Με τη χρήση 4 αλγόριθμων πρόγνωσης δευτεροταγούς δομής, πραγματοποιήθηκε, ακολούθως, συναινετική πρόγνωση για τις δύο ακολουθίες 'συναίνεσης', η οποία έδειξε ότι η δευτεροταγής δομή που κυριαρχεί σ' αυτές, είναι αυτή των β-πτυχωτών επιφανειών. Οι προγνώσεις είναι σε συμφωνία με πειραματικά δεδομένα από φασματοσκοπία υπερερυθρού (ATR FT-IR) σε χόρια (ZP) αυγών πέστροφας (*S. gaidneri*). Επιπλέον, κάθε ακολουθία 'συναίνεσης' στοιχίστηκε με τις πρωτεΐνες pc292 και pc401 του χορίου των ωοθυλακίων των μεταξοσκωλήκων *A. polyphemus* και παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη ομοιότητα, η οποία θα διερευνηθεί περαιτέρω, λαμβάνοντας υπόψη τη μορφολογική (ελικοειδή αρχιτεκτονική) και λειτουργική ομοιότητα μεταξύ της δομής της zona pellucida τελεόστεων ιχθύων και του χορίου των ωοθυλακίων των λεπιδοπτέρων.

STRUCTURAL STUDIES OF ZONA PELLUCIDA PROTEINS OF TELEOSTEAN FISHES

Petronikolou, N., Iconomidou, V.A. and Hamodrakas, S.J.

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 157 01

E-mail: nektariapetronikolou@gmail.com; veconom@biol.uoa.gr;

shamodr@biol.uoa.gr

Zona pellucida (ZP) is an extracellular proteinaceous coat that surrounds the oocyte and plays an important role during oogenesis and fertilization. Alternatively, in teleostean fishes, it is called chorion or vitelline envelope. It consists of 3 proteins (ZP1, ZP2 and ZP3), which share a conserved sequence designated as the ZP domain, at their C-terminal ends. This structural element (domain) is present in many extracellular proteins from a wide variety of organisms, from nematodes to mammals, and consists of ~260 amino acids with a number of conserved cysteine (Cys) residues. In mammals, ZP1 and ZP2 proteins share 10 conserved Cys residues in comparison to the 8 Cys that the ZP3 proteins share, whereas in teleostean fishes they share 12. All amino acid sequences of ZP1, ZP2 and ZP3 proteins of teleostean fishes were collected and they were divided into two sets, one including the ZP1 and ZP2 proteins and the other the ZP3 proteins, and then the sequences of each set were aligned separately. A consensus sequence for each set was then derived from these alignments. Utilizing 4 secondary structure prediction algorithms, a consensus prediction was performed on the two consensus sequences, showing that β -pleated sheet is the predominant secondary structure in the ZP domain. These results are supported by experimental data from ATR FT-IR spectroscopy studies of intact chorions (ZP's) from *S. gairdneri* (Rainbow trout), which suggest that in zona pellucida proteins a β -pleated sheet conformation prevails. Moreover, each consensus sequence was aligned with the pc292 (A-class) and pc401 (B-class) chorion proteins from the silkworm *A. polyphemus*, showing a distinct distant similarity which will be investigated further, considering the structural (helical architecture) and functional similarity between the vitelline envelope/chorion/ZP of teleostean fishes, which consists of ZP proteins, and the lepidopteran chorion.

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΣΤΟ ΚΟΛΛΑΓΟΝΟ ΤΩΝ ΑΡΧΑΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΟΣΤΩΝ****Πετρουσά Ε.Ι. & Σ.Κ. Μανώλης**

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη 157 84 Αθήνα
E-mails: epetr@biol.uoa.gr; smanol@biol.uoa.gr*

Η μελέτη των προϊστορικών ανθρώπινων οστών έχει παίξει τα τελευταία χρόνια σημαντικό ρόλο στην ανάπλαση του κοινωνικού και οικολογικού περιβάλλοντος των προϊστορικών κοινωνιών. Οι σύγχρονες μελέτες για τη διατροφή, τη μετακίνηση ή ακόμη και την προέλευση αρχαίων Ελληνικών και άλλων ανθρώπινων πληθυσμών έχει βασιστεί στη μελέτη μακρομορίων, όπως οι πρωτεΐνες και το DNA.

Στην παρούσα μελέτη παρουσιάζεται η διατήρηση του κολλαγόνου των οστών, πληθυσμών της εποχής Χαλκού στην Ελλάδα και στην Κύπρο, με σκοπό τη διερεύνηση της επίδρασης του χρόνου και του περιβάλλοντος στα οστά.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα γίνεται εμφανές ότι τόσο ο χρόνος ενταφιασμού όσο και το περιβάλλον ταφής παίζουν ουσιαστικό ρόλο για τη διατήρηση των μακρομορίων των ανθρώπινων οστών, με το μεγαλύτερο βάρος επίδρασης να αφορά τις συνθήκες του περιβάλλοντος, παρά του χρόνου.

**THE EFFECT OF TIME AND ENVIRONMENT IN COLLAGEN OF
ARCHAEOLOGICAL BONES**

Petroutsas E.I. & S.K. Manolis

*Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, School of Sciences,
University of Athens, Panepistimiopolis 157 04 Athens, Greece
E-mails: epetr@biol.uoa.gr; smanol@biol.uoa.gr*

The study of ancient bones has played the last years an important role in the reformation the social and ecological environment of prehistoric societies. The modern studies on the diet, the locomotion or even the origin ancient Greek and other human populations it has been based on the study of macromolecules, as the proteins and DNA.

In the present study is presented the maintenance of bone collagen, in population samples dating to Bronze Age era in Greece and Cyprus, aiming at the investigation of the effect of time and environment in the bones.

According to the results it becomes obvious that so much the time of inhumation and the burial environment play essential role for the maintenance of macromolecules in human bones, with larger influence of the environmental conditions, instead of the time.

**ΑΠΟΡΡΙΠΤΟΜΕΝΑ ΠΑΡΑΚΤΙΑΣ ΑΛΙΕΙΑΣ ΣΤΟ ΘΕΡΜΑΪΚΟ ΚΟΛΠΟ:
ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ****Πώρρα Μ., Γκάνιας Κ., Χιντήρογλου Χ.***Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α. Π. Θ., Θεσ/νίκη 54 124, E-mail: porra@bio.auth.gr*

Το απορριπτόμενο αλιεύμα, δηλαδή το αλιεύμα που επιστρέφεται στη θάλασσα για διάφορους λόγους (κυρίως οικονομικούς και νομικούς), αποτελεί σημαντικό ποσοστό του συνολικού αλιεύματος, καθώς κυμαίνεται από 17,9-39,5 εκ. τόνους. Οι μέχρι σήμερα παγκόσμιες έρευνες εστιάζουν στα συρόμενα εργαλεία (τράτες), ενώ δεν υπάρχουν σχετικές πληροφορίες για τη μικρή παράκτια αλιεία. Η παρούσα εργασία στοχεύει στη διερεύνηση των απορριπτόμενων οργανισμών της παράκτιας αλιείας στην περιοχή του Θερμαϊκού Κόλπου. Συνολικά, συγκεντρώθηκαν 38 δείγματα απορριπτόμενου αλιεύματος (9/2007 - 2/2008) επαγγελματικής αλιείας (τύπος διχτύων: απλάδια, μανωμένα). Από το σύνολο των δειγμάτων καταγράφηκαν 3566 άτομα που ταξινομήθηκαν σε 120 είδη 7 ανώτερων ταξινομικών ομάδων: Porifera 3 είδη, Cnidaria 5 είδη, Annelida 1 είδος, Mollusca 28 είδη, Arthropoda 16 είδη, Echinodermata 12 είδη, Tunicata 3 είδη, Pisces 52 είδη. Η συνολική βιομάζα των οργανισμών αυτών φτάνει τα 104,375 kg και οι ομάδες με τις μεγαλύτερες σχετικές βιομάζες είναι τα Pisces (44%) και τα Mollusca (20%). Ακολουθούν τα Arthropoda (14%), τα Cnidaria (11%), τα Echinodermata (6%) και τα Tunicata (2%), ενώ τα Porifera και τα Annelida έχουν σχεδόν μηδενική συμμετοχή. Η πλειονότητα των απορριπτόμενων οργανισμών αφορά τα σπονδυλωτά (65%) με τα ασπόνδυλα να καλύπτουν μόλις το 35%. Οι διαθέσιμες πληροφορίες για τις Ελληνικές θάλασσες αφορούν αποκλειστικά τα ψάρια, ενώ δεν υπάρχουν πληροφορίες για τα ασπόνδυλα. Συμπερασματικά, οι δραστηριότητες της παράκτιας αλιείας, πέρα από την άμεση επίδραση τους (αλιεία), προκαλούν και την ακούσια μεταφορά οργανισμών επηρεάζοντας έτσι τη δομή και τη λειτουργία των παράκτιων οικοσυστημάτων. Οι δραστηριότητες αυτές δεν έχουν μέχρι σήμερα αξιολογηθεί προκαλώντας βασίμια ερωτήματα στην επιστημονική κοινότητα.

**DISCARDS OF SMALL-SCALE FISHERY FROM THERMAIKOS GULF:
PRELIMINARY RESULTS**

Porra M., Ganas K., Chintiroglou Ch.

*Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University, Thessaloniki, Gr 54124
E-mail:porra@bio.auth.gr*

The discarded catch, which is returned in the sea for various reasons (mainly economic and legal), constitute an important percentage of total catch; it varies between 17,9-39,5 mill.t. Relevant information on small-scale fishery is very limited since most researches focus on the trawl's gears. Thus, the present work aims at investigating the discarded organisms of small-scale fishery in the region of Thermaikos Gulf. 38 samplings were carried out (9/2007 - 2/2008) with coastal fishermen under conditions of professional fishery (gillnets, trammelnets). Overall, 3566 individuals were recorded identified to 120 species of 7 higher taxonomic groups: Porifera 3 species, Cnidaria 5 species, Annelida 1 species, Mollusca 28 species, Arthropoda 16 species, Echinodermata 12 species, Tunicata 3 species, Pisces 52 species. The total biomass of these organisms reaches 104,375 kg and the groups with large relative biomass are the Pisces (44%) and the Mollusca (20%). The next groups with relative biomass are the Arthropoda (14%), the Cnidaria (11%), the Echinodermata (6%) and the Tunicata (2%), in contrast to the Porifera and the Annelida, which almost have insignificant participation. The majority of discards concerns vertebrates (65%) with the invertebrates hardly covering 35% of the total of samples. There is no information about the invertebrates as the only available for Greek Seas concerns the vertebrates. It can be easily deduced that the activities of small-scale fishery cause the indirect transport of organisms in addition to their direct effect (fishery); thus, influencing the structure and the function of coastal ecosystems. Up to now, these activities have yet to be evaluated causing raising questions of fundamental importance in the scientific community.

**ΑΠΟΡΡΙΠΤΟΜΕΝΗ ΙΧΘΥΟΠΑΝΙΔΑ ΣΤΟΝ ΠΑΤΡΑΪΚΟ ΚΑΙ ΘΕΡΜΑΪΚΟ
ΚΟΛΠΟ****Πώρρα Μ., Γκάνιας Κ., Χιντήρογλου Χ.**Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., Θεσ/νίκη 54 124 E-mail: porra@bio.auth.gr

Η παράκτια αλιεία στην Ελλάδα, παρά το σημαντικότατο ιστορικό και πολιτιστικό υπόβαθρο δεν έχει αποτελέσει μέχρι σήμερα, επί της ουσίας, αντικείμενο ολοκληρωμένης επιστημονικής έρευνας. Το γεγονός αυτό ενδεχομένως να οφείλεται στην εξαιρετική χωρο-χρονική ποικιλομορφία και πολυπλοκότητα που εμφανίζει (αφθονία και ποικιλότητα των αλιευτικών εργαλείων, είδη αλιεύματος με εμπορικά μεταβαλλόμενη αξία, κ.ά.). Σκοπός της παρούσας έρευνας είναι η καταγραφή της απορριπτόμενης ιχθυοπανίδας της παράκτιας αλιείας στο Θερμαϊκό Κόλπο και η σύγκριση της με αντίστοιχα δεδομένα από τον Πατραϊκό Κόλπο. Συνολικά, συγκεντρώθηκαν 38 δείγματα απορριπτόμενου αλιεύματος από το Θερμαϊκό στη διάρκεια έξι μηνών (9/2007-2/2008), σε συνθήκες επαγγελματικής αλιείας. Η ανάλυση των δειγμάτων αποκάλυψε 20 είδη απορριπτόμενων ψαριών, τα οποία και συμπεριλαμβάνονται στα 30 αντίστοιχα του Πατραϊκού Κόλπου. Το ποσοστό απόρριψης των ψαριών βρέθηκε παρόμοιο και στους δυο κόλπους (Πατραϊκός Κόλπος 10%, Θερμαϊκός Κόλπος 11%). Από το σύνολο των απορριπτόμενων ειδών τα πιο άφθονα ήταν το *Sardinella aurita* (Φρίσσα) και το *Spicara maena* (Τσέρουλα) και στις δύο γεωγραφικές περιοχές. Η πλειονότητα των ειδών απορρίπτεται κατά περίπτωση, ενώ τα *Torpedo marmorata* (Μουδιάστρα) και *Trachinus draco* (Δράκαινα), απορρίπτονται πάντα. Στον Πατραϊκό, απορρίπτεται σε σημαντικές ποσότητες και το είδος *Conger conger* (Μουγγρί), σε αντίθεση με το Θερμαϊκό, όπου αυτό το είδος αυτό κρατείται, ενώ απορρίπτεται το *Diplodus annularis* (Σπάρος) λόγω μεγέθους. Συνεπώς, οι λόγοι απόρριψης του αλιεύματος διαφέρουν μεταξύ των δύο Κόλπων σε σχέση με τους κοινωνικο-οικονομικούς παράγοντες των παράκτιων αυτών περιοχών.

DISCARDED ICHTHYOFAUNA OF PATRAIKOS GULF AND THERMAIKOS GULF

Porra M., Ganas K., Chintiroglou C.

Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University, Thessaloniki, Gr 54124
E-mail: porra@bio.auth.gr

The coastal fishery in Greece, despite its historical and cultural background, has not been the subject of a complete scientific study, mostly due to its exceptional spatio-temporal diversity and complexity (abundance and diversity of gears, different commercial value of the fish catch, etc). The present study aims to record the discarded ichthyofauna of small-scale fishery in Thermaikos Gulf, as well as to compare the collected data with relevant ones from Patraikos Gulf. Overall, 38 samples of discarded fishes were collected in a six month period (9/2007 - 2/2008) under conditions of professional fishery. The analysis of samples revealed the presence of 20 fish species. All these species have been also reported among the 30 fish species discarded in Patraikos Gulf. The discard ratio of fish, in terms of biomass, is similar in both gulfs (Patraikos Gulf 10%, Thermaikos Gulf 11%). The most abundant discarded species were *Sardinella aurita* and *Spicara maena* for both geographic regions. *Torpedo marmorata* and *Trachinus draco* were always discarded, while the majority of species occasionally. *Conger conger* was caught in large quantities in Patraikos Gulf but usually discarded. In contrast, this species was retained in Thermaikos Gulf, where large quantities of *Diplodus annularis* were discarded because of their small length. Consequently, the reasons to discard a particular fish catch seem to be different between these gulfs, probably connected with the socio-economic characteristics of these geographic areas.

**ΤΟ ΑΝΟΣΟΔΡΑΣΤΙΚΟ ΠΕΠΤΙΔΙΟ ΠΡΟΘΥΜΟΣΙΝΗ α (100-109) ΕΝΙΣΧΥΕΙ
ΤΙΣ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΤΩΝ ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΩΝ
ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ**

**Ριζοπούλου Ζ.^{1*}, Σαμαρά Π.^{1*}, Ιωάννου Κ.¹, Γιώτη Ι.², Παπαδάκη Ε.³,
Αρδαβάνης Α.², Σκοπελίτη Μ.¹, Τσιτσιλώνη Ο.¹**

¹Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, ²Α' Παθολογικό-
Ογκολογικό Τμήμα και ³Τμήμα Αιμοδοσίας, Νοσοκομείο «Άγιος Σάββας»
*ισότιμη συμμετοχή

Οι ασθενείς με καρκίνο εμφανίζουν διαταραχές των ουδετερόφιλων και κινδυνεύουν από μολύνσεις. Γνωρίζοντας ότι το πολυπεπτίδιο προθυμοσίνη α (προΤα), και το πρόσφατα προσδιορισμένο, από το εργαστήριό μας, ανοσοδραστικό της πεπτιδίου προΤα(100-109) ενισχύουν τις δράσεις μονοπύρηνων ασθενών με καρκίνο, μελετήσαμε τη επίδρασή τους στις λειτουργίες των ουδετερόφιλων. Ουδετερόφιλα απομονώθηκαν από περιφερικό αίμα ασθενών με καρκίνο του μαστού, επώαστηκαν με προΤα ή προΤα(100-109) και μελετήθηκαν ως προς: (1) την φαγοκυτταρική τους ικανότητα (δοκιμασία φαγοκυττάρωσης σωματιδίων Zymosan), (2) την ενδοκυτταρική παραγωγή Η₂O₂ (δοκιμασία αναγωγής του κυανού του τετραζολίου [NBT]) και (3) την εξωκυτταρική απελευθέρωση Η₂O₂ (δοκιμασία αναγωγής του κυτοχρώματος c). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ενεργοποίηση ουδετερόφιλων με προΤα ή προΤα(100-109) υπερδιπλασιάζει τη φαγοκυτταρική ικανότητά τους, περίπου τετραπλασιάζει την ενδοκυτταρική παραγωγή Η₂O₂ και αυξάνει σημαντικά την εξωκυτταρική απελευθέρωση Η₂O₂. Μάλιστα, οι κατασταλμένες, λόγω της νόσου, λειτουργίες των ουδετερόφιλων επανήλθαν σε επίπεδα αντίστοιχα των ουδετερόφιλων φυσιολογικών dotών. Επιπλέον, δείχθηκε ότι η ανταπόκριση των ουδετερόφιλων στα πεπτίδια σχετίζεται με το βαθμό κακοήθειας (grade) της νόσου. Συμπερασματικά, φαίνεται ότι, τουλάχιστον *in vitro*, τόσο η προΤα όσο και το προΤα(100-109) ενισχύουν τις αντιμικροβιακές ιδιότητες ουδετερόφιλων ασθενών με καρκίνο του μαστού. Τα αποτελέσματα αυτά μπορεί μελλοντικά να αξιοποιηθούν κλινικά, με την ένταξη της προΤα ή/και του προΤα(100-109) σε θεραπευτικά πρωτόκολλα ανοσοθεραπείας του καρκίνου, προκειμένου να συμβάλλουν στην αποκατάσταση της λειτουργικότητας του ανοσοποιητικού συστήματος καρκινοπαθών και στην προστασία τους από λοιμώξεις.

Χρηματοδότηση ΕΛΚΕ, Ερευνητικό Πρόγραμμα «Καποδίστριας» (70/4/6393)

**THE IMMUNOREACTIVE PEPTIDE PROTHYMOSIN α (100-109) ENHANCES
THE ANTIMICROBIAL FUNCTIONS IN BREAST CANCER PATIENTS'
NEUTROPHILS**

**Rizopoulou Z.^{1*}, Samara P.^{1*}, Ioannou K.¹, Yiotis J.², Papadaki E.³, Ardavanis A.²,
Skopeliti M.¹, Tsitsilonis O.¹**

¹Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens,

²1st Department of Pathology-Oncology, and ³ Blood Transfusion Unit «St. Savvas» Cancer
Hospital, Athens

*equal contribution

Cancer patients present neutrophil disorders and as a result they have a high risk of infections. Knowing that the polypeptide prothymosin α (proT α), as well as its recently determined-by our research team- immunoreactive peptide proT α (100-109), enhance the activity of cancer patients' mononuclear cells, we investigated their effect on neutrophil functions. Neutrophils were isolated from breast cancer patients' peripheral blood, were incubated with proT α or proT α (100-109) and were studied for : (1) their phagocytic capacity (by the zymosan particle incorporation assay), (2) their intracellular production of H₂O₂ (by nitroblue tetrazolium [NBT] assay) and (3) their extracellular release of H₂O₂ (by cytochrome c reduction assay). Our results show that neutrophils' activation with proT α or proT α (100-109) at least doubled their phagocytic capacity, quadruplicated intracellular production of H₂O₂ and increased extracellular release of H₂O₂. Moreover, the depressed, due to disease, neutrophils' antimicrobial properties were restored to levels similar to those of normal donors. In addition, we revealed that there is a relation between neutrophils' responsiveness to these factors and patients' cancer grade. In conclusion, we show that, at least *in vitro*, both proT α and proT α (100-109) enhance the antimicrobial properties of cancer patient-derived neutrophils. These findings may be of clinical significance in the future, suggesting the introduction of proT α or/and proT α (100-109) in cancer immunotherapeutic protocols, aiming in restoring cancer patients' immune system deficiencies and their protection from opportunistic infections.

Funding: SARG, Research Grant «Kapodistrias» (70/4/6393)

**ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΕΞΑΠΛΩΣΗ ΚΑΙ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΡΙΩΝ
ΕΙΔΩΝ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *APODEMUS* ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΑΛΒΑΝΙΑ**

**Ροβάτσος Μ.Θ.¹, Μήτσαϊνας Γ.Π.¹, Paspali G.², Oruci S.², Αγγέλου Λ.-Ξ.Δ.¹,
Αρακλιώτη Ε.Γ.¹, Γιαγιά-Αθανασοπούλου Ε.Β.¹**

¹Τομέας Βιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Παν/μιο Πατρών, Πανεπιστημιούπολη 26504
Πάτρα E-mail: giagia@upatras.gr

²Department of Biology and Chemistry, University Eqrem Cabej, Gjirokaster, Albania
E-mail: gligor_paspali@yahoo.gr

Τα είδη *A. flavicollis*, *A. sylvaticus* και *A. epimelas* παρουσιάζουν εκτεταμένη γεωγραφική εξάπλωση στην Ελλάδα και την Αλβανία. Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας συλλέχθηκαν 102 άτομα του γένους *Apodemus* από 23 τοποθεσίες των δύο χωρών. Η ταυτοποίηση των δειγμάτων βασίστηκε στις διαφορές που εντοπίστηκαν στον καρυότυπο και στη ρυθμιστική περιοχή του μιτοχονδρίου (D-loop). Η διάκριση των ειδών *A. flavicollis* και *A. sylvaticus* είναι ιδιαίτερα δύσκολη, καθώς παρουσιάζουν καρυότυπο με 48 ακροκεντρικά χρωμοσώματα ($2n=48$, FN=48) και παρόμοιο πρότυπο G ζώνωσης ενώ η εξωτερική μορφολογία είναι σχεδόν πανομοιότυπη. Ωστόσο, η σύγκριση της ρυθμιστικής περιοχής του μιτοχονδρίου (D-loop) και του προτύπου της C ζώνωσης αποκάλυψαν σημαντικές διαφορές, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως διαγνωστικοί χαρακτήρες για τη διάκριση των δύο ειδών. Αντίθετα, τα άτομα του είδους *A. epimelas* διακρίνονται ευκολότερα, καθώς φέρουν στον καρυότυπό τους ένα μικρό ζευγάρι μετακεντρικών χρωμοσωμάτων ($2n=48$, NF=50). Επίσης, 8 άτομα του είδους *A. flavicollis* παρουσίασαν καρυότυπο με υπεράριθμα Β χρωμοσώματα, ένα εκ των οποίων έφερε παραπάνω του ενός ($2n=49-50$, FN=49-50). Αντιθέτως, δεν βρέθηκαν Β χρωμοσώματα στους καρυότυπους των ατόμων των άλλων δύο ειδών, που μελετήθηκαν.

**GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION AND CHROMOSOMAL STUDY OF
THREE APODEMUS SPECIES IN GREECE AND ALBANIA**

**Rovatsos M.T.¹, Mitsainas G.P.¹, Paspali G.², Oruci S.², Aggelou L.-X.B.¹,
Araklioti E.G.¹, Giagia-Athanasopoulou E.B.¹**

¹Section of Animal Biology, Department of Biology, University of Patras, Patras University Campus
26504 Patras E-mail: giagia@upatras.gr

²Department of Biology and Chemistry, University Eqrem Cabej, Gjirokaster, Albania
E-mail: gligor_paspali@yahoo.gr

During this study, 102 individuals, belonging to the species *A. flavicollis*, *A. sylvaticus* and *A. epimelas* were trapped in 23 locations of Greece (20) and Albania (3). Chromosome studies, using the G- and C-banding techniques on bone marrow metaphase slides and mtDNA analysis were performed, in order to properly classify specimens to the respective species. Our study verified that *A. flavicollis* and *A. sylvaticus* (both characterized by $2n=48$, FN=48) are almost identical in external morphology, and possess a 48 chromosome karyotype with similar G-banding pattern. However, we were able to distinguish them, based on comparison of the mitochondrial control region (D-loop) and the C-banding pattern. In the contrary, *A. epimelas* individuals can be easily identified since their karyotype possess a small metacentric pair. Moreover, 8 out of 46 *A. flavicollis* individuals from 3 localities displayed supernumerary B chromosomes in their karyotype, 1 of which with more than one ($2n=49-50$, FN=49-50). On the other hand, no B chromosomes were found in the specimens belonging to the other two *Apodemus* species.

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΒΙΟΜΕΤΡΙΑ ΤΟΥ ΑΧΙΝΟΥ *PARACENTROTUS LIVIDUS*
LAMARCK ΣΤΟ ΘΕΡΜΑΪΚΟ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΤΟΡΩΝΑΙΟ ΚΟΛΠΟ (ΧΑΛΚΙΔΙΚΗ
ΒΟΡΕΙΟ ΑΙΓΑΙΟ)**

Ρουσσίδης Ν., Σκούφας Γ.

*Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης, Τμήμα Τεχνολογίας Α-
λιείας και Υδατοκαλλιέργειών, Ν. Μιλτιάδη 1, Νέα Μουδανιά 63200, Ελλάδα
E-mail: skoufas@aqua.teiithe.gr*

Ο αχινός *Paracentrotus lividus* αποτελεί ένα εδώδιμο είδος, το οποίο και προστατεύεται σε Ευρωπαϊκό και Διεθνές επίπεδο. Κατά την παρούσα μελέτη συλλέχθηκαν δείγματα με ελεύθερη κατάδυση σε περιοχές του Θερμαϊκού Κόλπου (Ποτίδαια, Λουτρά, Σίβηρη) και του Τορωναίου Κόλπου (Αθύτος, Ακτή Ελιάς). Οι δειγματοληψίες διεξήχθησαν το Φθινόπωρο του 2006 και την Άνοιξη του 2007. Μετρήθηκαν οι παρακάτω παράμετροι: διάμετρος του τεστ, ύψος του τεστ, πάχος του τεστ, μήκος των ακάνθων, ολικό υγρό βάρος, υγρό βάρος γονάδων και υπολογίστηκε ο Γοναδοσωματικός Δείκτης. Όπως προκύπτει από τα αποτελέσματα, τα άτομα του είδους ακολουθούν δύο στρατηγικές. Το φθινόπωρο παρατηρούνται γενικά υψηλότερες τιμές του πάχους του τεστ και του μήκους των ακάνθων, και δίνεται προτεραιότητα στην άμυνα του οργανισμού έναντι των θηρευτών, όπως για παράδειγμα του γύλου (*Coris julis*). Αντίθετα, την άνοιξη δίνεται προτεραιότητα στην αύξηση των γονάδων και στην αναπαραγωγική διαδικασία. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι τιμές των παραμέτρων της διαμέτρου του τεστ και του ολικού υγρού βάρους στο δειγματοληπτικό σταθμό της Αθύτου, όπου οι εαρινές μέσες τιμές είναι μικρότερες συγκριτικά με τις αντίστοιχες φθινοπωρινές. Η επιλεκτική συλλογή ατόμων, μεγάλου σχετικά μεγέθους, για κατανάλωση κατά την εαρινή περίοδο στη συγκεκριμένη περιοχή οδηγεί σε μια πλασματική μείωση των μέσων τιμών των παραμέτρων των αχινών. Η παραπάνω διαπίστωση αποτελεί μία έμμεση απόδειξη της αλιευτικής πίεσης που δέχεται το είδος.

**COMPARATIVE BIOMETRY OF THE SEA URCHIN *PARACENTROTUS*
LIVIDUS LAMARCK IN THERMAIKOS AND IN TORONEOS GULF
(CHALKIDIKI NORTH AEGEAN SEA)**

Roussidis N., Skoufas G.

*Alexander Technological Educational Institute of Thessaloniki, Department of Fisheries and
Aquaculture Technology, N. Miltiadi 1, Nea Moudania 63200, Greece,
E-mail: skoufas@aqua.teithe.gr*

The sea urchin *Paracentrotus lividus* constitutes an edible species, which is being protected both in European and International level. During the current survey, samples were collected from Thermaikos Gulf (Potidea, Loutra, Siviri) and from Toroneos Gulf (Athitos, Elia Beach). Sampling took place during autumn 2006 and spring 2007. The following parameters were measured: test diameter, test height, test thickness, spines length, total wet weight, and gonad wet weight, and moreover the Gonad Index was calculated. According to the results of the current survey, the individuals of the species follow two strategies. During autumn, test thickness and spines length increase and this procedure is an anti-predator strategy, towards organisms like the wrasse *Coris julis*, whereas during spring the reproductive strategy, via the growth of gonads, is of priority. A decrease of mean test diameter and total wet weight values in the sampling site of Athitos was observed during spring, in comparison to autumn. This is an evidence of the intensive human predation and thus of human fishing on echinoids, where a selective collection of big individuals takes place.

ΕΠΟΙΚΙΣΜΟΣ ΑΡΧΑΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΧΩΡΩΝ ΚΑΙ ΜΝΗΜΕΙΩΝ ΑΠΟ ΛΕΙΧΗΝΕΣ

Σαββίδης Θ. και Φρέσκου Ε.

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας Α. Π. Θ., 541 24 Θεσσαλονίκη.

E-mail: sawidis@bio.auth.gr, efreskou@bio.auth.gr

Ολόκληρος ο ελλαδικός χώρος αποτελεί ένα υπαίθριο αρχαιολογικό μουσείο, πλούσιο σε ιστορικά μνημεία διεθνούς ενδιαφέροντος. Παρόλο που τα μνημεία αυτά δεν είχαν καταστραφεί για πολλούς αιώνες, οι πρόσφατες κλιματολογικές αλλαγές, κυρίως η ρύπανση της ατμόσφαιρας, συνέβαλλαν στην αύξηση του βαθμού εποικισμού τους από λειχήνες. Οι ίδιοι οι λειχήνες είναι ανθεκτικοί στην ατμοσφαιρική ρύπανση. Έχουν τη δυνατότητα να προσλαμβάνουν και να αποταμιεύουν στο θαλλό τους μεγάλες ποσότητες ρυπαντών από την ατμόσφαιρα χωρίς να εμφανίζουν σημάδια επιβάρυνσης. Είναι ανθεκτικοί στην απόλυτη ξηρασία για χρονικά διαστήματα ακόμη και ετών. Οι παραπάνω ιδιαιτερότητες των λειχήνων τους καθιστούν τους πλέον δυναμικούς εποικιστές των διαφόρων πετρωμάτων, εν προκειμένω των αρχαιολογικών μνημείων. Οι ζημιές που προκαλούν μπορεί να είναι απλά αισθητικές, πολλές φορές όμως κατάστρέφουν χημικά την επιφάνεια των μνημείων με τις οργανικές ενώσεις που εκκρίνουν. Μια σωστή επιστημονική προσέγγιση, θα μπορούσε αρχικά να καταγράψει τους λειχήνες κάθε περιοχής και να μελετήσει τις ιδιότητες και τις προτιμήσεις των υποστρωμάτων τους. Μετά από μια τέτοια καταγραφή, παρατηρήθηκε πως ως επί το πλείστον, οι φλοιώδεις λειχήνες είναι αυτοί που εποικίζουν υποστρώματα αρχαιολογικών χώρων. Οι λειχήνες γενικά προτιμούν υποστρώματα με υγρασία, με μικρή δεκτικότητα της ηλιακής ακτινοβολίας και φυσικά επιφάνειες πορώδεις, με μακροχρόνια έκθεση στην ατμόσφαιρα. Σε αρκετές περιοχές παρατηρήθηκε έντονη υπεροχή των λειχήνων στις ανήλιες πλευρές των κίωνων και γενικά των μνημείων, σε σχέση με τις προσήλιες πλευρές τους. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι οι ανήλιες πλευρές έχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση υγρασίας και αποτελούν κατάλληλο υπόστρωμα για την ανάπτυξη των λειχήνων. Παρατηρήθηκε επίσης πως τα νέα, ανακατασκευασμένα τμήματα των μνημείων δεν είναι ιδιαίτερα προσφιλή στην ανάπτυξη των λειχήνων, ενώ το παλιό, φυσικό υλικό ήταν πλούσιο από αυτούς. Αυτό οφείλεται στο γεγονός πως τα ανακατασκευασμένα μέρη, εκτός του ότι είναι πολύ πρόσφατα εκτεθειμένα στην ατμόσφαιρα και δεν έχουν προλάβει ουσιαστικά να εποικισθούν από λειχήνες, επιπλέον έχουν πιο λεία υφή και συμπαγή σύσταση, που αποτρέπει την εγκατάσταση και την ανάπτυξη νέων λειχήνων. Επίσης, στα ψηλότερα μέρη των κίωνων, η ανάπτυξη των λειχήνων ήταν αμελητέα και καθώς μειωνόταν το ύψος, η συγκέντρωση αυξανόταν. Η μεγαλύτερη πυκνότητα εποικισμού παρατηρήθηκε στις βάσεις, όπου και συσσωρεύεται η υγρασία του κίονα, προσδίδοντας μοναδικό πλεονέκτημα στους λειχήνες που αναπτύσσονται εκεί. Μερικές φορές οι λειχήνες απομακρύνονται από τα μνημεία ώστε να αποφευχθούν μηχανικές, χημικές ή απλά αισθητικές ζημιές. Όμως, αυτά τα μέτρα δε βασίζονται πάντα σε πληροφορίες που αφορούν την οικολογία των διαφόρων ειδών και την αντιμετώπισή τους πρέπει να συνοδεύει επιστημονική προσέγγιση.

COLONIZATION OF ARCHAEOLOGICAL SITES AND MONUMENTS BY LICHENS

Sawidis Th., and Freskou E.

*Department of Botany, School of Biology, A. U. Th., 541 24 Thessaloniki,
E-mail: sawidis@bio.auth.gr, efreskou@bio.auth.gr*

The whole Greek country is an open air archaeological museum, rich in fine historical monuments of international importance. Although these monuments have been undamaged for many centuries, recent environmental changes have been conducive to increasing detrimental invasion by certain aggressive lichen species. On the other hand, air pollution has a direct influence on stone decay but also an indirect one, by favoring lichen development. This is especially perceptible for nitrophilous lichens, which proliferate on rain exposed marbles. Lichens obscure inscription and fine detail, often causing physical deterioration of stonework. Since damage can be both physical and chemical, it is necessary to determine that the damage is attributable to the action of lichens. Lichens are organisms well adapted to colonizing the bare surface of rocks, giving rise to a biological mosaic of colours and textures. Crustose lichens have particularly intimate associations with their substrate, being attached by a large number of fungal hyphae forming the base of the thallus. Many lichens known to contain calcium oxalate, lichen acids and other organic acids, cause extensive corrosion on a range of rock substrata. The extend of rock biocorrosion, underneath lichen cover and through endolithic organisms, seems to be influenced strongly by the nature of the thallus and its physical and mechanical actions but also by the physical and chemical composition of the rock. These actions undoubtedly lead to mechanical damage to stonework on a short time-scale of ten, or even fewer, years. In the contrary, some lichen species could represent a successful defence against atmospheric and/or polluting agents, especially on little consolidated materials. It has been noticed that lichens prefer colonizing substrates rich in humidity but with low insolation. That's why lichens exist on the shaded, back side of the monuments. When the front, sunny side of the same monuments is almost devoid of lichens. In additional, the new parts of the stonework are also devoid of lichens, because the surface is very smooth and so, not a good substrate for the growth of lichens. Also, the bases of the columns are more colonized than the higher parts. The bases can hold much more humidity, and the conditions become better for the growth of lichens. This study deals with lichen communities colonizing the archaeological sites in Greece and examines the lichen-monument interactions. The aim is to provide substantial information on their origin and the conservation methods to be applied.

**ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΗΛΙΚΙΑ ΣΕΞΟΥΑΛΙΚΗΣ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ ΣΕ ΣΑΥΡΕΣ
ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *PODARCIS* ΣΤΟ ΚΕΝΤΡΙΚΟ ΑΙΓΑΙΟ**

**Σαγώνας Κ.¹, Τερζοπούλου Σ.², Σπαγοπούλου Φ.², Σταλημέρου Μ.²,
Αναστασίου Ι.², Παφίλης Π.^{3,4} και Ε.Δ. Βαλάκος¹**

¹Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθήνας, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσσια, 157-84, Αθήνα

²Τομέας Ζωολογίας και Θαλάσσιας Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθήνας, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσσια, 157-84, Αθήνα

³School of Natural Resources and Environment, Dana Building, 430 East University, University of
Michigan, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA

⁴Modern Greek Program, Department of Classical Studies, 2160 Angell Hall, 435 S. State, University
of Michigan, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA

Οι σαύρες της οικογένειας Lacertidae στη Μεσόγειο παρουσιάζουν ένα εποχιακό αναπαραγωγικό κύκλο του οποίου τα χαρακτηριστικά ποικίλλουν έντονα ανάλογα με το είδος και την περιοχή κατανομής. Το μέγεθος της γέννας, το μέγεθος των αυγών, ο αριθμός των γεννών και ο ρυθμός ανάπτυξης των νεαρών σαυρών διαφοροποιούνται έντονα ανάμεσα στα είδη και στους διαφορετικούς πληθυσμούς ανάλογα με τους περιβαλλοντικούς και οικολογικούς παράγοντες της περιοχής κατανομής. Στις σαύρες του γένους *Podarcis* που εξαπλώνονται στο κεντρικό Αιγαίο έχουν καταγραφεί δύο διαφορετικές αναπαραγωγικές στρατηγικές. Η σαύρα της Μήλου (*Podarcis milensis*) έχει μια παρατεταμένη αναπαραγωγική περίοδο που ξεκινά νωρίς την άνοιξη και μπορεί να υπερβεί τις δύο γέννες, ενώ το μέγεθος της γέννας δεν ξεπερνά τα 3 αυγά. Η αιγαιόσαυρα (*Podarcis erhardii*) αντίθετα παρουσιάζει πιο περιορισμένη αναπαραγωγική περίοδο χωρίς να υπερβαίνει τις 2 γέννες, ενώ το μέγεθος της γέννας συνήθως ξεπερνά τα 3 αυγά. Από τη βιβλιογραφία είναι γνωστό ότι η σαύρα της Μήλου ωριμάζει σεξουαλικά μέσα σε 12 μήνες ενώ η αιγαιόσαυρα σε 18 με 24. Στην παρούσα εργασία αποπειραθήκαμε να προσεγγίσουμε το παράδοξο των δύο διαφορετικών στρατηγικών παρακολουθώντας τον ρυθμό αύξηση των νεογέννητων. Πραγματοποιήθηκε συστηματική καταγραφή των νεογέννητων (μήκος κορμού μέχρι 3 εκατοστά) σε οικοσυστήματα της Μήλου και της Νάξου με μηνιαίες δειγματοληψίες από τον Απρίλιο έως τον Οκτώβριο. Ο ρυθμός ανάπτυξης υπολογίστηκε με την μέθοδο του von Bertalanfy. Πιστεύουμε ότι οι παρατηρούμενες διαφορές οφείλονται μάλλον στη φυλογενετική ιστορία των δύο taxa και λιγότερο σε περιβαλλοντικούς παράγοντες.

**DIFFERENTIATIONS OF THE AGE OF SEXUAL MATURITY IN LIZARDS
BELONGING TO GENUS *PODARCIS* FROM CENTRAL AEGEAN**

**Sagonas, K¹., Terzopoulou S²., Spagopoulou, F²., Stalimerou, M²., Anastasiou, J².,
Pafilis, P^{3,4}. and E. D. Valakos¹**

¹ Section of Human and Animal Physiology, Department of Biology, University of Athens,
Panepistimiopolis, 157-84 Athens, Greece

² Section of Zoology and Marine Biology, Department of Biology, University of Athens,
Panepistimiopolis, 157-84 Athens, Greece

³ School of Natural Resources and Environment, Dana Building, 430 East University, University of
Michigan, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA

⁴ Modern Greek Program, Department of Classical Studies, 2160 Angell Hall, 435 S.
State, University of Michigan, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA

Lizards of the family Lacertidae in Mediterranean region show an annual reproductive cycle the features of which vary significantly depending the species and the range. Reproductive period starts at the end of winter and last till mid-summer, clutches occur late-spring to the end of summer and the eggs hatch from early summer to early fall. Clutch size, egg volume, number of clutches and growth rate of hatchlings diversify considerably among taxa and populations, depending the environmental and ecological factors of the distribution area. Two distinct strategies have been described for the lizards of the genus *Podarcis* in central Aegean: Milos wall lizard (*Podarcis milensis*) has a prolonged reproductive period, starting early-spring, with over two clutches, while clutch size is never higher than 3 eggs and Aegean wall lizard (*Podarcis erhardii*) show a shorter reproductive period with only two clutches whereas clutch size exceed 3 eggs. It is known from literature that Milos wall lizard mature sexually within 12 months. In contrast Aegean wall lizard is able for reproduction only after 18-24 months. These deviations in reproduction could not been attributed to external factors since both species experience the same environmental regime. In this paper we attempted to assess the divergence of the two strategies monitoring the growth rate of hatchlings. All hatchlings (snout to vent length up to 3 cm) were measured in a systematic way with monthly samplings (from April to October) in biotopes of the islands of Milos and Naxos. Growth rate was estimated sensu von Bertalanfy. We believe that the observed differences are rather a result of the phylogenetic history of the taxa and not a response to environmental factors.

ΘΕΜΑΤΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΔΙΕΘΝΩΣ: ΟΛΥΜΠΙΑΔΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ 2007

Σακκά Ε.¹, Κατσώρχης Θ.¹, Ριζοπούλου Σ.²

¹Τομέας Βιολογίας Κυττάρων & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 157 84

²Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 157 84. E-mail: srhizop@biol.uoa.gr

Τα θέματα Βιολογίας στη Διεθνή Ολυμπιάδα Βιολογίας (IBO) και η ανάλυσή τους, παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον, επειδή δίνεται η ευκαιρία να γίνει σύγκριση των γνώσεων Βιολογίας που απαιτούνται (στις μέρες μας) από τους νέους, σε διεθνές επίπεδο και το επίπεδο που βρίσκεται η Ελληνική πραγματικότητα. Η IBO 2007 διεξήχθη στον Καναδά, με συμμετοχή 49 χωρών. Σκοπός του διαγωνισμού είναι: α) να υποκινήσει το ενδιαφέρον για την Βιολογία, β) να προωθήσει την ανταλλαγή απόψεων για την εκπαίδευση περί την Βιολογία και γ) να ευνοήσει φιλικές σχέσεις μεταξύ νέων από διαφορετικές χώρες και πολιτισμούς. Η θεωρητική και η εργαστηριακή εξέταση καλύπτει κατά κανόνα θεματικά πεδία όπως: βιολογία κυττάρου (20%), ζωολογία (20%), βοτανική (20%), ηθολογία (5%), γενετική και εξέλιξη (20%), οικολογία (10%) και συστηματική (5%). Οι ερωτήσεις, στο σύνολό τους σχεδόν, είναι κλειστού τύπου και κατά συνέπεια διασφαλίζεται η αξιοπιστία του διαγωνισμού. Στον διαγωνισμό IBO καλύπτεται όλη η ύλη της βιολογίας. Οι Έλληνες μαθητές που συμμετέχουν, μειονεκτούν σε σχέση με μαθητές από άλλες χώρες, επειδή εξετάζονται σε ύλη που δεν διδάσκονται και έχουν σχεδόν ανύπαρκτη εργαστηριακή εμπειρία. Προτείνεται να επανεξεταστούν τα σχολικά εγχειρίδια, ο τρόπος που διδάσκεται η Βιολογία στα σχολεία μας και η λειτουργία σχολικών εργαστηρίων. Η ύλη της IBO είναι η ύλη που καλύπτει το βιβλίο *Biology* των Campbell & Reece (πολλές εκδόσεις). Περισσότερες πληροφορίες στον δικτυακό τόπο <http://www.ibo-info.org>.

INTERNATIONAL BIOLOGY OLYMPIAD 2007

Sakka E.¹, Katsorchis Th.¹, Rhizopoulou S.²

¹ *Section of Cell Biology and Biophysics, Biology Department, University of Athens,
Panepistimioupoli 15784 Athens*

² *Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimioupolis 15784 Athens.
E-mail: srhizop@biol.uoa.gr*

The International Biology Olympiad (IBO) is an annual event celebrating some of the world's foremost secondary biology students. Each of the approximately 50 participating countries may select up to four of its most talented secondary biology students to compete for prestigious medals. During this week-long event, these gifted youth from both the developing and developed world will engage each other in a variety of social activities, explore the diversity of our province and the heart of the Olympiad, challenge intensive theory and practical biology examinations that will be facilitated by a panel of over 200 international experts. The year 2007 marks the first year of IBO in North America, and competitions for the 18th International Biology Olympiad was held in Saskatoon, Saskatchewan from 15 to 22 of July, 2007 (University of Saskatchewan, the Saskatchewan Institute of Applied Science and Technology). It is likely that the IBO theoretical and practical examination should concentrate on biological concepts applied to the majority of organisms. It should not contain specific facts, exceptions or knowledge about local organisms that require special or local experiences. The majority of questions should test students' understanding, science process skills and application of their biological knowledge that is included in *Biology*, eds. Campbell & Reece (several editions); for more detail see <http://www.ibo-info.org>.

**ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΕΣ ΣΥΝΗΘΕΙΕΣ ΝΕΑΡΩΝ ΑΤΟΜΩΝ 5 ΕΙΔΩΝ ΨΑΡΙΩΝ ΤΗΣ
ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ MUGILIDAE ΑΠΟ ΤΟ ΣΤΡΥΜΟΝΙΚΟ ΚΟΛΠΟ****Σαλβαρίνα Ι.^{1,2}, Κουτράκης Μ.²**¹Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Βιολογίας, Εργαστήριο Ιχθυολογίας,
Θ. 134, 541 24, Θεσσαλονίκη, e-mail: sioanna@bio.auth.gr²ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε., Ινστιτούτο Αλιευτικής Έρευνας, Νέα Πέραμος Καβάλα, 64007,
E-mail: manosk@inale.gr

Στην παρούσα έρευνα έγιναν μηνιαίες δειγματοληψίες (Σεπτέμβριος 1997 – Μάιος 1999) στα δυο εκβολικά συστήματα του Στρυμονικού Κόλπου (Ποταμοί Στρυμόνας και Ρήχιος) με χρήση γρίπυ (μήκους 20 m, άνοιγμα ματιού 2 mm). Εξετάστηκαν συνολικά 823 άτομα με σκοπό τη διερεύνηση της διατροφής τους κατά τα νεαρά στάδια, μετά τη μετανάστευση από τη θάλασσα προς τα εσωτερικά νερά. Συγκεκριμένα εξετάστηκαν άτομα των ειδών *Chelon labrosus* (n=124, 19-121 mm), *Liza aurata* (n=270, 19-72 mm), *L. ramada* (n=117, 16-130 mm), *L. saliens* (n=130, 14-78 mm) και *Mugil cephalus* (n=182, 22-50 mm). Ο συνολικός δείκτης κενότητας ήταν 28% και ήταν μεγαλύτερος για το είδος *M. cephalus* (41%) και μικρότερος για το είδος *L. aurata* (18%). Οι κυριότερες κατηγορίες τροφής που συμμετείχαν στην κατά όγκο σύνθεση της διατροφής των ειδών ήταν: φυτοπλαγκτό (24%), θρύμματα (20%) και μη αναγνωρίσιμα έντομα (15%) για το είδος *C. labrosus*, κωπήποδα (17%), μη αναγνωρίσιμα έντομα (17%), αμφίποδα (13%) και μυσιδώδη (12%) για το *L. aurata*, μη αναγνωρίσιμα έντομα (33%), κωπήποδα (18%) και φυτοπλαγκτό (17%) για το *L. ramada*, φυτοπλαγκτό (22%), αμφίποδα (18%), κωπήποδα (15%) και μη αναγνωρίσιμα αρθρόποδα (14%) για το *L. saliens* και φυτοπλαγκτό (73%) και θρύμματα (14%) για το *M. cephalus*. Οι διατροφικές συνήθειες των ψαριών διερευνήθηκαν και με βάση τη συχνότητα εμφάνισης κάθε κατηγορίας τροφής και βρέθηκε ότι οι κατηγορίες τροφής που είχαν υψηλότερα ποσοστά ήταν αυτές που είχαν και τα υψηλότερα ποσοστά κατά όγκο. Η αλληλεπικάλυψη στις τροφικές συνήθειες μεταξύ των ειδών εξετάστηκε με το δείκτη Schoener σύμφωνα με τον οποίο, τα είδη που παρουσιάζουν μεγαλύτερη (0,68, σε κλίμακα 0-1) αλληλεπικάλυψη είναι τα *C. labrosus* – *L. saliens*, ενώ τη μικρότερη (0,11) τα είδη *L. aurata* – *M. cephalus*.

FEEDING HABITS OF JUVENILES BELONGING TO 5 FISH SPECIES OF FAMILY MUGILIDAE FROM STRYMONIKOS GULF SYSTEMS

Salvarina I.^{1,2}, Koutrakis M.²

¹Lab. Of Ichthyology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, PO Box 134,
541 24, Thessaloniki, E-mail: sioanna@bio.auth.gr

²N.A.G.R.E.F, Fisheries Research Institute, Nea Peramos, Kavala, 64007,
E-mail: manosk@inale.gr

In the present research, monthly samplings (September 1997 – May 1999) were conducted in the 2 estuarine systems of Strymonikos Gulf (River Strymonas and Rihios) with a bag seine net (length 20 m, mesh size 2 mm). A total of 823 fish specimens were examined to investigate their juvenile stage feeding habits after their migration from the sea to freshwater. Specimens from the following species were examined: *Chelon labrosus* (n =124, 19-121 mm), *Liza aurata* (n=270, 19-72 mm), *L. ramada* (n=117, 16-130 mm), *L. saliens* (n=130, 14-78 mm) and *Mugil cephalus* (n=182, 22-50 mm). The total stomach vacuity index was 28%. Species *M. cephalus* had the greatest vacuity index (41%) while species *L. aurata* (18%) had the lowest (18%). Main food categories in volume contribution of individual species diet include: phytoplankton (24%), detritus (20%), and unidentified insects (15%) for species *C. labrosus*, copepods (17%), unidentified insects (17%), amphipods (13%), and mysids (12%) for species *L. aurata*, unidentified insects (33%), copepods (18%), and phytoplankton (17%) for species *L. ramada*, phytoplankton (22%), amphipods (18%), copepods (15%), and unidentified arthropods (14%) for species *L. saliens* and phytoplankton (73%), and detritus (14%) for species *M. cephalus*. Species feeding habits were analyzed versus the frequency of food item occurrence, where it was found that food categories with higher frequencies contributed the most in volume composition. Species diet overlap was examined with Schoener's index, according to which species *C. labrosus* – *L. saliens* exhibited the greatest overlap (0.68, in a climax of 0-1) while species *L. aurata* – *M. cephalus* showed the least overlap (0.1).

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΝΕΟΤΕΡΩΝ ΑΝΤΙΜΥΚΗΤΙΑΣΙΚΩΝ
ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΕ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ**

**Σαμαλίδου Μ.^{1,2}, Σωτηρόπουλος Δ.², Ξαγοράρη Α.², Σιώτου Ε.², Συρίγου Α.²,
Γιάγκου Μ.¹, Αναγνωστόπουλος Α.²**

¹Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ

²Αιματολογική Κλινική & Μονάδα Μεταμόσχευσης Μυελού των Οστών, Γ.Π.Ν.

«Γ.Παπανικολάου»

Οι επιμολύνσεις από μύκητες είναι ένα από τα σοβαρότερα προβλήματα στις καλλιέργειες αιμοποιητικών κυττάρων. Τα αντιβιοτικά πενικιλίνη και στρεπτομυκίνη που χρησιμοποιούνται, δεν εμφανίζουν μυκητοκτόνο δράση. Η μυκητοκτόνος Αμφοτερικίνη είναι τοξική και σπάνια χρησιμοποιείται στις καλλιέργειες αιμοποιητικών κυττάρων, ενώ είναι άγνωστη η δράση της λιποσωμικής Αμφοτερικίνης και των νεότερων αντιμυκητιασικών φαρμάκων. Προσδιορίστηκε η τοξικότητα της λιποσωμικής Αμφοτερικίνης (Ambisome), της Βορικοναζόλης (VFend) και της Κασποφουγκίνης (Cancidas) σε καλλιέργειες αιμοποιητικών κυττάρων μυελού των οστών ποντικών C57bl/6 σε σύγκριση με την Αμφοτερικίνη-B (Fungizone). Τα κύτταρα καλλιεργήθηκαν σε θρεπτικό μέσο που περιείχε μεθυλκυτταρίνη και αυξητικούς παράγοντες (mSCF, mIL-3, mGM-CSF, hIL-6, hEPO) παρουσία ή απουσία διαφορετικών συγκεντρώσεων από τα αντιμυκητιασικά φάρμακα Ambisome (6-6000 ng/ml), VFend (4-500 ng/ml), Cancidas (0,4-50 ng/ml) και Fungizone (60-6000 ng/ml), ενώ υπήρχε καλλιέργεια-μάρτυρας στην οποία δεν προστέθηκαν φάρμακα. Μετά από 7 ημέρες καλλιέργειας μετρήθηκαν οι αποικίες CFU-GM και αναλύθηκε ο αριθμός τους. Η Αμφοτερικίνη-B, λόγω τοξικότητας, προκάλεσε μείωση του αριθμού των αποικιών κατά δόσοεξαρτώμενο τρόπο σε σύγκριση με τον μάρτυρα. Αντίθετα, η λιποσωμική Αμφοτερικίνη, η Βορικοναζόλη και η Κασποφουγκίνη δεν ήταν τοξικές, αλλά προκάλεσαν αύξηση του αριθμού των αποικιών. Συμπεραίνεται, ότι η λιποσωμική Αμφοτερικίνη καθώς και τα νεότερα αντιμυκητιασικά φάρμακα δεν είναι τοξικά στις καλλιέργειες αιμοποιητικών κυττάρων και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αντιμετώπιση των μολύνσεων από μύκητες. Απαιτείται πειραματισμός, για να εξηγηθεί η θετική τους δράση στον πολλαπλασιασμό των προγονικών αιμοποιητικών κυττάρων καθώς και η πιθανή κλινική επίπτωση.

EFFECT OF NEWER ANTI-FUNGAL DRUGS IN HEMATOPOIETIC CELL CULTURES

Samalidou M.^{1,2}, Sotiropoulos D.², Xagorari A.², Siotou E.², Syrigou A.², Yiangou M.¹, Anagnostopoulos A.²

¹*Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 541 24 Thessaloniki, Greece*

²*Department of Hematology - Bone Marrow Transplantation Unit, "G. Papanicolaou" Hospital, Exokhi 570 10 Thessaloniki, Greece*

Fungal infections are one of the most serious problems in hematopoietic cell cultures. The antibiotics penicillin and streptomycin that are used do not show fungicidal effect. Amphotericin is rarely used in cell cultures, because of its toxic effect. Liposomal Amphotericin and the newer anti-fungal drugs have not been studied with regard to their fungicidal effect in hematopoietic cell cultures. The aim of this study was to test liposomal Amphotericin (Ambisome), Voriconazole (VFend) and Caspofungin (Cancidas) in mouse bone marrow hematopoietic cell cultures compared to Amphotericin-B (Fungizone). Bone marrow cells of C57bl/6 mice were cultured in semisolid medium with growth factors (mSCF, mIL-3, mGM-CSF, hIL-6, hEPO). The cells were exposed to different concentrations of the anti-fungal drugs Ambisome (6-6000 ng/ml), VFend (4-500 ng/ml), Cancidas (0,4-50 ng/ml) and Fungizone (60-6000 ng/ml) and there was also a control-culture without drugs. CFU-GM colonies were scored after 7 days of culture and their number was analyzed. Amphotericin-B showed a dose-dependent toxic effect leading to the reduction of the number of colonies compared to the control-culture. On the contrary, liposomal Amphotericin, Voriconazole and Caspofungin did not show toxicity, but they increased the number of colonies compared to the respective control-cultures. In this study we concluded, that the use of liposomal Amphotericin and the newer anti-fungal drugs in hematopoietic cell cultures does not cause toxicity and, accordingly, these drugs may be used for the confrontation of fungal infections. More experiments are needed, in order to explain their positive effect on the proliferation of hematopoietic progenitors and the potential clinical consequence.

ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΤΟΥ ΧΕΡΣΑΙΟΥ ΓΑΣΤΕΡΟΠΟΔΟΥ
Helix aspersa

Σαχαρίδου Μ., Στάικου Α.

Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Πανεπιστημιούπολη 54124 Θεσσαλονίκη, E-mail: msachari@bio.auth.gr; astaikou@bio.auth.gr

Το *Helix aspersa* είναι ένα χερσαίο, ταυτόχρονα ερμαφρόδιτο γαστερόποδο που εμφανίζει πολύπλοκη και μεγάλης διάρκειας συμπεριφορά ερωτοτροπίας και ζευγαρώματος. Η εξέλιξη της πολύπλοκης αυτής συμπεριφοράς θεωρείται ότι οφείλεται στη δράση της φυλοεπιλογής. Στην παρούσα μελέτη επιχειρήθηκε η παρουσίαση μιας αναλυτικής περιγραφής της αναπαραγωγικής συμπεριφοράς του *Helix aspersa* και της πληθυσμιακής της διακύμανσης. Για τον σκοπό αυτό, συλλέχθηκαν σαλιγκάρια από επτά πληθυσμούς από διαφορετικές περιοχές της Κρήτης και μεταφέρθηκαν σε εργαστηριακές εγκαταστάσεις για την παρατήρησή τους. Έγιναν συνεχείς λεπτομερείς καταγραφές για την ερωτοτροπία συνολικά 47 ζευγαριών σαλιγκαριών, κάτω από συνθήκες που προσομοίαζαν αυτές του φυσικού τους περιβάλλοντος στην διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου. Από τις παρατηρήσεις που έγιναν φάνηκε ότι τα σαλιγκάρια του είδους αυτού εμφανίζουν συγκεκριμένους τύπους συμπεριφορών και ακολουθούν μία λίγο-πολύ τυπική διαδοχή των συμπεριφορών αυτών. Παρατηρήθηκε μεγάλη διακύμανση στη διάρκεια και τη διαδοχή των επιμέρους συμπεριφορών ανάμεσα στα ζευγάρια του ίδιου πληθυσμού αλλά και μεταξύ των πληθυσμών. Επιπλέον, μελετήθηκε η συμπεριφορά εκτόξευσης βέλους (dart), για την οποία έχει υποτεθεί ότι καθορίζει την διαδοχή των συμπεριφορών στην ερωτοτροπία. Η επιτυχής εκτόξευση βέλους δεν φάνηκε να είναι απαραίτητη για την επίτευξη ζευγαρώματος καθώς ανάμεσα σε πολλά από τα ζευγάρια που ζευγάρωσαν δεν εκτοξεύτηκαν βέλη, ενώ σε άλλες περιπτώσεις που εκτοξεύτηκαν με επιτυχία βέλη δεν υπήρξε ζευγάρι των ατόμων, αλλά τερματισμός της ερωτοτροπίας.

MATING BEHAVIOR OF THE TERRESTRIAL GASTROPOD *Helix aspersa*

Sacharidou M., Staikou A.

Section of Zoology, Department of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Campus 54124 Thessaloniki, E-mail: msachari@bio.auth.gr; astaikou@bio.auth.gr

Helix aspersa is a simultaneously hermaphroditic terrestrial gastropod characterized by a long complicated courtship behavior. The evolution of that bizarre, mating behavior is likely to be under the influence of sexual selection. The present study attempted to perform a detailed description of the mating behavior of *Helix aspersa* and its variation among populations. Snails from seven populations from different areas of Crete were collected and transferred to the laboratory. Detailed records were taken on courtship behavior of 47 pairs of snails, under light and temperature conditions simulating those prevailing in their habitat during reproductive period.

Our results indicated that snails of this species show determinate types of courtship behavior and that during courtship they exhibit a more or less typical sequence of those behaviors. Additionally a great variation on duration and sequence of courtship behaviors was observed not only among the various pairs of the same population but among the different populations as well.

Moreover, dart-shooting behavior, which has been hypothesized to define the courtship sequence, was studied. According to our observations successful dart shooting does not seem to be a prerequisite for copulation. In many pairs that copulated no darts were shot, whereas in other cases where darts had been shot successfully the snails did not copulate and ceased courtship.

**Η Ν-ΓΛΥΚΟΖΥΛΙΩΣΗ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ BRI2 ΣΤΗΝ ΑΡΓΙΝΙΝΗ 170 ΡΥΘΜΙΖΕΙ
ΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ****Σεργιδάκη Δ., Τσαχάκη Μ., Ευθυμιόπουλος Σ.***Τομέας ΦΖΑ, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 157 84, Πανεπιστιμιούπολη, Ιλίσια*

Η BRI2 είναι μια τύπου II διαμεμβρανική πρωτεΐνη, διαφορετικές μεταλλαγές της οποίας συνδέονται με την οικογενή άνοια βρετανικού (FBD) και οικογενή άνοια δανέζικου τύπου (FDD). Οι άνοιες αυτές παρουσιάζουν παρόμοια νευροπαθολογία με τη νόσο του Alzheimer. Πρωτεόλυση των μεταλλαγμένων μορφών από την φουρίνη έχει σαν αποτέλεσμα την δημιουργία αμυλοειδικών πεπτιδίων τα οποία συσσωρεύονται στους εγκέφαλους των ασθενών. Η λειτουργία της BRI2 παραμένει άγνωστη. Παρόλα αυτά, η μελέτη των ιδιοτήτων της BRI2 θα συμβάλλει στη κατανόηση των παθολογικών μηχανισμών που οδηγούν στο νευροεκφυλισμό. Ανάλυση της αμινοξικής αλληλουχίας της BRI2 αποκάλυψε μια πιθανή θέση N-γλυκοζυλίωσης στην αργινίνη 170 (N170). Η γλυκοζυλίωση είναι γνωστό ότι εμπλέκεται εκτός άλλων στη σωστή αναδίπλωση, σταθεροποίηση, ενδοκυτταρική μεταφορά και στόχευση, βιολογικό ρόλο, και πρωτεολυτική επεξεργασία της πρωτεΐνης. Για να κατανοήσουμε καλύτερα τις ιδιότητες της BRI2, μελετήσαμε τη γλυκοζυλίωσή της και το ρόλο που πιθανώς αυτή έχει στην ενδοκυτταρική κυκλοφορία της πρωτεΐνης. Αρχικά με τη χρήση tunicamycin, ενός αναστολέα της γλυκοζυλίωσης, επιβεβαιώσαμε την υπόθεση ότι η BRI2 γλυκοζυλιώνεται. Μεταλλαγή της αργινίνης 170 σε αλανίνη επαλήθευσε το προηγούμενο αποτέλεσμα και υπέδειξε ότι αυτή είναι η μοναδική θέση γλυκοζυλίωσης της πρωτεΐνης. Στη συνέχεια, μελετήσαμε την επίδραση της γλυκοζυλίωσης στην έκφραση της BRI2 στην κυτταρική επιφάνεια. Πραγματοποιήσαμε πειράματα βιοτινυλίωσης για σήμανση των πρωτεϊνών της κυτταρικής επιφάνειας σε κύτταρα που εξέφραζαν τη φυσικού τύπου ή τη μεταλλαγμένη BRI2. Παρατηρήσαμε ότι η μεταλλαγμένη BRI2 φτάνει στην κυτταρική επιφάνεια σε μικρότερο ποσοστό. Για να μελετήσουμε το ρυθμό εμφάνισης και απομάκρυνσης τους από την κυτταρική επιφάνεια, πραγματοποιήσαμε πειράματα παλμού-ώσης και βιοτινυλίωσης σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα. Παρατηρήσαμε ότι η μεταλλαγμένη BRI2 παρουσιάζει μειωμένη έκφραση στην κυτταρική επιφάνεια, και ότι απομακρύνεται από αυτή πιο γρήγορα σε σχέση με τη φυσικού τύπου πρωτεΐνη. Τα αποτελέσματά μας προτείνουν ότι η πρωτεΐνη BRI2 γλυκοζυλιώνεται στην αργινίνη 170 της αμινοξικής της αλληλουχίας και ότι η γλυκοζυλίωση εμπλέκεται στην έκφραση της στην κυτταρική επιφάνεια. Περαιτέρω μελέτες θα δείξουν αν η γλυκοζυλίωση είναι σημαντική για άλλες φυσιολογικές ιδιότητες και λειτουργίες της BRI2.

Αυτή η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από το Εμπειρικό Ιδρυμα.

Η Μαρία Τσαχάκη είναι υπότροφος του Ιδρύματος Κρατικών Υποτροφιών.

GLYCOSYLATION OF BRI2 AT ARGININE 170 REGULATES ITS CELL SURFACE EXPRESSION

Serlidaki D., Tsachaki M., Efthimiopoulos S.

*Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens, 157 84
Panepistimiopolis, Ilisia*

BRI2 is a type II transmembrane protein. Different mutations of this protein are associated with Familial British Dementia (FBD) and Familial Danish Dementia (FDD). Those two dementias show remarkable neuropathological similarities with Alzheimer's Disease. Processing of the mutant proteins by furin results in the production of peptides that are amyloidogenic and accumulate in the brains of patients. The function of BRI2 is so far unknown. However, the study of BRI2 properties is important for the elucidation of the pathological mechanisms that lead to neurodegeneration. Protein sequence analysis of BRI2 revealed a possible N-glycosylation site on arginine 170 (N170) in its extracellular domain. It is known that N-glycosylation is important among others for proper protein folding, stability, targeting, trafficking, processing and biological activity. In order to better understand the biological properties of BRI2, we decided to study its glycosylation and its possible role in BRI2 trafficking. At first, using tunicamycin, a glycosylation inhibitor, we showed that BRI2 is glycosylated. Following that, mutation of arginine 170 to alanine verified the previous result and showed that N170 is the only glycosylation site. We used this mutant protein to examine the possible effect of glycosylation on cell surface expression of BRI2. We performed biotinylation experiments to label cell surface proteins in cells expressing the wild type or the mutant protein. We observed that mutant BRI2 proteins reach the cell surface at lower amount. To examine the rate of their appearance and removal from the cell surface, we carried out pulse-chase experiments followed by biotinylation at different time points. We noticed that the mutant BRI2 appears at lower amounts at the cell surface and that it is more rapidly removed relatively to the wild type protein. Our data suggests that BRI2 is glycosylated on arginine 170 and that glycosylation is important for the cell surface expression of the protein. Further studies will reveal whether glycosylation is involved in other aspects of BRI2 properties and/or function.

*This research was funded by a grant from Embeirikeion Foundation.
Maria Tsachaki has a scholarship from the State Scholarships Foundation.*

**ΣΧΕΣΕΙΣ ΜΕΤΑΞΥ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ ΨΑΡΙΩΝ ΚΑΙ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ
ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ****Σιδεράς Γ., Δρετάκη-Στάμου Γ., Ευστρατίου Μ.Α.***Τμήμα Επιστημών της Θάλασσας, Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Λόφος Πανεπιστημίου,
Μυτιλήνη 811 00. E-mail: efstratiou@aegean.gr*

Η αλλοίωση των ψαριών ξεκινά από τη στιγμή της αλίευσης και το θάνατό τους και με την πάροδο του χρόνου επιβαρύνει την ποιότητά τους. Οι αρνητικές αλλαγές στα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά οφείλονται στην ανάπτυξη μικροοργανισμών, και συνοδεύονται από χημικές αλλοιώσεις. Στην παρούσα έρευνα μελετήθηκε η σχέση της συγκέντρωσης βακτηρίων που έχουν ενοχοποιηθεί για αλλοιώσεις σε ψάρια με το βαθμό αλλοίωσης, με τη χρήση καινοτόμων μεθόδων. Εξετάστηκαν τρία ψάρια που αποτελούν αντικείμενο της αλιευτικής προσπάθειας και σε απομονωμένα και δυσπρόσιτα νησιά της χώρας μας: κουτσομούρα (*Mullus barbatus*), μπακαλιάρος (*Merluccius merluccius*) και σαρδέλα (*Sardina pilchardus*). Οι αλλοιωγόνι μικροοργανισμοί που ελέγχθηκαν ήταν: *Pseudomonas* spp., *Shewanella putrefaciens*, Βακτήρια Γαλακτικού οξέος (Lactic Acid Bacteria), *Brochothrix thermosphacta* και εντεροβακτηριοειδή. Οι οργανοληπτικές αλλαγές στα ψάρια χαρακτηρίστηκαν με βάση την κλίμακα που έχει προταθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση. Τα βακτήρια του Γαλακτικού Οξέος, η *Pseudomonas* spp. και σε λιγότερο βαθμό το *Shewanella putrefaciens* παρατηρήθηκε να είναι τα κυρίως αλλοιωγόνα βακτήρια, τα οποία κυριαρχούν προς το τέλος της "διάρκειας ζωής" των αλιευμάτων. Η διάρκεια ζωής κυμάνθηκε από 11 έως 13 ημέρες. Όταν τα επίπεδα των *Pseudomonas* spp. ή/και των βακτηρίων του Γαλακτικού Οξέος έφταναν σε συγκεντρώσεις της τάξεως του 10⁸ CFU/gr τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των ψαριών χαρακτηρίζονται ως ακατάλληλα προς βρώση, σύμφωνα με την Οδηγία του Συμβουλίου της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Τα ιχθυηρά που είχαν διατηρηθεί σε πάγο έφθασαν στο όριο αυτό την 10^η ημέρα στην περίπτωση της κουτσομούρας και την 11^η μέρα στην περίπτωση της σαρδέλας και του μπακαλιάρου.

RELATIONSHIP BETWEEN FISH SPOILAGE AND MICROORGANISM CONCENTRATION

Sideras G., Dretaki-Stamou G., Efstratiou M.A.

Department of Marine Sciences, University of the Aegean, University Hill, Mytilene 811 00.

E-mail: efstratiou@aegea.gr

Fish spoilage begins the moment of fish capture and it severely affects quality. The negative sensory changes are due to microorganism growth, and are accompanied by chemical spoilage. Object of the present research project was the study of the relationship between concentrations of bacteria that are considered major spoilage factors and the sensory changes in fish, using innovative methods. Three types of fish were tested, all of which are commonly fished by fishermen of isolated and remote islands: red mullet (*Mullus barbatus*), cod (*Merluccius merluccius*), and sardine (*Sardina pilchardus*). The spoilage bacteria examined were *Pseudomonas* spp., *Shewanella putrefaciens*, Lactic Acid bacteria, *Brochothrix thermosphacta* and enterobacteriaceae. The sensory changes in fish were checked against the criteria proposed by the European Union. Lactic Acid bacteria, *Pseudomonas* spp. and to a smaller extent *Shewanella putrefaciens* were the dominant Specific Spoilage Bacteria by the end of the "shelf life" of the fish. The shelf life ranged from 11 to 13 days. The sensory characteristics of the fish examined were considered unfit for human consumption, according to the description of the European Union directive, when the levels of either *Pseudomonas* spp. or Lactic Acid bacteria were approximately 10⁸ CFU/gr. Such level was reached by the 10th day in the case of red mullet and by the 11th day in the case of sardines and cod.

ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ ΤΗΣ ΟΥΡΑΣ ΣΕ ΣΑΥΡΕΣ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *PODACRCIS* ΚΑΙ ΡΟΛΟΣ ΘΗΡΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΕΝΔΙΑΙΤΗΜΑΤΟΣ

Σίμου Χ.¹, Σταθοπούλου Κ.¹, Γουργού Ε.¹, Παφίλης Π.^{2,3}, Γαϊτανάκη Α.¹, και Ε.Δ. Βαλάκος¹

¹ Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθήνας, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσσια, 157-84, Αθήνα

² School of Natural Resources and Environment, Dana Building, 430 East University, University of Michigan, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA

³ Modern Greek Program, Department of Classical Studies, 2160 Angell Hall, 435 S. State, University of Michigan, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA

Η αυτοτομία της ουράς είναι ένας από τους πιο αποτελεσματικούς αντιθηρευτικούς μηχανισμούς στις σαύρες. Η έντονη μυϊκή κίνηση μετά την αυτοτομία, μετατοπίζει την προσοχή του θηρευτή από το ζώο στην ουρά. Στην εργασία αυτή μελετάμε διάφορες παραμέτρους που σχετίζονται με το φαινόμενο αυτοτομίας της ουράς όπως το ποσοστό αυτοτομίας, το χρόνο κίνησης, το ρυθμό αναγέννησης, την περιεκτικότητα σε ολικές πρωτεΐνες και τη περιεκτικότητα σε ακτίνη καθώς και τις τυχόν διαφοροποιήσεις μεταξύ άθικτων και αναγεννημένων ουρών. Τα είδη που μελετήθηκαν είναι: *P.peloponnesiacus*, *P.taurica*, *P.gaigeae*, *P.milensis*, και *P.erhardii*. Τα παραπάνω είδη βρίσκονται κάτω από διαφορετική θηρευτική πίεση και επιλέγουν διαφορετικά ενδιαίτηματα. Το ποσό των ολικών πρωτεϊνών προσδιορίστηκε με τη μέθοδο της διουρίας. Στη συνέχεια οι πρωτεΐνες διαχωρίστηκαν με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα SDS-πολυακρυλαμίδης (SDS-PAGE) και αφού μεταφέρθηκαν σε μεμβράνη νιτροκυτταρίνης, εντοπίστηκε η ακτίνη με ανοσοσύτωση κατά Western. Ακολούθησε πυκνομέτρηση των ζωνών με κατάλληλο λογισμικό. Τέλος στις περιοχές δειγματοληψίας έγινε συστηματική καταγραφή των θηρευτών. Ο χρόνος κίνησης ήταν ίδιος για όλα είδη και στις κανονικές και στις αναγεννημένες ουρές. Τα ηπειρωτικά είδη παρουσιάζουν μεγαλύτερο ποσοστό αυτοτομίας και μεγαλύτερο ρυθμό αναγέννησης σε σχέση με τα νησιωτικά. Στις πρωτεΐνες η *P.erhardii* φαίνεται να διαφοροποιείται από τα υπόλοιπα είδη. Τέλος, η πολυπαραγοντική ανάλυση δείχνει ότι το ενδιαίτημα και η θήρευση παίζουν σημαντικό ρόλο στην αναγέννηση της ουράς, με το πλέον εδαφόβιο είδος την *P.taurica* να παρουσιάζει τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ακτίνη.

Το πρόγραμμα χρηματοδοτείται από το ΠΕΝΕΔ 03(03ΕΔ112)

TAIL REGENERATION IN LIZARDS PODARCIS AND PREDATION AND HABITAT EFFECT

**Simou C.¹, Stathopoulou K.¹, Gourgou E.¹, Pafilis P.^{2,3}, Gaitanaki C.¹,
and E. Valakos¹**

¹*Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, 157-84 Athens, Greece*

²*School of Natural Resources and Environment, Dana Building, 430 East University, University of Michigan, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA*

³*Modern Greek Program, Department of Classical Studies, 2160 Angell Hall, 435 S. State, University of Michigan, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA*

Tail autotomy is one of the most effective anti-predatory mechanisms in lizards. After autotomy, the vigorous muscle movement relocates predator's attention from the lizard to the tail. In this study we investigated the autotomy capacity, the time of tail movement, the regeneration rate, the protein and actin concentrations, among *P.peloponnesiacus*, *P.taurica*, *P.gaigeae*, *P.milensis*, and *P.erhardii* species, and among original and regenerated tails. The above species live under different predation pressure and they choose different habitats. Total protein was quantified using biuric method. Consequently, proteins were separated by SDS-PAGE and transferred electrophoretically onto nitrocellulose membrane. Then actin was detected by Western immunoblotting and blots were quantified using laser scanning densitometry. Finally, for every collection biotope we recorded all the possible predators. Time of tail movement was the same among all species for both original and regenerated tails. The mainland species seem to have greater autotomy capacity than the insular ones. Moreover, *P.erhardii* seems to differ among all the other species regarding the protein concentration. Finally, the multi-factorial analysis shows that habitat and predation affect significantly tail regeneration and that the most ground- dweller .species (*P.taurica*) has the greatest actin concentration.

The project is co-funded by PENED03 (03ED112)

ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ p53 ΚΑΙ ΤΩΝ ΛΙΓΑΣΩΝ ΤΗΣ ΣΤΗΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΓΗΡΑΝΣΗ

Σισούλα Χ. και Ε.Σ. Γκόνος

*Εργαστήριο Μοριακής και Κυτταρικής Γήρανσης, Ινστιτούτο Βιολογικών Εφαρμογών και
Βιοτεχνολογίας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, Λεωφ. Βασ. Κων/νου 48, 11635 Αθήνα.
E-mail: csisoula@eie.gr*

Η κυτταρική γήρανση είναι το φαινόμενο της μη αναστρέψιμης παύσης του πολλαπλασιασμού, που παρατηρείται στα σωματικά κύτταρα μετά από έναν περιορισμένο αριθμό κυτταρικών διαιρέσεων. Η πιο γνωστή μορφή ανθρώπινης κυτταρικής γήρανσης αποδίδεται στη μείωση του μήκους των τελομερών και σε απόκριση σε βλάβη του DNA μέσω των πρωτεϊνών p53 και p21. Στα φυσιολογικά ανθρώπινα κύτταρα, η πρωτεΐνη p53 βρίσκεται σε χαμηλά επίπεδα λόγω της ραγδαίας ανακύκλωσής της μέσω της δράσης του πρωτεϊνικού συστήματος ουμπικιτίνης και της δράσης των λιγασών ουμπικιτίνης Mdm2, COP1, Pirh2, TOPORS και CHIP. Ο σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να διερευνήσουμε εάν η p53 σημαίνεται για ουμπικιτυλίωση στα γηρασμένα κύτταρα από ειδικές λιγάσες. Χρησιμοποιήσαμε την κυτταρική σειρά των ανθρώπινων εμβρυϊκών ινοβλαστών του πνεύμονα, HFL-1. Παρατηρήσαμε μειωμένα πρωτεϊνικά επίπεδα της p53, τα οποία συνοδεύονταν από μειωμένα πρωτεϊνικά επίπεδα της λιγάσης Mdm2 και μία μικρή μείωση των επιπέδων RNA και πρωτεΐνης της λιγάσης COP1 στα γηρασμένα κύτταρα. Αντίθετα, τα πρωτεϊνικά επίπεδα της Pirh2 και της Topors δε μεταβάλλονταν, αλλά υπήρχε μία μικρή αύξηση στα επίπεδα έκφρασης του RNA και της πρωτεΐνης της λιγάσης CHIP. Στη γήρανση που επάγεται από μερική αναστολή του πρωτεοσώματος, οι λιγάσες της πρωτεΐνης p53 ακολουθούσαν παρόμοια επίπεδα έκφρασης, όπως και στη φυσιολογική κυτταρική γήρανση. Έπειτα, στρέψαμε το ενδιαφέρον μας στη μελέτη της επίδρασης που θα προκαλούσε η αναστολή της αλληλεπίδρασης μεταξύ της p53 και της Mdm2 στο πρότυπο έκφρασης των άλλων λιγασών. Για το λόγο αυτό, χορηγήσαμε σε νεαρά και γηρασμένα κύτταρα τον ειδικό αναστολέα της παραπάνω αλληλεπίδρασης, Nutlin-3, με αποτέλεσμα τη σταθεροποίηση της πρωτεΐνης p53 η οποία οδήγησε στην επαγωγή της έκφρασης των μεταγραφικών στόχων της p53, Mdm2 και p21. Μετά την απομάκρυνση του αναστολέα, η p53 ελαττώθηκε ραγδαία, ενώ δεν παρατηρήθηκε σημαντική αλλαγή στα επίπεδα έκφρασης των ενζύμων COP1, Pirh2, CHIP και TOPORS, προτείνοντας ότι η λιγάση Mdm2 είναι το ουσιώδες μόριο στη ρύθμιση της p53. Συμπερασματικά, έχουμε παρατηρήσει μία διαφορετική επίδραση των λιγασών ουμπικιτίνης στη ρύθμιση της p53, γεγονός που απαιτεί τη μελέτη των άμεσων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μορίων, τα οποία και βρίσκονται υπό διερεύνηση.

REGULATION OF P53 AND ITS UBIQUITIN LIGASES IN HUMAN CELLULAR SENESENCE

Sisoula C., and E.S. Gonos

*Laboratory of Molecular & Cellular Ageing, Institute of Biological Research & Biotechnology,
National Hellenic Research Foundation, 48 Vas Constantinou Ave., 11635 Athens.
E-mail: csisoula@iee.gr*

Cellular senescence is the irreversible proliferative arrest seen in somatic cells after a limited number of divisions. The best-known form of human cell senescence is attributed to telomere shortening and a DNA-damage response through p53 and p21. In normal cells, p53 is present at low concentration due to its rapid turnover via the ubiquitin-proteasome system and the role of the ubiquitin ligases Mdm2, COP1, Pirh2, TOPORS and CHIP. The aim of our project was to determine whether p53 is labeled for ubiquitylation in senescent cells by specific ligases. We used HFL-1 fibroblasts and observed reduced protein levels of p53, which was accompanied by a decrease in protein levels of Mdm2 and a slight decrease in the RNA and protein levels of COP1 in senescent cells. In contrast, protein levels of Pirh2 and TOPORS were not altered, but there was a slight increase in RNA and protein levels of CHIP. In senescence caused by partial inhibition of the proteasome, p53 ligases followed similar expression patterns as in natural replicative senescence. Since Nutlin-3 has been established as a specific inhibitor of the p53-Mdm2 interaction, we were then interested in identifying the effect of this inhibition on the other ligases of p53. Pre-treatment of young and senescent cells with Nutlin-3 stabilized p53 leading to induction of its transcriptional targets, Mdm2 and p21. After removing the inhibitor, p53 was rapidly decreased, while no significant change was observed for COP1, Pirh2, CHIP and TOPORS, suggesting that Mdm2 is a central key molecule to the regulation of p53. In conclusion, a differential effect of ubiquitin ligases on p53 regulation has been observed, and more direct interactions are currently under investigation.

**ΔΙΑΧΡΟΝΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΤΕΡΗΔΟΝΑΣ ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥΣ
ΣΚΕΛΕΤΙΚΟΥΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΡΧΑΙΑ ΚΟΡΙΝΘΟ**

Σκιαδά Β., Βάννα Β.,¹ Μανώλης Σ.Κ.

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη 157 84 Αθήνα, E-mail: smanol@biol.uoa.gr*

*¹Institute of Archaeology, UCL, 31-34 Gordon Square, WC1H 0PY, London, UK
E-mail: v.vanna@ucl.ac.uk*

Η παρούσα μελέτη στοχεύει στη διερεύνηση των διαχρονικών τάσεων και αλλαγών στην επικράτηση και κατανομή της τερηδόνας στην αρχαία Κόρινθο. Τα ανθρώπινα οδοντικά υπολείμματα που μελετήθηκαν προέρχονται από επτά διαφορετικές τοποθεσίες, και η χρονολόγησή τους κυμαίνεται από την Ύστερη Εποχή του Χαλκού ως τη Ρωμαϊκή Περίοδο (περίπου 1150 π.Χ. ως 330 μ.Χ.). Συνολικά, παρατηρήθηκαν 1855 δόντια και 883 οδοντικές θέσεις, ενώ η τερηδόνα, μασητική αποτριβή, προ-θανάτια και μετα-θανάτια οδοντική απώλεια καταγράφηκαν ακολουθώντας το σύστημα καταγραφής οδοντικής παθολογίας του Hillson (2000). Οι συχνότητες των αλλοιώσεων που έχουν προκληθεί από τερηδόνα υπολογίστηκαν χωρίζοντας τις παθολογικές οδοντικές επιφάνειες μέσω των παρουσών οδοντικών επιφανειών στα σκελετικά δείγματα. Η στατιστική σημαντικότητα ελέγχθηκε χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα στατιστικής επεξεργασίας SPSS 12.0. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως τα πληθυσμιακά δείγματα της Ύστερης Εποχής του Χαλκού ήταν αξιοσημείωτα λιγότερο συχνά και λιγότερο σοβαρά προσβεβλημένα από τέτοιου είδους αλλοιώσεις, σε σχέση με τις Γεωμετρικές, Αρχαϊκές και Κλασικές συλλογές, ενώ το Ρωμαϊκό πληθυσμιακό δείγμα επέδειξε τα χαμηλότερα επίπεδα ως προς την ασθένεια. Αυτές οι διαχρονικές τάσεις πιθανόν υποδεικνύουν διαφορές ως προς τη δίαιτα και τη διατροφή, την πρόσβαση σε πηγές τροφής, τις διατροφικές συνήθειες, τις πρακτικές διατήρησης της στοματικής υγιεινής μεταξύ των πληθυσμών.

A TEMPORAL STUDY OF DENTAL CARIES IN HUMAN SKELETAL POPULATIONS FROM ANCIENT CORINTH

Skiada V., Vanna V.¹, Manolis S.K.

*Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, School of Sciences,
University of Athens, Panepistimiopolis 157 84 Athens, Greece. E-mail: smanol@biol.uoa.gr*

*²Institute of Archaeology, UCL, 31-34 Gordon Square, WC1H 0PY, London, UK
E-mail: v.vanna@ucl.ac.uk*

The present study aims at exploring the temporal trends and changes in the prevalence and distribution of dental caries in ancient Corinth. The human dental remains under study come from seven different sites and their chronology ranges from the Late Bronze Age to the Roman times (approximately 1150 BC to AD 330). In total, 1855 teeth and 883 tooth positions were observed and caries, occlusal attrition, ante-mortem and post-mortem tooth loss were recorded following Hillson's (2000) dental pathology recording system. The frequencies of carious lesions were calculated by dividing the pathological tooth surfaces by the tooth surfaces present in the skeletal samples. Statistical significance was tested using the SPSS 12.0 statistical package. The results showed that the Late Bronze Age population samples were considerably less frequently, as well as less severely, affected by carious lesions than the Geometric, Archaic and Classical assemblages, whereas the Roman population sample displayed the lowest levels of the condition. These temporal trends possibly suggest differences in diet and nutrition, access to food resources, dietary habits and oral hygiene practices among populations.

Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΕΝΟΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΟΥ ΔΙΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ HSP90

Σκούρας Ζ. *

Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σ.Θ.Ε., Α.Π.Θ.
E-mail: scouras@bio.auth.gr

Μέλη της οικογένειας HSP90 συμμετέχουν σε σημαντικές λειτουργίες του κυττάρου (αναδίπλωση πρωτεϊνών, μεταγωγή σήματος, εμφάνιση όγκων κ.ά.). Ερωτήματα που σχετίζονται με την εξέλιξη των γονιδίων της οικογένειας καθώς και έλλειψη δεδομένων από τα μαλάκια μας οδήγησαν στην ανάλυση γονιδίων hsp90 και τη διερεύνηση των φυλογενετικών τους σχέσεων. Από τη γονιδιωματική βιβλιοθήκη του *Mytilus galloprovincialis* απομονώθηκαν δύο μεταγραφικές μονάδες hsp90. Οι μονάδες περιέχουν 9 εξόνια και εμφανίζουν (α) μεγάλες ομοιότητες στην 5' μη κωδικοποιούσα και στην κωδικοποιούσα περιοχή και (β) διαφορές στο 5^ο και 7^ο ιντρόνιο, λόγω της ύπαρξης επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών, καθώς και στην 3' μη κωδικοποιούσα περιοχή. Ανοδικά του ATG υπάρχουν: το 1^ο μη-κωδικοποιόν εξόνιο, κουτιά TATA και CAAT, θέσεις σύνδεσης για την p53, τους παράγοντες GAGA και θερμικού πλήγματος. Οι δύο μονάδες κωδικοποιούν το ίδιο πολυπεπτίδιο, που φέρει τις «υπογραφές» των κυτταροπλασματικών HSP90. Όλα τα παραπάνω δηλώνουν την αρχή της διαφοροποίησης ενός γονιδιακού διπλασιασμού. Η μεγάλης κλίμακας φυλογενετική ανάλυση αλληλουχιών HSP90, σε συνδυασμό με τα δύο γονιδιακά αντίγραφα στα μαλάκια, υποστηρίζει την εμφάνιση του διπλασιασμού εντός των ασπόνδυλων, πιθανόν μετά τη διαφοροποίηση των νηματωδών (ένα γονίδιο) και πριν ή κατά τη διαφοροποίηση των μαλακίων. Οι ομοιότητες της 5' μη κωδικοποιούσας περιοχής στο μύδι και τον άνθρωπο επιτρέπει την υπόθεση ότι ο διπλασιασμός αυτός ευθύνεται για τις συστατικές και επαγόμενες ισομορφές στα σπονδυλωτά. Τέλος, φαίνεται ότι η πολυπλοκότητα της ρυθμιστικής περιοχής των hsp90 άρχισε να διαμορφώνεται από την εμφάνιση των πολυκύτταρων οργανισμών, ώστε να επιτελούνται σύνθετες αλληλεπιδράσεις για την εξυπηρέτηση πολλαπλών κυτταρικών και περιβαλλοντικών απαιτήσεων.

* Προσκεκλημένος ομιλητής

Στην παρούσα ερευνητική εργασία συμμετείχαν οι:
Παντζαρτζή Χ.¹, Κουρτίδης Α.², Δροσοπούλου Ε.¹, Γιαγκου Μ.¹ & Ζ.Σκούρας¹

¹Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σ.Θ.Ε., E-mails:
chrysap@bio.auth.gr, edrosopo@bio.auth.gr, yiangou@bio.auth.gr

²GenNYsis Center for Excellence in Cancer Genomics, State University of New York at
Albany, Rensselaer, NY 12144, USA E-mail: akourtidis@albany.edu

EVOLUTION OF A GENE DUPLICATION OF THE CYTOPLASMIC HSP90 GENES

Scouras Z.*

*Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, A.U.Th.
E-mail: scouras@bio.auth.gr*

Members of the HSP90 family participate in important cellular processes (protein folding, signal transduction, tumor development etc.). Questions concerning the evolution of the gene family as well as lack of data from Mollusca led us to analyze hsp90 genes and investigate their phylogenetic relationships. Two hsp90 transcriptional units were isolated from a *Mytilus galloprovincialis* genomic library. The units contain 9 exons and exhibit (a) extensive similarity in the 5' non-coding and in the coding region and (b) differences in the 5th and 7th introns, due to the presence of repeated sequences, as well as in the 3' non-coding region. Upstream the ATG the 1st non-coding exon, TATA and CAAT boxes, binding sites for p53, GAGA and Heat Shock Factors are located. The two units code for the same polypeptide that bears the cytoplasmic HSP90 signatures. All the above show that the existing gene duplication has begun to differentiate. Both the phylogenetic analysis of HSP90 sequences and the presence of two gene copies in mussels, support the existence of duplication within invertebrates, which emerged probably after the diversification of nematodes (one gene) and before or upon the radiation of Mollusca. The similarities of the 5' non-coding region in mussel and human imply that this duplication led to the constitutive and inducible isoforms in vertebrates. Finally, it appears that the complexity of the hsp90 regulatory region began to evolve along with the radiation of multicellular organisms, thus allowing for multiple interactions and enabling the participation of the hsp90 genes in important cellular processes.

The contributors of this work were:

Pantartzzi C.¹, Kourtidis A.², Drosopoulou E.¹, Yiangou M.¹ and Z. Scouras¹

¹*Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, A.U.Th
E-mails: chrysap@bio.auth.gr, edrosopo@bio.auth.gr, yangou@bio.auth.gr, scouras@bio.auth.gr*

²*GenYSis Center for Excellence in Cancer Genomics, State University of New York at
Albany, Rensselaer, NY 12144, USA E-mail: akourtidis@albany.edu*

* *Invited speaker*

**IN SITU ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΤΟΥ *PARAZOANTHUS AXINELLAE* (SCHMIDT,
1862) (CNIDARIA, ZOANTHARIA) ΣΤΗ ΧΑΛΚΙΔΙΚΗ (ΒΟΡΕΙΟ ΑΙΓΑΙΟ)**

Σκούφας Γ.¹, Gillet A.²

¹Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης, Τμήμα Τεχνολογίας Α-
λειίας και Υδατοκαλλιεργειών, Ν. Μιλτιάδη 1, Νέα Μουδανιά 63200, Ελλάδα

E-mail: skoufas@aqu.teithe.gr

²Université de Liege, Unité d'Ecologie Marine, Laboratoire d'Ecologie animale et d'Ecotoxicologie,
Département des Sciences et Gestion de l'Environnement, Sart Tilman, B-4000 Liège, Belgique.

E-mail: audreygillet@hotmail.com

Το Ζωοανθάριο *Parazoanthus axinellae* είναι ένας θαλάσσιος ζωικός οργανισμός με ευρεία γεωγραφική κατανομή. Παρά το γεγονός ότι δεν παρουσιάζει εμπορικό ενδιαφέρον, εντούτοις αποτελεί έναν πόλο έλξης στο χώρο της αυτόνομης κατάδυσης αναψυχής. Τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί μία σημαντική μείωση του πληθυσμού του στις Ιταλικές ακτές, ενώ για τις Ελληνικές ακτές δεν υπάρχουν δεδομένα, εκτός από προσωπικές παρατηρήσεις, που να αφορούν στην κάλυψή του. Το συγκεκριμένο είδος παρουσιάζει δύο βασικές στρατηγικές εξάπλωσης. Συναντάται είτε σε ρηχά σχετικά νερά (-15 μέγιστο βάθος) προσκολλημένο σε κάθετο σκληρό υπόστρωμα, είτε ως επιβιοτικός οργανισμός, επάνω σε σπόγγους κυρίως του γένους *Axinellae*, με βαθύτερη κατανομή, η οποία ξεκινά από τα -20 μέτρα βάθος. Η παρούσα εργασία αποτελεί μια προκαταρκτική βιοπαρακολούθηση του συγκεκριμένου είδους στην περιοχή του Τρωναίου Κόλπου στη Χαλκιδική. Η μελέτη ξεκίνησε το καλοκαίρι του 2007 και για το σκοπό αυτό, σημάνθηκαν σπόγγοι του γένους *Axinellae* και έγινε φωτογράφησή τους. Σε κάθε σπόγγο μετρήθηκαν οι τρεις διαστάσεις του σπόγγου, ο αριθμός των πολυπόδων του ζωοανθάριου *Parazoanthus axinellae* και οι αποικίες που σχηματίζει το ζωοανθάριο. Σε κάθε φωτογραφία που λήφθηκε με αυτόνομη κατάδυση, μετρήθηκε και η δραστηριότητα των πολυπόδων, χρησιμοποιώντας ως κριτήριο το αν είναι σε φάση συστολής ή όχι.

**IN SITU MONITORING OF PARAZOANTHUS AXINELLAE (SCHMIDT, 1862)
(CNIDARIA, ZOANTHARIA) IN CHALKIDIKI (NORTH AEGEAN SEA)**

Skoufas G.¹, Gillet A.²

¹Alexander Technological Educational Institute of Thessaloniki, Department of Fisheries and
Aquaculture Technology, N. Miltiadi 1, Nea Moudania 63200, Greece.

E-mail: skoufas@aqua.teithe.gr

²Universite de Liege, Unité d'Ecologie Marine, Laboratoire d'Ecologie animale et d'Ecotoxicologie,
Département des Sciences et Gestion de l'Environnement, Sart Tilman, B-4000 Liège, Belgique.

E-mail: audreygillet@hotmail.com

Parazoanthus axinellae is a marine coral with an extended distribution through-out the Mediterranean Sea and the northeast segment of the Atlantic Ocean. Although this species has no commercial use, it is an interest to SCUBA divers. This coral shows two basic expansion strategies; it grows either in shallow waters (maximum depth -15m) attached to vertical hard substrata, or in deeper waters (deeper than -20m), growing on organic substrata and more often on sponges of *Axinella* genus. During the last years, researches showed a decrease in the species' population along the Italian coasts and personal observations have suggested a similar trend along the Greek coasts. The current survey constitutes a preliminary biomonitoring of this species in Toroneos Gulf, Chalkidiki. The study began during the summer of 2007, when sponges of *Axinella* genus were marked, and photographs were taken *in situ*. We measured each of the marked sponges, *in situ*, for the three dimensions of the sponge, the number of *Parazoanthus axinellae* polyps attached to it, and the total number of coral colonies. Moreover, the activity of polyps, based on contraction position, was noted in each photograph taken during diving.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΧΕΣΗΣ ΔΟΜΗΣ-ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΤΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗΣ ΤΟΥ DNA RAD51

Σουσσούνης Κ., Μπούτου Ε., και Κ. Βοργιάς

*Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, E-mail: eboutou@biol.uoa.gr, cvorgias@biol.uoa.gr*

Ο μηχανισμός επιδιόρθωσης του γονιδιώματος μέσω ομόλογου ανασυνδυασμού, λόγω της υψηλής του πιστότητας, έχει ζωτική σημασία για την βιωσιμότητα του κυττάρου, αποτρέποντας τη συσσώρευση μεταλλάξεων και τη δημιουργία νεοπλασιών. Βασικός παράγοντας του μηχανισμού αυτού είναι η πρωτεΐνη Rad51. Η Rad51 εμπλέκεται στην εύρεση της ομόλογης περιοχής του DNA, την ανταλλαγή των ομόλογων αλυσίδων και την ολοκλήρωση της επιδιόρθωσης. Οι καρκινικοί αναστολείς BRCA2 και p53 αλληλεπιδρούν με την Rad51 και ρυθμίζουν τη δράση της, ρυθμίζοντας συγχρόνως την περαιτέρω πορεία του κυττάρου προς πολλαπλασιασμό ή κυτταρικό θάνατο, ανάλογα με την αποτελεσματικότητα της επιδιόρθωσης των βλαβών του DNA. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η ανάλυση της σχέσης δομής - λειτουργίας της Rad51 στα καρκινικά κύτταρα επιθηλίου του μαστού MCF7 και στα κύτταρα οστεοσαρκώματος U2-OS. Μία σειρά μεταλλαγμένων μορφών της Rad51 (Rad51m4, m7 και m12), οι οποίες βρίσκονται στην περιοχή της Rad51 που αλληλεπιδρά με τα μόρια BRCA2 και p53, συνδέθηκε με την κίτρινη φθορίζουσα πρωτεΐνη (EYFP) και εκφράστηκε στις κυτταρικές σειρές MCF7 και U2-OS. Η υποκυτταρική τους κατανομή συγκρίθηκε με αυτή της Rad51 φυσικού τύπου (Rad51wt), συνδεδεμένης επίσης με την κίτρινη φθορίζουσα πρωτεΐνη (EYFP). Στις συγκεκριμένες κυτταρικές σειρές, οι μεταλλαγμένες μορφές EYFP-Rad51m4, m6 και m12 οι οποίες φέρουν μόνο μία απλή αντικατάσταση αμινοξικού καταλοίπου, παρουσίασαν αξιοσημείωτη διαφοροποίηση της υποκυτταρικής τους κατανομής στα κύτταρα στα οποία εκφράστηκαν σε σχέση με την EYFP-Rad51wt. Ιδιαίτερα εντυπωσιακή ήταν η συμπεριφορά της Rad51m4, όπου εντοπίζεται κυρίως σε εκτεταμένες νηματοειδείς μορφές στον πυρήνα του κυττάρου, σε αντίθεση με την κατά βάση κυτταροπλασματική κατανομή της Rad51wt. Η διαλεύκανση των μηχανισμών που ευθύνονται για την τροποποιημένη συμπεριφορά των μεταλλαγμένων αυτών μορφών της Rad51, πιθανά μέσω τροποποίησης της αλληλεπίδρασης με την BRCA2, βρίσκεται υπό διερεύνηση.

STRUCTURE-FUNCTION ANALYSIS OF THE DNA REPAIR AND RECOMBINATION FACTOR RAD51

Soussounis C., Boutou E., and C. Vorgias

Department of Biochemistry & Molecular Biology, Faculty of Biology, Athens University, Athens, Greece, E-mail: eboutou@biol.uoa.gr, cvorgias@biol.uoa.gr

High fidelity DNA repair through homologous recombination is a crucial cellular process which practically ensures no mutation accumulation and subsequent tumorigenesis. A key factor in homologous recombination repair pathways is Rad51. Rad51 performs homology search and subsequent homologous strand exchange towards effective genome repair. Rad51's function is controlled and monitored by its physical interaction with the tumor suppressor molecules BRCA2 and p53, which in turn affect cell's decisions towards division or apoptosis. The current study aims in analysing structure-function relationship of Rad51 in MCF7 mammary carcinoma and U2-OS osteosarcoma cells. Towards this direction three different Rad51 mutant forms (Rad51mx, x: 4, 7, 12), previously created in the area of Rad51 interacting with BRCA2 and p53, were fused to the Enhanced Yellow Fluorescent protein (EYFP-Rad51mx). The constructs were subsequently expressed in MCF7 and U2-OS cells. Subcellular localization of EYFP-Rad51mx was compared to the one of the wild type protein also linked to EYFP (EYFP-Rad51wt). All three mutant forms exhibited distinct expression patterns, with EYFP-Rad51m4 demonstrating the most spectacular change. YFP-Rad51m4 shows a main nuclear localization in contrast to the cytoplasmic distribution of Rad51wt, forming a filament-like structure in the cell nucleus. This phenomenon probably involves modification of Rad51 mutant forms complex formation with BRCA2, a hypothesis which is currently investigated.

**ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΗ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΗΝ ΞΗΡΑΣΙΑ ΝΕΑΡΩΝ ΚΑΙ ΩΡΙΜΩΝ
ΦΥΛΛΩΝ *ARABIDOPSIS THALIANA* ΟΠΩΣ ΕΜΦΑΝΙΣΤΗΚΕ ΜΕ ΤΗ
ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗΣ ΤΟΥ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗΣ: Ο
ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΑΝΘΟΚΥΑΝΙΝΩΝ**

Σπερδούλη Η. και Μ. Μουστάκας

*Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,
Πανεπιστημιούπολη 54124 Θεσσαλονίκη.*

E-mail: ilektras@bio.auth.gr (Η. Σπερδούλη), moustak@bio.auth.gr (Μ. Μουστάκας)

Με τη μέθοδο της απεικόνισης του φθορισμού της χλωροφύλλης μελετήσαμε την ανθεκτικότητα σε στρες ξηρασίας (1, 4, 6, 8 και 10 ημερών) νεαρών και ώριμων φύλλων φυτών *Arabidopsis thaliana* ηλικίας 4 εβδομάδων. Η μέγιστη απόδοση φωτονίων στο σκοτάδι (Fv/Fm) παρουσίασε προοδευτικά σημαντική μείωση στα ώριμα φύλλα με την έναρξη του στρες ξηρασίας έως την 6^η ημέρα και ακολούθως ανέκαμψε ενώ οι αντίστοιχες τιμές στα νεαρά φύλλα παρουσίασαν μικρή μόνο μείωση και ανέκαμψαν πλήρως τη 10^η ημέρα. Η απόδοση φωτονίων (F_{PSII}) μειώθηκε σημαντικά την 6^η ημέρα του στρες ξηρασίας στα ώριμα φύλλα και βελτιώθηκε ακολούθως ενώ στα νεαρά φύλλα παρουσίασε μικρότερη μείωση και τη 10^η ημέρα ήταν παρόμοια με τα φυτά μάρτυρες. Η πίεση αποδιέγερσης (1-q_p) ήταν μεγαλύτερη την 6^η ημέρα του στρες ξηρασίας στα ώριμα φύλλα για να μειωθεί τη 10^η ενώ τα νεαρά φύλλα δέχτηκαν μικρότερη πίεση αποδιέγερσης όλες τις ημέρες του στρες. Στα ώριμα φύλλα το στρες ξηρασίας είχε σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS) όπως προέκυψε από τον υπολογισμό της υπεροξειδωσής των λιπιδίων ενώ στα νεαρά φύλλα δημιουργήθηκαν λιγότερες ενεργές μορφές οξυγόνου, πιθανόν λόγω της αυξημένης συγκέντρωσης φλαβονοειδών και ανθοκυανινών οι οποίες λειτούργησαν σαν αντιοξειδωτικές ενώσεις. Η αύξηση της συγκέντρωσης των φλαβονοειδών και ανθοκυανινών σε συνθήκες στρες ξηρασίας στα νεαρά φύλλα προφανώς λειτούργησε σαν ένας αποτελεσματικός μηχανισμός αντιοξειδωτικής προστασίας που είχε ως αποτέλεσμα τη μεγαλύτερη ανθεκτικότητά τους σε σχέση με τα ώριμα φύλλα.

*Ευχαριστίες : Η συγκεκριμένη έρευνα χρηματοδοτήθηκε από την Γενική Γραμματεία
Έρευνας και Τεχνολογίας.*

**DIFFERENTIAL DROUGHT TOLERANCE OF YOUNG AND MATURE LEAVES
OF *ARABIDOPSIS THALIANA* AS REVEALED BY CHLOROPHYLL FLUORESCENCE
IMAGING: THE ROLE OF FLAVONOIDS AND ANTHOCYANINS**

Sperdouli I., and M. Moustakas

*Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, University
Campus 54124 Thessaloniki, Greece.*

E-mail: ilektras@bio.auth.gr (I.Sperdouli), moustak@bio.auth.gr (M.Moustakas)

By using chlorophyll fluorescence imaging, we studied the effect of drought stress (1, 4, 6, 8 and 10 days) on young and mature leaves of four-week old *Arabidopsis thaliana* plants. The efficiency of PSII photochemistry (Fv/Fm) decreased progressively and significantly in mature leaves with the onset of drought stress up to 6th day and then recovered partially while Fv/Fm values in young leaves decreased slightly and fully recovered after 10 days stress. The operating quantum efficiency of PSII photochemistry (Φ_{PSII}) decreased significantly after 6 days of drought stress in mature leaves and recovered partially while in young leaves decreased slightly and after 10 days stress it was almost equal to control plants. The excitation pressure (1-q_p) was higher on 6th day of stress in mature leaves and decreased on 10th day while in young leaves the excitation pressure was less during all days of drought stress. In mature leaves drought stress resulted in the formation of reactive oxygen species (ROS) as shown from membrane lipid peroxidation while in young leaves less reactive oxygen species were produced probably as a consequence of flavonoid and anthocyanin accumulation that functioned as antioxidants. The increased production of flavonoids and anthocyanins in young leaves under drought stress evidently provided effective photoprotection to oxidative stress that resulted in higher drought tolerance compared to mature leaves.

*Acknowledgements: This research was supported by a grant from the Greek General Secretariat for
Research and Technology.*

**Η ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ ΤΩΝ ΘΕΙΟΡΕΔΟΞΙΝΩΝ ΚΑΙ ΟΙ ΠΟΛΛΑΠΛΟΙ ΤΗΣ ΡΟΛΟΙ
ΣΕ ΒΑΣΙΚΕΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ****Σπύρου Γ. ***

Κέντρο Βασικής Έρευνας Ι – τμήμα Βιοχημείας, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών, Ακαδημία Αθηνών, Σωρανού του Εφεσίου 4, Αθήνα 11527 E-mail: gianisspyrou@bioacademy.gr

Ποικίλες κυτταρικές λειτουργίες όπως ο πολλαπλασιασμός, η ενεργοποίηση, η αναστολή της ανάπτυξης και ο κυτταρικός θάνατος ρυθμίζονται μέσω διαδικασιών οξειδωσης/αναγωγής. Τα κύτταρα διαθέτουν έναν καλά ανεπτυγμένο μηχανισμό αντιοξειδωτικής άμυνας, στον οποίο περιλαμβάνονται τα συστήματα της θειορεδοξίνης και της γλουταρεδοξίνης. Οι θειορεδοξίνες (Trxs) και οι γλουταρεδοξίνες (Grxs) συνιστούν μία τάξη οξειδοαναγωγικά ενεργών πρωτεϊνών που μέσω της αναγωγής δισουλφιδικών δεσμών συμμετέχουν στην αναδίπλωση πρωτεϊνών, τη ρύθμιση της πρόσδεσης υποδοχέων και μεταγραφικών παραγόντων στο DNA, ενώ έχουν τη δυνατότητα να προστατεύουν τα κύτταρα από το οξειδωτικό στρες. Πρόσφατα, απομονώσαμε μία θειορεδοξίνη (Trx2) που εντοπίζεται αποκλειστικά στα μιτοχόνδρια και δείξαμε ότι είναι ουσιώδης για την μιτοχονδριακά επαγόμενη απόπτωση, καθώς και ότι μπορεί να ρυθμίσει τα μιτοχονδριακά επίπεδα των Δραστικών Μορφών Οξυγόνου (ROS). Λαμβάνοντας υπόψη το ζωτικό ρόλο της Trx2 στα όργανα αυτά, εξετάσαμε το κατά πόσο εμπλέκεται στη μοριακή σηματοδότηση κατά την υποξία. Χρησιμοποιώντας κύτταρα που σταθερά υπερεκφράζουν την Trx2 καταλήξαμε στο ότι η μιτοχονδριακή θειορεδοξίνη μειώνει τα πρωτεϊνικά επίπεδα της HIF-1α υπομονάδας (Hypoxia Inducible Factor, Παράγοντας που Επάγεται από την Υποξία) και τη δυνατότητά του παράγοντα να ενεργοποιήσει τη μεταγραφή μέσω μεταφραστικού ελέγχου. Τέλος, έχουμε δείξει ότι η γλουταρεδοξίνη διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στην ενεργοποίηση του μονοπατιού της ιντερφερόνης β (IFNβ). Ο ρυθμιστικός παράγοντας της ιντερφερόνης-3 (IRF3) αποτελεί έναν ουσιώδη ρυθμιστή του υποκινητή του γονιδίου της IFNβ. Αποδείξαμε ότι υπό φυσιολογικές συνθήκες, ο IRF3 είναι S-γλουταθειονυλιωμένος. Μετά την ιϊκή προσβολή, ο IRF3 απογλουταθειονυλιώνεται μέσω της γλουταρεδοξίνης και η αντίδραση αυτή είναι απαραίτητη για την αποτελεσματική αλληλεπίδραση μεταξύ του IRF3 και του CBP, προκειμένου να ξεκινήσει η μεταγραφή. Αυτά τα αποτελέσματα ξεδιπλώνουν τον ουσιώδη ρόλο της γλουταρεδοξίνης στη ρύθμιση του μονοπατιού της IFNβ και στην ανοσολογική απόκριση στην ιϊκή προσβολή.

Στην εργασία αυτή συμμετείχαν οι:

Χαντζούρα Ε., Πριναράκης Ε., Ράπτη Μ., Ψαρρά Α.-Μ. και Γ. Σπύρου

* Προσκεκλημένος ομιλητής

THE MULTIPLE ROLES OF THE THIOREDOXIN SUPERFAMILY IN CELL FUNCTION

Spyrou G. *

*Center of basic Research I - Biochemistry division, Biomedical Research Foundation, Academy of
Athens, 4 Soranou Efessiou Street, Athens 11527, Greece. E-mail: giannisspyrou@bioacademy.gr*

Cellular reduction/oxidation regulates various aspects of cellular functions such as proliferation, activation, growth inhibition and cell death. To protect against exposure to oxidants, the cells have a well-developed antioxidant defence that includes the thioredoxin and glutaredoxin systems. Thioredoxins (Trx) and glutaredoxins comprise a class of redox active proteins known to be present in all eukaryotic and prokaryotic organisms and have a variety of biological activities. They can catalyze reduction of protein disulfide bonds and participate in folding of proteins, modulate the DNA binding activity of receptors and transcription factors. Furthermore, they can protect cells against oxidative stress. Recently, we have isolated a thioredoxin (Trx2) located exclusively in mitochondria and demonstrated that it is essential for mitochondrial dependent apoptosis. Furthermore, we showed that Trx2 can regulate the levels of ROS (Reactive Oxygen Species) in mitochondria. Considering the essential function of Trx2 in mitochondria, we analyzed whether or not Trx2 is involved in hypoxic signaling. Using cells that stably overexpress Trx2 we found that Trx2 decreased HIF-1a (hypoxia-inducible factor) protein levels and HIF-1a transactivation by a cap-dependent translational control mechanism. Finally, we have shown that Glutaredoxin plays a key role in regulating the activation of the interferon beta (IFN β) pathway. Interferons (IFNs) are cytokines involved in diverse biological functions including antiviral response, inhibition of proliferation, induction of differentiation and modulation of the immune system. Interferon regulatory factor-3 (IRF-3) is an essential regulator of the interferon beta (IFN β) gene promoter. We showed that in steady state, IRF-3 is posttranslational modified by means of S-glutathionylation. Deglutathionylation of IRF3 performed specifically by Glutaredoxin is necessary for efficient IRF3-CBP interaction that is pre-requested for transcriptional activation. These results reveal a crucial role glutaredoxin in controlling the activation of IRF-3 and the IFN β pathway.

The contributors of this work were:

Chantzoura E., Prinarakis E., Rapti M., Psarra A.-M., and G. Spyrou

* *Invited speaker*

**ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΘΕΡΜΟΣΤΑΘΕΡΩΝ ΥΔΡΟΛΥΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ ΑΠΟ
ΘΕΡΜΟΦΙΛΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ ΤΟΥ ΗΦΑΙΣΤΕΙΑΚΟΥ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ
ΣΑΝΤΟΡΙΝΗΣ**

**Σταθοπούλου Π.Μ., Ανασοντζής Γ.Ε., Κατσίφας Ε., Καραγκούνη Α.Δ. και
Δ.Γ. Χατζηνικολάου**

*Ομάδα Μικροβιολογίας, Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθήνας,
Πανεπιστημιούπολη, 157 81 Ζωγράφου. E-mail: xatzdim@biol.uoa.gr*

Η διαθεσιμότητα θερμοσταθερών ενζύμων για χρήση σε ποικίλες βιομηχανικές διεργασίες (απορρυπαντικά, φάρμακα, απομάκρυνση τοξικών αποβλήτων, τρόφιμα, επεξεργασία χάρτου κ.α.) ανέδειξε ένα μεγάλο αριθμό νέων δυνατοτήτων. Η πρόοδος αυτή επιτυγχάνεται με την απομόνωση θερμοφίλων μικροοργανισμών από διαφορετικές οικολογικές ζώνες της γης με στόχο τη μελέτη του ενζυμικού τους προφίλ. Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν ο εντοπισμός θερμοσταθερών υδρολυτικών ενζύμων (κυρίως λιπάσες) από βακτηριακά στελέχη (*Bacillus*, *Geobacillus*) τα οποία απομονώθηκαν από διαφορετικές οικοθέσεις του ηφαιστειακού συμπλέγματος της Σαντορίνης. Οι λιπάσες καταλύουν τόσο την υδρόλυση (παρουσία νερού) όσο και τη σύνθεση (απουσία νερού) των εστέρων μεταξύ γλυκερόλης και μακράς αλυσίδας λιπαρών οξέων και θεωρούνται πολύμορφα εργαλεία για τη βιοτεχνολογία. Η ικανότητα των απομονωθέντων βακτηριακών στελεχών να παράγουν λιπάση ελέγχθηκε τόσο σε στερεές όσο και σε υγρές καλλιέργειες (με μοναδική πηγή άνθρακα το ελαιόλαδο). Στις στερεές καλλιέργειες η ανίχνευση πραγματοποιήθηκε με την προσθήκη χρωστικής η οποία αντιδρά με τα παραγόμενα λιπαρά οξέα (ροδαμίνη) ενώ στις υγρές μετρήθηκε η ενζυμική ενεργότητα στο εξωκυτταρικό υγρό σε διαφορετικές χρονικές στιγμές. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκαν υγρές καλλιέργειες με διαφορετικές πηγές άνθρακα και ενέργειας όπου εξετάστηκε και πάλι η παρουσία ή μη λιπάσης στο εξωκυτταρικό υγρό. Από τη σάρωση αυτή προέκυψε ένας αριθμός βακτηριακών στελεχών με αυξημένη ικανότητα έκκρισης λιπάσης και άριστη θερμοκρασία δράσης τους 60 °C. Το αποτέλεσμα αυτό ανοίγει το δρόμο για περαιτέρω έρευνα της βιοσύνθεσης και της αριστοποίησης της παραγωγής λιπασών από τα συγκεκριμένα στελέχη.

*Η παρούσα ερευνητική προσπάθεια υποστηρίζεται μέσω της χορήγησης υποτροφίας
εσωτερικού στη Π.Μ.Σ. από το Ι.Κ.Υ για την εκπόνηση διδακτορικής διατριβής*

**DETECTION OF THERMOSTABLE HYDROLASES IN THERMOPHILIC
BACTERIA ISOLATED FROM THE SANTORINI VOLCANIC ENVIRONMENT**

**Stathopoulou P.M., Anasontzis G.E., Katsifas E., Karagouni A.D.,
and D.G. Hatzinikolaou**

*Microbiology Group, Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, Zografou
Campus, 157 81 Attica, Greece, E-mail: xatzdim@biol.uoa.gr*

The availability of thermostable enzymes for use in various industrial processes (detergents, drugs, toxic wastes removal, food and paper industry etc.) has emerged a number of new biotechnological applications. Advances in this area have been accomplished through the isolation of thermophilic microorganisms from different ecological zones and subsequent evaluation of their enzymic profile. The aim of the present study was the detection of thermostable hydrolytic enzymes (mainly lipases) from bacteria (*Bacillus*, *Geobacillus*) that have been isolated from volcanic habitats in Santorini. Lipases catalyze the hydrolysis (in the presence of water) as well as the synthesis (in the absence of water) of the esters between glycerol and long chain fatty acids and considered as versatile tools in biotechnology. The ability of isolated bacteria to produce lipase was determined on both solid and liquid cultures with olive oil as sole carbon source. In solid cultures, the detection was effected through the aid of a specific fluorescent dye (rhodamine) able to react with fatty acids, whereas in liquid cultures the by the measurement of enzymatic activity in the extracellular liquid at different time periods. The effect of various carbon sources on enzyme production in a series of liquid cultures was also studied. This screening resulted in the identification of number of bacteria with the ability to produce elevated lipase levels, with optimal activity temperature around 60 °C. This work is the first step towards the study of lipase biosynthesis in these strains and the optimization of its production.

*This study is being supported by a personal scholarship to P.M.S. by the State Scholarships
Foundation.*

ΧΑΡΤΟΓΡΑΦΗΣΗ ΤΩΝ ΑΡΓΙΝΙΝΩΝ-ΣΤΟΧΩΝ ΜΕΘΥΛΙΩΣΗΣ ΤΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ RFX5, ΑΠΟ ΤΙΣ ΜΕΘΥΛΟΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΕΣ PRMT1 ΚΑΙ CARM1

Σταυρίδη Φ.^{1,2,3}, Παπαμαθθαϊάκης Ι.^{1,2,4}

¹Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας, Ίδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας, Ηράκλειο, Κρήτη. ²Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο, Κρήτη.

³E-Mail: stavride@imbb.forth.gr ⁴E-Mail: papamath@imbb.forth.gr

Οι μεθυλοτρανσφεράσες αργινίνης PRMTs (Protein arginine Methyl-Transferases), γνωστές αρχικά για τη μεθυλίωση πρωτεϊνών που προσδέουν RNA, έχουν πλέον αναγνωριστεί σαν σημαντικοί τροποποιητές ιστονών. Πρόσφατα δημοσιεύτηκε πως ένα από τα σημαντικότερα μέλη της οικογένειας, η CARM1, στρατολογείται από τον ενεργοποιητή των γονιδίων ιστοσυμβατότητας τάξης II (MHCI), CIITA και παρά το ότι δεν μεθυλώνει τον ίδιο τον ενεργοποιητή, υποβοηθά τη μεταγραφή, μεθυλιώνοντας την αργινίνη 17 της ιστόνης 3 (H3-R17). Στο εργαστήριό μας είδαμε ότι αλληλεπιδρά επίσης και με τον κυριότερο παράγοντα πρόσδεσης στο DNA του ενισχυοσώματος, τον RFX5 και διερευνήσαμε κατά πόσο τον μεθυλιώνει. Βρήκαμε ότι όχι μόνο η CARM1, αλλά και το άλλο σημαντικό μέλος της οικογένειας, η PRMT1, μεθυλιώνουν τον RFX5 και προχωρήσαμε σε χαρτογράφηση των αργινινών που μεθυλιώνονται, αρχικά μέσω *in vitro* μεθυλίσεων τμημάτων του RFX5 και στη συνέχεια μεταλλάσσοντας συγκεκριμένες αργινίνες. Από τα πειράματά μας ταυτοποιήθηκαν 7 αργινίνες-στόχοι για την PRMT1 και 2 για την CARM1. Πρόβλεψη της δομής του RFX5 χρησιμοποιώντας τον αλγόριθμο Rosetta (HMMSTR server) έδειξε τη σχετική θέση των αργινινών-στόχων να βρίσκεται σε καλή συμφωνία με όσα είναι γνωστά για την αλληλουχία που αναγνωρίζεται από την PRMT1. Διαμόλυνση κυτταρικής σειράς ελλειμματικής σε RFX5 με τα μεταλλάγματα, έδειξε ότι κάποια από τα κατάλοιπα που μεθυλιώνονται είναι απαραίτητα για τη λειτουργία του RFX5.

Βιβλιογραφία:

1. Zika, E. et al., PNAS, 8;102(45):16321-6.
2. Bystroff C & Shao Y. (2002). Bioinformatics, 18 Suppl 1, S54-61.
3. Bystroff C, Thorsson V & Baker D. (2000). Journal of Molecular Biology 301, 173-90.

MAPPING OF THE ARGININES-TARGETS OF METHYLATION OF RFX5 BY THE METHYLTRANSFERASES PRMT1 AND CARM1

Stavride Ph.^{1,2,3}, Papamatheakis J.^{1,2,4}

¹*Institute of Molecular Biology and Biotechnology, FORTH, Heraklion, Crete*

²*Biology Department, University of Crete, Heraklion, Crete*

³*E-Mail: stavride@imbb.forth.gr* ⁴*E-Mail: papamath@imbb.forth.gr*

The Protein arginine Methyl-Transferase (PRMT) family, originally known for the methylation of RNA binding proteins, has now emerged as an important histone modifier. CARM1 (PRMT4) in particular has recently been shown to be recruited by the Major Histocompatibility Class II (MHCII) transactivator, CIITA, and though it does not methylate it, it assists transcription through the methylation of H3-R17⁽¹⁾. We found that it also interacts with the main DNA-binding component of the enhanceosome, RFX5, and proceeded to check whether it also methylates it. We found that not only CARM1, but also PRMT1, the other most important member of the PRMT family, methylate RFX5 and proceeded to map the methylation sites, through experiments of in vitro methylation of RFX5 fragments, and subsequent mutagenesis of specific arginine residues. Our experiments identified 7 targets for PRMT1 and 2 for CARM1. A 3D structure prediction using HMMSTR-Rosetta^(2, 3) has shown a relative positioning of arginines that agrees well with what is known about PRMT1's specificity. Transfection of the arginine mutants in an RFX5-deficient cell line has delineated some of the methylation targets as crucial to RFX5's function.

References:

1. Zika, E. et al., PNAS, 8;102(45):16321-6.
2. Bystroff C & Shao Y. (2002). Bioinformatics, 18 Suppl 1, S54-61.
3. Bystroff C, Thorsson V & Baker D. (2000). Journal of Molecular Biology 301, 173-90.

**ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΑΠΟ-
ΠΤΩΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΝ *BCL2* ΚΑΙ *BAX*, ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΑ ΚΥΤ-
ΤΑΡΑ, ΩΣ ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗ ΣΤΑ ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΑ ΚΙΝΗΤΩΝ ΤΗΛΕΦΩΝΩΝ**

Σταυροπούλου Ε.¹, Θωμαδάκη Ε.², Μαργαρίτης Λ.Χ.¹, Σκορίλας Α.²

¹Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Πανεπιστημιόπολη, 15701 Αθήνα. E-mail: lmargar@biol.uoa.gr

²Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Πανεπιστημιόπολη, 15701 Αθήνα. E-mail: ascorilas@biol.uoa.gr

Ένας αυξανόμενος αριθμός ερευνητικών δεδομένων υποστηρίζει την πιθανή επιβλαβή επίδραση των μικροκυμάτων των κινητών τηλεφώνων στα ανθρώπινα κύτταρα. Στην παρούσα μελέτη, διερευνήθηκαν ποικίλες συνεχείς και διαλείπουσες συνθήκες έκθεσης ανθρώπινων λεμφοβλαστικών κυττάρων (U937) σε μικροκύματα κινητών τηλεφώνων, κυρίως όσον αφορά στα γενετοξικά αποτελέσματα της έκθεσης αυτής στα ανθρώπινα κύτταρα, χρησιμοποιώντας τεχνικές ελέγχου κυτταροτοξικότητας, μεθόδους αξιολόγησης της βιωσιμότητας των κυττάρων, της πολλαπλασιαστικής ικανότητάς τους, καθώς επίσης και μεθόδους ανάλυσης έκφρασης γονιδίων, σε επίπεδο mRNA, τα οποία σχετίζονται με την πορεία απόπτωσης όπως το *BCL2* και το *BAX*, χρησιμοποιώντας RT-PCR. Ως γονίδιο αναφοράς χρησιμοποιήθηκε το γονίδιο *GAPDH*. Σε κύτταρα U937 που εκτέθηκαν σε μικροκύματα κινητών, δεν εντοπίστηκαν φαινόμενα νέκρωσης ή αυξημένης πολλαπλασιαστικής ικανότητας, αλλά περιορισμένη μείωση στην ζωτικότητα των κυττάρων στις 72h επώασης που ακολούθησαν μετά από δίωρη συνεχή έκθεση των κυττάρων σε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία κινητών τηλεφώνων. Τα επίπεδα mRNA και των δύο υπό μελέτη γονιδίων (*BCL2* and *BAX*) αυξήθηκαν μετά από συνθήκες που αφορούσαν 30min και 2h συνεχούς έκθεσης σε μικροκύματα κινητών, αλλά δεν εμφάνισαν καμία μεταβολή ως ανταπόκριση σε διαλείπουσες συνθήκες έκθεσης. Τα πειραματικά μας δεδομένα υποστηρίζουν ότι τόσο το *BCL2* όσο και το *BAX* μπορούν να αποτελέσουν πιθανούς μοριακούς δείκτες κυτταρικής ανταπόκρισης στην δράση μικροκυμάτων.

GENE EXPRESSION ANALYSIS AND STUDY OF THE APOPTOSIS-RELATED GENES *BCL2* AND *BAX*, IN HUMAN LYMPHOBLASTOMA CELLS, AS A RESPONSE TO MOBILE PHONE MICROWAVES

Stavropoulou E.¹, Thomadaki H.², Margaritis L.H.¹, Scorilas A.²

¹*Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, 15701 Athens, GR. E-mail: lmargar@biol.uoa.gr*

²*Department of Biochemistry and Mol. Biology, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, 15701 Athens, GR. E-mail: ascorilas@biol.uoa.gr*

An increasing number of research data support the potential harmful effect of mobile phone microwaves on human cells and their association with single gene expression changes following exposure of human cells. In the present study, distinct continuous and intermittent exposure conditions to mobile phone microwaves were examined with respect to genotoxic effects in human lymphoblastoma U937 cells, using cytotoxicity testing, assessment of cell viability, cell growth capacity, as well as transcriptome analysis of *BCL-2* and *BAX* apoptosis-related genes, by RT-PCR, using gene specific primers. *GAPDH* was used as a housekeeping gene. The results were evaluated and examined for their biological relevance. In U937 lymphoblastoma exposed cells we found no necrosis induction or effect on cell proliferation capacity, apart from a limited decrease in cell viability 72h after 2h- continuous exposure to mobile phone radiation. Both genes under study (*BCL-2* and *BAX*) were upregulated following continuous 30 min and 2h microwave exposure conditions, however at distinct periods of time following exposure, but showed no modulations as a response to intermittent exposure conditions. Our experimental data support that *BCL2* and *BAX* may serve as new potential molecular biomarkers for predicting cell response to microwaves.

**ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΟΥ
ΓΟΝΙΔΙΟΥ *BCL2L12* ΣΤΗΝ ΠΑΙΔΙΚΗ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ
ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ**

Στέφου Φ., Σκορίλας Α.¹, Βράιλα Β.-Μ., Γουργιώτης Δ.

Ερευνητικό Εργαστήριο, Β' Πανεπιστημιακή Παιδιατρική Κλινική, Ιατρική Σχολή
Πανεπιστημίου Αθηνών, Λεβαδείας 13 Γουδή -Αθήνα

E-mails: fotinistefou@yahoo.gr; vvraila@yahoo.com; dgourgs@med.uoa.gr

¹Τομέας Βιοχημείας-Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιούπολη
15784, Αθήνα, E-mail: ascorilas@biol.uoa.gr

Οι λευχαιμίες, είναι νεοπλασματικά νοσήματα του αιμοποιητικού συστήματος. Η οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (ΟΛΛ) αποτελεί τον συχνότερο τύπο λευχαιμίας στα παιδιά (80%) παρουσιάζεται κυρίως μεταξύ των 2 έως 5 ετών και συχνότερα σε αγόρια. Πρόκειται για ιάσιμη νόσο, καθώς το ποσοστό ίασης αγγίζει σήμερα, το 80%. Παρά ταύτα, εξαιρετικής σημασίας παραμένει η πρόγνωση. Η έρευνά μας εστιάστηκε στην ανεύρεση αξιόπιστων καρκινικών δεικτών και στην *BCL2* οικογένεια γονιδίων, τα μέλη της οποίας διακρίνονται σε αντιαποπτωτικά και προαποπτωτικά. Έχει μελετηθεί η δράση του *BCL2* στη γένεση της λευχαιμίας, ενώ η έκφρασή του σε επίπεδο mRNA, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως προγνωστικός δείκτης, με την υπερέκφρασή του να δηλώνει την ύπαρξη της νόσου. Μελετήσαμε την έκφραση του νέου μέλους της *BCL2* οικογένειας, του *BCL2L12*, που εδράζεται στο χρωμόσωμα 9 και ενός προϊόντος εναλλακτικού ματίσματος, του *BCL2L12-A*. Συλλέχθηκαν δείγματα περιφερικού αίματος από ασθενείς με ΟΛΛ, και υγιή άτομα. Ακολούθησαν τεχνικές απομόνωσης RNA, Φωτομέτρησης, Reverse Transcription PCR, PCR και Ηλεκτροφόρησης. Ως γονίδιο αναφοράς, χρησιμοποιήθηκε το *GAPDH* (αφυδρογονάση της φωσφορικής γλυκεριναλδεΐδης). Σύμφωνα με τα προκαταρκτικά αποτελέσματα από 20 υγιή και 20 λευχαιμικά δείγματα σε φάση εφόδου, το 75% των υγιών παιδιών εξέφραζε το *BCL2L12* και το 60%, το *BCL2L12-A*. Αντιθέτως, όλα τα παιδιά που έπασχαν, εμφάνισαν υπερέκφραση και των δύο μεταγράφων του υπό μελέτη γονιδίου. Τα δείγματα με χαμηλότερο βαθμό υπερέκφρασης, προήλθαν από ασθενείς που έπασχαν από Β-ΟΛΛ, ενώ αυτά με υψηλό βαθμό υπερέκφρασης, ανήκαν σε ασθενείς με Τ-ΟΛΛ. Απαιτείται επέκταση της εν λόγω εργασίας σε στατιστικά σημαντικό αριθμό δειγμάτων, καθώς τα προαναφερθέντα αποτελέσματα, συνιστούν ενδείξεις της εμπλοκής του *BCL2L12* στην ΟΛΛ.

EXPRESSION ANALYSIS AND STUDY OF THE APOPTOTIC GENE *BCL2L12* IN THE INFANTILE ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKAEMIA

Stefou F., Scorilas A.¹, Vraila V.-M., Gourgiotis D.

Research Laboratory, 2nd Paediatric Clinic(P.C),Faculty of Medicine,University of Athens, Levadias
13,Goudi, Athens Greece.

E-mails: fotinistefou@yahoo.gr; vvraila@yahoo.com; dgourg@med.uoa.gr

¹Department of Biochemistry & Molecular Biology, Faculty of Biology, University of
Athens,Panepistimioupoli 15784, Athens,mail: ascorilas@biol.uoa.gr

Acute Lymphoblastic Leukaemia(ALL), is the most frequent type of leukaemia among children(80%) and affects the ages between 2 and 5 years, being more common in boys rather than girls. ALL is a recuperable disease, whereas the 80% of the cases are being cured in our days. Still, the matter of the prognosis remains of high importance. Our research has been directed towards finding reliable cancer markers for the ALL, such as the BCL2 family of genes, whose members distinguish into antiapoptotic and proapoptotic. According to studies pertaining to the participation of the *BCL2* gene in the genesis of leukaemia, the expression of the gene in an mRNA level, could be used as a prognostic marker. The overexpression would signify the existence of the disease. We worked on the new member of the BCL2 family, the *BCL2L12* gene and a product of alternative splicing, the *BCL2L12-A*, both located on chromosome 9. Blood samples from patients with ALL and healthy individuals, were collected. The experimental process which was followed, was consisted of RNA extraction, Photometry, Reverse Transcription PCR, PCR and Electrophoresis.As reference gene, we used the *GAPDH*(glycerol aldehyde phosphate dehydrogenase). In accordance with tentative results from 20 healthy blood samples and 20 ALL blood samples(attack phase), we found that the 75% of the healthy children was expressing the *BCL2L12* and the 60% was expressing the *BCL2L12-A*.On the contrary, all the patients displayed overexpression of both of the transcripts of the *BCL2L12*.Lower overexpression was noticed in patients suffering from B-ALL,though higher overexpression was observed in patients with T-ALL.By inference, the amplification of our research to a statistically important number of samples, is essential, as the aforementioned results indicate the involvement of the *BCL2L12* in the ALL.

**ΕΠΑΝΑΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΜΟΝΟΠΑΤΙΟΥ ΜΕΤΑΓΩΓΗΣ ΣΗΜΑΤΟΣ ΤΗΣ
ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ ΣΕ ΜΗ-ΕΡΥΘΡΟΕΙΔΙΚΟ / ΜΗ-ΜΥΕΛΟΕΙΔΙΚΟ
ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ**

**Στραβοπόδης Δ.Ι.¹, Wang D.², Παπασιδέρη Ι.Σ.¹, Μαργαρίτης Δ.Χ.¹ και Γ.Ε.
Βουτσινάς³**

¹Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών (ΕΚΠΑ), Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 157 84, Αθήνα, E-mail:
dstravop@biol.uoa.gr; ipapasid@biol.uoa.gr; lmargar@biol.uoa.gr

²Receptor Signaling Laboratory, Blood Research Institute, Blood Center of Wisconsin, Milwaukee,
Wisconsin (WI) 53 226, USA, E-mail: demin.wang@bcw.edu

³Εργαστήριο Περιβαλλοντικής Μεταλλαξιγένεσης και Καρκινογένεσης, Ινστιτούτο
Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», Αγία Παρασκευή 153 10, Αθήνα,
E-mail: mvoutsin@bio.demokritos.gr

Σε κύτταρα της ερυθροειδικής σειράς, η σύνδεση της ερυθροποιητίνης (Epo) στον ομοειδή της διαμεμβρανικό υποδοχέα (EpoR) προκαλεί ενεργοποίηση της κυτταροπλασματικής κινάσης Jak2, η οποία διαδοχικά φωσφορυλιώνει σε θέση τυροσίνης, μεταξύ άλλων, τους μεταγραφικούς παράγοντες Stat5a/b. Στα πλαίσια της μελέτης των μη-ερυθροειδικών δράσεων της ερυθροποιητίνης, το πρότυπο βιολογικό σύστημα των COS-7 κυττάρων συν-διαμολύνθηκε παροδικά με μια σειρά φυσικού ή/και μεταλλαγμένου τύπου κατασκευών έκφρασης των EpoR, Jak2, Stat5a και Stat1a σηματοδοτικών συστατικών. Πειράματα στοχευμένης ανοσοκατακρήμνισης και επακόλουθου στυπώματος Western αποκάλυψαν την εκλεκτική ικανότητα της ερυθροποιητίνης να φωσφορυλιώνει την Stat5a, αλλά όχι την Stat1a, πρωτεΐνη, πιθανότατα μέσω ενός μηχανισμού στρατολόγησης αυτής από την 343 φωσφορυλιωμένη τυροσίνη του EpoR. Σημειακές μεταλλαγές που, αν και διατηρούν το Jak2-εξαρτώμενο πρότυπο φωσφορυλίωσης της Stat5a πρωτεΐνης, καταστέλλουν δραματικά την ικανότητα αυτής να συνδέεται στις αναγνωριστικές αλληλουχίες στόχους, σε συνδυασμό με δοκιμές ελέγχου Epo-επαγόμενης μεταγραφικής ενεργότητας συστημάτων γονιδίων αναφοράς τύπου λουσιφεράσης, καταδεικνύουν εμφανώς την ακεραιότητα και ειδικότητα του εν λόγω μονοπατιού σηματοδότησης.

Τμήμα του παρόντος ερευνητικού έργου χρηματοδοτήθηκε από το πρόγραμμα «ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΣ» [ΚΑ 70/4/8802, Ειδικός Δογαριασμός Κονδυλίων Έρευνας (ΕΛΚΕ), ΕΚΠΑ], προς τον Δ. Ι. Στραβοπόδη.

RECONSTITUTION OF ERYTHROPOIETIN SIGNALING PATHWAY IN NON-ERYTHROID / NON-MYELOID CELLULAR ENVIRONMENT

**Stravopodis D.J.¹, Wang D.², Papassideri I.S.¹, Margaritis L.H.¹ and
G.E. Voutsinas³**

¹*Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens,
Panepistimiopolis, Zografou 15 784, Athens, Greece (GR),*

E-mail: dstravop@biol.uoa.gr; ipapasid@biol.uoa.gr; lmargar@biol.uoa.gr

²*Receptor Signaling Laboratory, Blood Research Institute, Blood Center of Wisconsin, Milwaukee,
Wisconsin (WI) 53 226, USA, E-mail: demin.wang@bcw.edu*

³*Laboratory of Environmental Mutagenesis and Carcinogenesis, Institute of Biology, NCSR
"Demokritos", Aghia Paraskevi 15 310, Athens, Greece (GR),*

E-mail: mvoutsin@bio.demokritos.gr

In the cells of erythroid lineage, binding of erythropoietin (Epo) to its cognate transmembrane receptor (EpoR) results in activation of the Jak2 cytoplasmic kinase, which can subsequently phosphorylate on a single tyrosine residue, among others, the Stat5a/b transcription factors. In the context of studying the non-hematopoietic biological activities of Epo, the cellular model system COS-7 was transiently co-transfected with a series of wild type and/or mutated expression constructs of EpoR, Jak2, Stat5a and Stat1a signaling components. Experimental assays of combined immunoprecipitation and Western blotting unveiled the ability of Epo to selectively phosphorylate on tyrosine residue(s) the Stat5a, but not Stat1a, protein, likely through a recruiting process implicating the targeting and docking of Stat5a onto the 343 phosphorylated tyrosine of EpoR. Point mutations that severely impair Stat5a binding activities to the cognate recognition sites, without affecting its Jak2-dependent phosphorylation profile, along with Epo-inducible transcriptional responses of luciferase-based gene reporter systems, unambiguously demonstrate the functional integrity and specificity of the present, transiently reconstituted in a non-hematopoietic cellular environment, Epo-specific signaling pathway.

Part of the present research program was financially supported by "KAPODISTRIAS" grant [KA 70/4/8802, Special Account for Research Grants (SARG), NKUA] to D. J. Stravopodis.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ *CRMP5* ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΡΩΙΜΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΠΟΝΤΙΚΟΥ

Στυλιανοπούλου Η.¹, Καραγωγέως Δ.² και Μ. Γρηγορίου¹

¹ Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης Δήμητρας 19, 68100 Αλεξανδρούπολη. E-mail: mgrigor@mbg.duth.gr

² Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο και Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας, Ίδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας, Ηράκλειο
E-mail: karagoge@imbb.forth.gr

Η οικογένεια CRMP (collapsin response mediator proteins) περιλαμβάνει πέντε κυτταροπλασματικές φωσφοπρωτεΐνες με επικαλυπτόμενα πρότυπα έκφρασης στο νευρικό σύστημα του εμβρύου και του ενηλίκου. Έχει δειχθεί ότι μέλη της οικογένειας CRMP παίζουν σημαντικό ρόλο στην επέκταση και καθοδήγηση των νευραξόνων αλλά και στην αναγέννησή τους καθώς δρουν ως διαμεσολαβητές σε μονοπάτια μεταγωγής σήματος, όπως αυτά των σεμαφορινών και της NT3. Επίσης, μέλη της οικογένειας αυτής ενέχονται στην εκδήλωση παρανεοπλαστικών και νευροεκφυλιστικών ασθενειών. Το γονίδιο *CRMP5* αποτελεί το πλέον πρόσφατα χαρακτηρισμένο μέλος της οικογένειας CRMP για το οποίο λίγα είναι γνωστά σε ό,τι αφορά τόσο την έκφρασή του κατά τα πρώιμα στάδια της ανάπτυξης του νευρικού συστήματος όσο και τη λειτουργία του. Μελετήσαμε το χωροχρονικό πρότυπο έκφρασης του γονιδίου *CRMP5* με πειράματα υβριδοποίησης *in situ* σε άθικτα έμβρυα ποντικού των αναπτυξιακών σταδίων E9.0 – E11.5 και σε τομές των σταδίων E12.5 – E15.5. Η έκφραση του *CRMP5* εντοπίζεται σε μεταμιτωτικούς νευρώνες και ξεκινά την E9.5. Στο στάδιο αυτό χαμηλά επίπεδα *CRMP5* ανιχνεύονται στο νωτιαίο μυελό, στον προσεγέφαλο, στο μεσεγέφαλο και στον οπίσθιο εγκέφαλο. Κατά την E10.5 και E11.5 υψηλά επίπεδα του mRNA του *CRMP5* ανιχνεύονται στο νωτιαίο μυελό, στα νωτιαία γάγγλια στον οπίσθιο εγκέφαλο, και στο μεσεγέφαλο. Χαμηλότερα επίπεδα εντοπίζονται στο διεγέφαλο, στις γαγγλιονικές προεξοχές και, από την E11.5, στην προφλοϊϊκή πλάκα των εγκεφαλικών ημισφαιρίων. Κατά την E12.5 και την E13.5 το χωρικό πρότυπο έκφρασης του *CRMP5* παραμένει ίδιο με αυτό της E11.5. Ωστόσο τα επίπεδα έκφρασής του είναι ιδιαίτερα υψηλά σε όλες τις περιοχές όπου ανιχνεύεται το mRNA του. Κατά τα στάδια E14.5 και E15.5 το *CRMP5* εκφράζεται ισχυρά στην φλοϊϊκή πλάκα, στον οπίσθιο εγκέφαλο, στα νωτιαία γάγγλια και σε πυρήνες του θαλάμου και του υποθαλάμου, ενώ στις γαγγλιονικές προεξοχές η έκφρασή του εμφανίζεται μειωμένη σε σχέση με την E13.5. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι το *CRMP5* παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του νευρικού συστήματος και αποτελούν τη βάση για περαιτέρω μελέτες που θα οδηγήσουν στην κατανόηση της λειτουργίας του.

EXPRESSION OF *CRMP5* DURING THE EARLY DEVELOPMENT OF THE MOUSE NERVOUS SYSTEM

Stylianopoulou E.¹, Karagogeos D.², and M. Grigoriou¹

¹ Department of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace, Alexandroupolis
E-mail: mgrigor@mbg.duth.gr

² Department of Basic Sciences, Medical School, University of Crete, Heraklion, Crete and Institute
of Molecular Biology and Biotechnology, Foundation of Research and Technology, Heraklion, Crete.
E-mail: karagoge@imbb.forth.gr

The collapsin response mediator protein (CRMP) family consists of five homologous cytosolic phosphoproteins that are expressed in overlapping patterns in the developing and adult nervous system. An expanding body of evidence indicates that CRMP proteins regulate axon growth and pathfinding during development and regeneration acting as intracellular mediators in signal transduction pathways. Moreover, members of the CRMP family are involved in neurodegenerative disorders and paraneoplastic neurological diseases. The expression and the role of the last identified member of the CRMP family, namely *CRMP5*, has not been studied during the early stages of the development of the nervous system. To determine the spatial and temporal expression of *CRMP5* during the early development of the mouse nervous system, we performed a series of *in situ* hybridization experiments between E9.0 – E15.5. *CRMP5* mRNA was localised in postmitotic neurons and was first expressed at E9.5. At this stage low levels of *CRMP5* expression were detected in postmitotic neurons of the spinal cord, the forebrain, the midbrain and the hindbrain. At E10.5 - E11.5 *CRMP5* was expressed at high levels in the spinal cord, the dorsal root ganglia, the midbrain and the hindbrain. During these stages low levels of *CRMP5* were also detected in the diencephalon, the ganglionic eminence and, as of E11.5, in the cortical preplate. At E12.5 and E13.5 *CRMP5* was expressed in a pattern similar to that of the previous stage – however, the levels of expression were significantly higher. At E14.5 and E15.5 *CRMP5* was expressed at high levels in the cortical plate, the dorsal root ganglia, the hindbrain and in several developing nuclei of the thalamus and hypothalamus. At these stages *CRMP5* was also detected, in lower levels than in E13.5, in the ganglionic eminence. Our data show that the *CRMP5* gene is widely expressed from the early stages of development of the mammalian nervous system and form the basis for further experiments that will elucidate its role.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΑΣΥΡΜΑΤΟΥ ΤΗΛΕΦΩΝΟΥ (DECT)
ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ *Drosophila
melanogaster***

Συκιώτη Β., Χαβδούλα Ε., και Λ.Χ. Μαργαρίτης

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό &
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα 15784*

Τα σύγχρονα ψηφιακά ασύρματα τηλέφωνα DECT (digital enhanced cordless telephones) εκπέμπουν συνεχώς ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, δηλαδή ανεξάρτητα από το εάν υπάρχει κλήση ή όχι, στην περιοχή συχνοτήτων της κινητής τηλεφωνίας, με τιμές έντασης 6.5-7.5 V/m. Μάλιστα η ακτινοβολία αυτή είναι πολύ διεισδυτική και μπορεί να περάσει ακόμα και τους τοίχους διαμερισμάτων. Τα πειράματα της μελέτης αυτής σχεδιάστηκαν προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση της ακτινοβολίας τόσο της βάσης όσο και του ακουστικού του ασύρματου τηλεφώνου στην αναπαραγωγική ικανότητα του εντόμου *Drosophila melanogaster*, όπως αυτή καθορίζεται από την ωοτοκία. Το πειραματικό πρωτόκολλο περιλαμβάνει συλλογή νεοεκδυθέντων εντόμων τα οποία μοιράστηκαν σε ομάδες με ίδιο αριθμό αρσενικών-θηλυκών εντόμων. Η μία ομάδα εκτέθηκε σε ακτινοβολία εκπεμπόμενη από τη βάση του ασύρματου τηλεφώνου, η άλλη ομάδα σε ακτινοβολία εκπεμπόμενη από το ακουστικό ενώ μία τρίτη ομάδα αποτέλεσε το δείγμα-μάρτυρα. Τα έντομα εκτίθεντο για μια ώρα ημερησίως, κατά τη διάρκεια των πρώτων πέντε ημερών της ενήλικης ζωής τους, οπότε και εμφανίζουν το μέγιστο της αναπαραγωγικής τους ικανότητας. Τα αρχικά αποτελέσματα υποδηλώνουν μείωση στην αναπαραγωγική ικανότητα λόγω έκθεσης στην ακτινοβολία. Επίσης μετά από ανατομία σε έντομα που εκτέθηκαν σε ακτινοβολία για τρεις μέρες παρατηρήθηκε θραύση του DNA σε ωοθυλάκια μικρών σταδίων ως αποτέλεσμα επαγόμενου κυτταρικού θανάτου. Πειράματα είναι σε εξέλιξη και σε άλλα πειραματόζωα (ποντίκια) για να διερευνηθούν οι κυτταρικές και μοριακές παράμετροι της επίπτωσης αυτής και να εξαχθούν συμπεράσματα για τις πιθανές επιπτώσεις που μπορεί να έχει η ακτινοβολία των ασύρματων τηλεφώνων στον άνθρωπο.

*Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του
Πανεπιστημίου Αθηνών προς τον καθηγητή Λ.Χ. Μαργαρίτη*

**EFFECT OF THE DECT CORDLESS TELEPHONE RADIATION ON THE
REPRODUCTIVE CAPACITY OF THE INSECT *Drosophila melanogaster***

Sykioti V., Chavdoula E., and L.H. Margaritis

*Faculty of Biology, Department of Cell Biology and Biophysics, University of Athens,
Panepistimiopolis, 15784 Zografou, Athens.*

Digital enhanced cordless telephones (DECT) are of much extended use in offices and homes for a number of years. DECT is a digital wireless technology which originated in Europe, but is now being adopted increasingly worldwide, for cordless telephones, wireless offices and even wireless telephone lines to the home. The main characteristic of these wireless phones are that their base emits radiation constantly (at the same more or less frequency as mobile phones) at an electric field intensity of approximately 5,7-7,5 volts per meter. This kind of radiation is very penetrating and can even pass walls. These experiments were conducted in order to study the effect of radiation transmitted from the base as well as from the handset of the DECT, on the reproductive capacity of the insect *Drosophila melanogaster*. In each experiment, newly emerged adult insects were divided into groups with the same number of males and females. The first group was exposed to radiation emitted from the base of the DECT, the second group was exposed to radiation emitted from the handset, and the third group was the control. The radiated insects were exposed for over one hour daily during the first five days of their adult lives. Our preliminary results suggest a net decrease of the reproductive capacity of the insects exposed to the electromagnetic radiation emitted by the handset and the base. In addition a net increase was observed in the level of programmed cell death occurring during oogenesis in the exposed insects. Work is in progress to clarify the effects of the DECT radiation in mice in order to estimate any possible health hazards in humans.

*This work has been supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens
to Professor L.H.Margaritis*

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ NF-κΒ ΣΤΟ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

**Σφήκας Α.^{1,3}, Τσελίκου Ε.¹, Μπάτση Χ.¹, Γαλάρης Δ.², Καναβάρος Π.³ και Ε.
Κωλέττας¹**

¹Εργαστήριο Φυσιολογίας, Ιατρική σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων 45110 Ιωάννινα.
E-mail: ekoletas@cc.uoi.gr

²Βιολογικής Χημείας Ιατρική σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων 45110 Ιωάννινα.
E-mail: dgalaris@uoi.gr

, ³Ανατομίας & Ιστολογίας-Εμβρυολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων 45110
Ιωάννινα, E-mail: pkanavar@cc.uoi.gr

Το οξειδωτικό στρες αναφέρεται στην παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου, που προκαλούν βλάβες στο DNA, επάγοντας τη διακοπή του πολλαπλασιασμού ή απόπτωση ή/και τη νέκρωση των κυττάρων. Σε ανθρώπινα καρκινικά επιθηλιακά κύτταρα πνεύμονα A549 και ανθρώπινες τελομερισμένες ινοβλάστες πνεύμονα MRC-5 TERT, χορηγήθηκε υπεροξείδιο του υδρογόνου (H₂O₂) σε συγκεντρώσεις 0-1000 μM, και ετοποσίδιο/VP16 ή cis-πλατίνη (CPT) σε συγκεντρώσεις 0-50 μM για 24 ώρες. Οι επιδράσεις των παραγόντων πρόκλησης οξειδωτικού στρες μελετήθηκαν με κυτταρομετρία ροής, και αναλύθηκαν ολικά κυτταρικά εκχυλίσματα για την έκφραση των πρωτεϊνών που εμπλέκονται στη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της απόπτωσης με ανοσο-αποτύπωμα κατά western. Παρατηρήθηκαν δόσο-εξαρτώμενες μεταβολές της έκφρασης της κυκλίνης D1, μείωση της Cdc6 και επαγωγή της p53, καθώς επίσης και μείωση της έκφρασης της αντι-αποπτωτικής πρωτεΐνης Bcl-2 και αύξηση της προ-αποπτωτικής πρωτεΐνης Bax, στα κύτταρα επεξεργασμένα με τους παράγοντες πρόκλησης βλαβών στο DNA. Επειδή ο NF-κΒ επάγεται από οξειδωτικό στρες, κατασκευάστηκαν κύτταρα A549 στα οποία κατεστάλησαν τόσο η κανονική όσο και η μη-κανονική πορεία ενεργοποίησης του NFκΒ, είτε με χρήση ενός υπερκαταστολέα του NF-κΒ, IκBaSR, ή με αποσιώπηση της IKKα ή IKKβ, με RNAi. Στους διαφορετικούς κυτταρικούς πληθυσμούς χορηγήθηκαν H₂O₂, VP16 ή CPT και μελετήθηκαν οι επιδράσεις τους στον πολλαπλασιασμό και την απόπτωση των χημειο-ανθεκτικών κυττάρων A549.

Χρηματοδοτήθηκε στα πλαίσια ερευνητικών προγραμμάτων του ΠΕΝΕΔ 2003

THE ROLE OF NF-KB IN OXIDATIVE STRESS

Sfikas A.^{1,3}, Tselikou E.¹, Batsi C.¹, Galaris D.², Kanavaros P.³, and E. Kolettas¹

¹Laboratory of Physiology, University of Ioannina, Medical School, 45110 Ioannina.

E-mail: ekoletas@cc.uoi.gr

²Biological Chemistry, University of Ioannina, Medical School, 45110 Ioannina.

E-mail: dgalaris@uoi.gr

³Lab. of Anatomy, Histology & Embryology, University of Ioannina, Medical School, 45110 Ioannina.

E-mail: pkanavar@cc.uoi.gr

Oxidative stress is referred to the production of reactive oxygen species which induce DNA damage by cell proliferation arrest or apoptosis and/or necrosis. A549 human lung carcinoma cells and MRC-5 human telomerase lung fibroblasts were treated with hydrogen peroxide (H₂O₂) (concentrations 0-1000 μM) and etoposide/VP-16 or cis-platin (CPT) (concentrations 0-50 μM) for 24 hours. The effects of the factors inducing oxidative stress were analyzed by flow cytometry and protein extracts were analyzed by western blot for the expression of proteins involved in cell cycle and apoptosis. Dose- dependent alterations of cyclin D1 expression, decrease of Cdc6 expression induction of p53 protein, decrease of the anti-apoptotic Bcl-2 protein and increase of the pro-apoptotic bax protein were observed in cells treated by factors inducing DNA damage. Since NF-kB is induced by oxidative stress, A549 cells with suppressed the canonical or non- canonical pathway of NF-kB activation were constructed either using superrepressor IKBaSR or by silencing IKKα or IKKβ using RNAi. The various clones were treated by H₂O₂, VP-16 or CPT and their effects on the proliferation and the apoptosis of chemo-resistant A549 cells, were investigated.

This study was funded by PENED 2003.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΕΚΘΕΣΗΣ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ
ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ GSM900MHz ΚΙΝΗΤΩΝ ΤΗΛΕΦΩΝΩΝ ΣΤΗΝ
ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΔΙΠΤΕΡΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ *Drosophila virilis***

Σχίζα Δ., Κοκκαλιάρης Κ.Δ. και Λ.Χ. Μαργαρίτης

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας Ε.Κ.Π.Α.

Η συνεχής έκθεση σε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία που εκπέμπεται από κινητά τηλέφωνα ενδέχεται βραχυπρόθεσμα να προκαλεί μη αναστρέψιμες βλάβες σε κυτταρικό επίπεδο. Η Διεθνής Επιτροπή Προστασίας από την Μη Ιονίζουσα Ακτινοβολία, ICNIRP ,και ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας , WHO, έχουν θεσπίσει (1998) όρια «ασφαλούς» έκθεσης στην ακτινοβολία που εκπέμπεται από κινητά εντός των οποίων δεν εγκυμονούνται κίνδυνοι για την υγεία. Η παρούσα εργασία αποτελεί μια προσπάθεια διερεύνησης της επίδρασης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας σε ζωντανούς οργανισμούς με έκθεσή τους σε αυτή, εντός των θεσπισμένων ορίων. Για το σκοπό αυτό ως πειραματικό πρότυπο χρησιμοποιήθηκε το δίπτερο έντομο *Drosophila virilis* στο οποίο μελετήθηκε η επίδραση των ηλεκτρομαγνητικών παλμικών πεδίων της GSM ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας κινητών τηλεφώνων, με φέρουσα συχνότητα 900 MHz σε επίπεδο αναπαραγωγικής ικανότητας σε έντομα εκτεθειμένα για 6 και για 12 λεπτά ημερησίως για 7 μέρες. Επιπρόσθετα η παρούσα εργασία έχει πρόσφατα επεκταθεί και σε άλλα επίπεδα μελέτης της δράσης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας με χρήση ειδικών χρωστικών και τεχνικών μέσων που στοχεύουν στη διαπίστωση ανωμαλιών στα διάφορα στάδια της ωογένεσης στο Δίπτερο έντομο *D. virilis* προκαλούμενων από τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία. Τα μέχρι στιγμής αποτελέσματα έδειξαν επίδραση της ακτινοβολίας τόσο σε επίπεδο αναπαραγωγικής ικανότητας όσο και σε επίπεδο ωογένεσης και μάλιστα με δόσοεξαρθώμενο τρόπο. Για το λόγο αυτό κρίνεται απαραίτητη η περαιτέρω έρευνα στο θέμα με απώτερο στόχο την αναθεώρηση των ορίων ασφαλείας για μια ορθότερη χρήση των κινητών τηλεφώνων εφαρμόζοντας την «αρχή της προφύλαξης».

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς τον καθηγητή Λ.Χ. Μαργαρίτη

**EXPOSURE DEPENDENT EFFECT OF GSM900MHz MOBILE PHONE
RADIATION ON THE REPRODUCTION OF *DROSOPHILA VIRILIS***

Schiza D., Kokkaliaris C.D., and L.H. Margaritis

Dept of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, Athens University

Exposure of people to electromagnetic radiation emitted by mobile phones has been considered to cause short-term and long term non-reversible effects that have been studied so far at the cellular/molecular level and also epidemiologically. The *International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP)* and the *World Health Organization (WHO)* have established certain “safety” levels, within which electromagnetic radiation is not deemed to engrave dangers upon the users of mobile phones. This work is an attempt to validate whether the exposure within these established levels can be considered secure for public health. The accomplishment of the essay incorporates experiments on the reproductive capacity of the insect *Drosophila virilis* considering the effects caused by the exposure, for different periods of time, i.e. 6 min and 12 min per day for 7 days, to RF pulsive fields of GSM electromagnetic radiation emitted by mobile phones (having a carrier frequency at 900 MHz). Furthermore the current essay has been lately expanded on studying the effects using specific methods and technical means with the intention to ascertain whether the electromagnetic radiation can be reckoned for causing abnormalities during the oogenesis of *D. virilis*. The preliminary results suggest an overall effect (decrease) upon the reproductive capacity on an exposure time – dependent fashion. More work is in to progress to reveal the molecular mechanisms underlying the reproduction phenotype. The final goal is to propose ways for a safe use of the mobile phones applied the “precautionary principle”.

This work has been supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to Professor L.H. Margaritis

**ΤΟΠΙΚΗ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΤΗΣ ΥΔΑΤΙΚΗΣ ΚΑΤΑ-
ΠΟΝΗΣΗΣ ΣΤΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΦΩΤΟΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ II (PSII) ΣΤΗΝ
ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ ΚΥΛΙΝΔΡΙΣΜΕΝΩΝ ΦΥΛΛΩΝ ΤΟΥ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΟΥ
ΘΑΜΝΟΥ *Phlomis fruticosa*.**

Σώσιλου Γ. και Γ. Γραμματικόπουλος

Εργαστήριο Φυσιολογίας Φυτών, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών,
E-mail: grammati@upatras.gr

Η καταπόνηση της φωτοσυνθετικής συσκευής από την ξηρασία μελετάται εντατικά τις δύο τελευταίες δεκαετίες. Σε συνδυασμό με υψηλές εντάσεις φωτός η καταπόνηση εντείνεται, είτε μέσω βλαβών στο φωτοσύστημα II (PSII) είτε μέσω αναστολής των μηχανισμών επιδιόρθωσης των βλαβών αυτών. Στην παρούσα μελέτη προσπαθήσαμε να εκμεταλλευτούμε το φαινόμενο του κυλινδρισμού των φύλλων του μεσογειακού θάμνου *P. fruticosa* σε συνδυασμό με την νέα τεχνική “*Chlorophyll Fluorescence Imaging*” προκειμένου να επισημάνουμε τοπικές διαφορές της φωτο-συνθετικής λειτουργίας στην επιφάνεια ενός φύλλου που υφίσταται υδατική καταπόνηση και κυλινδρίζοντας δημιουργεί περιοχές προστατευμένες από τις υψηλές εντάσεις φωτός και άλλες εκτεθειμένες σε υψηλές εντάσεις φωτός. Τα πρώτα αποτελέσματα υποδεικνύουν αυξημένη φωτοπροστασία σε κυλινδρισμένα φύλλα σε σχέση με φύλλα στα οποία εμποδίστηκε τεχνητά ο κυλινδρισμός. Επιπλέον, διαφορές σε ειδικά φυσιολογικά χαρακτηριστικά του PSII (π.χ. σύλληψη ηλεκτρονίων ανά φωτοσυνθετικό κέντρο, ποσοστό ενεργών φωτοσυνθετικών κέντρων, απώλεια ενέργειας μέσω θερμότητας ανά φωτοσυνθετικό κέντρο, ικανότητα μεταφοράς των ηλεκτρονίων πέραν του Q_A, απόδοση ροής ηλεκτρονίων ανά φωτόνιο κ.λπ.) μεταξύ σκιασμένων και μη περιοχών στην επιφάνεια ενός φύλλου βρέθηκαν με την ανάλυση της ταχείας επαγωγής του φθορισμού της χλωροφύλλης από το σκοτάδι στο φώς (*fast fluorescence induction- OJIP curve*).

**LOCAL DIFFERENCES OF PHOTOSYSTEM II (PSII) FUNCTION UNDER
WATER STRESS ON CURLED LEAVES OF THE MEDITERRANEAN SHRUB
*Phlomis fruticosa***

Shoshilou G., and G. Grammatikopoulos

*Laboratory of Plant Physiology, Department of Biology, University of Patras,
E-mail: grammati@upatras.gr*

Drought effects on photosynthetic machinery has been thoroughly investigated for two decades. Coexisting high light intensities worsening water stress either through impairments on photosystem II (PSII) or with inhibition of the repairing mechanisms. In this study we took advantage of the rolling feature of the leaves of the Mediterranean shrub *P. fruticosa* under water stress and of the new chlorophyll fluorescence imaging technique, in order to map photosynthetic differences on a leaf surface. As leaf rolls some regions are shaded while others are exposed to high light intensities. Our results indicate increased photoprotection in curled leaves compared to leaves artificially flattened. Furthermore, differences in specific characteristics of PSII function (i.e. specific flux for electron trapping, concentration of active reaction centers, efficiency with which a trapped exciton can move an electron into the electron transport chain further than Q_A , quantum yield of electron transport etc.) were detected between shaded and exposed regions on the leaf surface. For this, we used analysis of the fast chlorophyll a fluorescence transient (OJIP curve).

ΓΗΡΑΝΣΗ ΚΑΙ ΤΟ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΟ ΙΣΟΖΥΓΙΟ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ**Ταβερναράκης Ν. ***

*Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας, Ίδρυμα Τεχνολογίας Έρευνας
Βασιλικά Βουνών, Τ.Θ. 1385, Ηράκλειο 71110, Κρήτη Τηλ: 2810-391066,
E-mail: tavernarakis@imbb.forth.gr*

Παρόλο που η γήρανση είναι ένα από τα πιο θεμελιώδη βιολογικά φαινόμενα, το οποίο βιώνουν όλοι ανεξαιρέτως οι έμβιοι οργανισμοί, είναι ταυτόχρονα και ένα από τα λιγότερο κατανοητά. Ποιοι μηχανισμοί είναι υπεύθυνοι για τη γήρανση των κυττάρων και κατ' επέκταση ολόκληρου του οργανισμού; Πως ελέγχονται; Χρησιμοποιώντας ως πειραματικό σύστημα το νηματώδες σκουλήκι *Caenorhabditis elegans*, μελετήσαμε το ρολό της πρωτεϊνοσύνθεσης στη διαδικασία της γήρανσης. Η μελέτη αυτή έδειξε ότι η σύνθεση πρωτεϊνών από το κύτταρο είναι στενά συνδεδεμένη με το ρυθμό με τον οποίο αυτό γερνά. Η πρωτεϊνοσύνθεση είναι μια εξαιρετικά ενεργοβόρα διαδικασία στην οποία το κύτταρο δαπανά περίπου το 50% της ενέργειας του. Ελάττωση της πρωτεϊνοσύνθεσης θα εξοικονομούσε ενέργεια που γίνεται πλέον διαθέσιμη για άλλες κυτταρικές διαδικασίες όπως η επιδιόρθωση βλαβών, αυξάνοντας έτσι την επιβίωση. Πράγματι, επεμβαίνοντας κατασταλτικά στη ρύθμιση της έναρξης της πρωτεϊνοσύνθεσης, είναι εφικτή η επιμήκυνση της διάρκειας ζωής του νηματώδη. Επειδή η διαδικασία της πρωτεϊνοσύνθεσης είναι εξαιρετικά όμοια ανάμεσα στο νηματώδη και σε ανώτερους οργανισμούς συμπεριλαμβανόμενου και του ανθρώπου, είναι πιθανό ότι θα υφίσταται η ίδια σχέση με τη γήρανση στους οργανισμούς αυτούς.

* Προσκεκλημένος ομιλητής

AGEING AND THE CELLULAR ENERGY EQUILIBRIUM

Tavernarakis N. *

*Institute of Molecular Biology and Biotechnology, Foundation for Research and Technology
– Hellas Vassilika Vouton, PO Box 1385, Heraklion GR 71110, Crete
Tel: +30 2810 391066, E-mail: tavernarakis@imbb.forth.gr*

Protein synthesis is a tightly regulated cellular process that affects growth, reproduction and survival in response to both intrinsic and extrinsic cues such as nutrient availability and energy levels. A pronounced age-related decline of total protein synthesis rate has been observed in many organisms, including humans. The molecular mechanisms underlying this decline and their role in the ageing process remain unclear. A series of recent studies in the nematode *Caenorhabditis elegans* have revealed a novel link between protein synthesis and ageing. Remarkably, these research findings, in their totality, converge to indicate that reduction of mRNA translation prolongs life in worms. Signal transduction cascades implicated in ageing, such as the insulin/IGF-1 pathway, interface with mechanisms regulating protein synthesis via a battery of key mRNA translation factors. Are the effects of these pathways on ageing mediated in part by alterations in protein synthesis? This is an intriguing possibility, in light of the latest discoveries. Whether attenuation of protein synthesis promotes longevity across different phyla is an additional important matter.

* *Invited speaker*

**ΑΠΟΤΟΞΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΑΠΟΒΛΗΤΟΥ ΔΙΦΑΣΙΚΟΥ ΕΛΑΙΟΤΡΙΒΕΙΟΥ ΜΕ
ΤΗΝ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΘΕΡΜΟΦΙΛΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *SPOROTRICHUM
THERMOPHILE***

**Ταλαμάγκας Α.Ε., Ανασοντζής Γ.Ε., Σταθοπούλου Π.Μ., Καραγκούνη Α.Δ.,
Χατζηνικολάου Δ.Γ.**

Ομάδα Μικροβιολογίας, Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθήνας,
Πανεπιστημιούπολη Ζωγράφου, 157 81 Ζωγράφου, Αττική
E-mail: xatzdim@biol.uoa.gr

Τα απόβλητα ελαιοτριβείων αποτελούν σημαντικό πρόβλημα για τις χώρες της Μεσογείου. Τα σύγχρονα συστήματα παραγωγής ελαιολάδου (διφασικά) παράγουν ένα στερεό απόβλητο υψηλής υγρασίας (alperujo). Παρόλη τη μείωση του όγκου σε σχέση με το τριφασικό σύστημα το πρόβλημα της διαχείρισης των αποβλήτων παραμένει. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η δυνατότητα ανάπτυξης στο απόβλητο διφασικού ελαιουργείου 2 διαφορετικών στελεχών μυκήτων με στόχο την παραγωγή ενζύμων βιοτεχνολογικού ενδιαφέροντος, με την ταυτόχρονη ελάττωση του ρυπαντικού φορτίου του αποβλήτου. Δοκιμάστηκαν ο θερμόφιλος μύκητας *Sporotrichum thermophile* (ATCC 28811) καθώς και ένα ενδογενές στέλεχος του *Penicillium chrysogenum*, με τον πρώτο να εμφανίζει πολύ καλύτερη ανάπτυξη, με αποτέλεσμα να επιλεγεί για τις επόμενες πειραματικές σειρές. Πραγματοποιήθηκε μια σειρά στερεών καλλιιεργειών στις οποίες εξετάστηκε η επίδραση διαφόρων παραμέτρων της διεργασίας τόσο στο ρυπαντικό φορτίο του αποβλήτου (BOD, οργανικό άζωτο, φαινολικό φορτίο, νιτρικά, νιτρώδη και φωσφορικά ιόντα) όσο και στην παραγωγή εξωκυτταρικών υδρολυτικών ενζύμων από το μύκητα. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν ήταν ιδιαίτερα ενθαρρυντικά, καθώς στις άριστες συνθήκες που προσδιορίστηκαν, επιτεύχθηκαν υψηλές ενζυμικές ενεργότητες με ταυτόχρονη ελάττωση του ρυπαντικού φορτίου του αποβλήτου σε ποσοστά που προσεγγίζουν το 58,2%.

**DETOXIFICATION OF SOLID OLIVE MILL WASTES USING THE
THERMOPHILIC FUNGUS *SPOROTRICHUM THERMOPHILE***

**Talamagas A.E., Anasontzis G.E., Stathopoulou P.M., Karagouni A.D.,
Hatzinikolaou D.G.**

*Microbiology Group, Sector of Botany, Department of Biology, University of Athens,
University Campus, 157 81 Zografou, Greece
E-mail: xatzdim@biol.uoa.gr*

Olive mill wastes represent a major environmental concern for the Mediterranean countries. Modern olive oil production systems (two-phase) produce a solid waste of high humidity (alperujo). Although waste volume is minimized, compared to the three-phase systems, the waste management still remains an unresolved problem. In this work, we evaluated the possibility to use this waste as a substrate for fungal growth aiming towards the production of high additive value products (enzymes) while, in parallel, reduce its polluting load. Two fungal strains were tested; *Sporotrichum thermophile* (ATCC 28811) and an endogenously isolated strain of *Penicillium chrysogenum*. The first one was able to grow better on the waste and as a result it was chosen for subsequent experiments. A series of solid state cultures were conducted, where we examined the effect of various process parameters on the waste polluting load (BOD, organic nitrogen, phenolic content, nitrates, nitrites and phosphates) as well as on the production of various hydrolytic enzymes. The results were very promising since, at the optimum conditions determined, high enzyme activities were obtained accompanied by significant reduction of the waste polluting load up to the level of 58,2%.

**Ο ΡΑΧΙΑΙΟΣ ΑΕΡΟΘΥΛΑΚΑΣ ΤΩΝ ΕΠΙΜΥΩΝ ΩΣ ΜΟΝΤΕΛΟ
ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗΣ ΤΟΥ ΑΡΘΡΙΚΟΥ ΥΜΕΝΑ****Τέστα Θ. και Μ. Γιάγκου***Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης & Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ*

Η πειραματική αρθρίτιδα (ΠΑ) θεωρείται το ζωικό μοντέλο της ρευματοειδούς αρθρίτιδας του ανθρώπου. Επάγεται στους επίμυς με χορήγηση ανοσοενισχυτικού του Freund (FCA) και χαρακτηρίζεται από ανάπτυξη φλεγμονής στις αρθρώσεις. Συνοδεύεται από αύξηση της συγκέντρωσης και αλλαγές του προτύπου γλυκοσυλίωσης της α1-όξινης γλυκοπρωτεΐνης (AGP). Η AGP είναι μία από τις κύριες πρωτεΐνες οξείας φάσης και παράγεται από το ήπαρ και τα κύτταρα του αίματος. Σε προηγούμενα πειράματα, διαπιστώθηκε ανοσοκατασταλτική δράση στην άρθρωση, περιφερική ανοσορύθμιση καθώς και συσχέτιση του προτύπου γλυκοσυλίωσής της με την πορεία ανάπτυξης της ΠΑ. Ο ραχιαίος αεροθύλακας αποτελεί ένα απομονωμένο και ταυτόχρονα οργανωμένο σύστημα αγγείωσης που επενδύεται εσωτερικά από στρώμα φαγοκυττάρων και προσομοιώνει τον αρθρικό υμένα. Παρ' όλα αυτά, η προσομοίωση αυτή αμφισβητήθηκε αφού δεν εντοπίστηκε κοκκιώδης φλεγμονώδης ιστός (pannus). Η ιστολογική ανάλυση που εφαρμόσαμε στον αεροθύλακα 20 ημέρες μετά τη χορήγηση FCA έδειξε την παρουσία κοκκιώδους φλεγμονώδους ιστού ανάλογου με αυτόν του αρθρικού αρθρικού υμένα. Ανάλυση κατά Western στο υπερκείμενο εξιδρώματος αεροθύλακα, εκχυλίσματα μεμβράνης και κοκκιώδους φλεγμονώδους ιστού μετά από χορήγηση FCA έδειξε αυξημένα επίπεδα της 40-44 KDa AGP. Αντίθετα, στο εκχύλισμα των κυττάρων του αεροθύλακα δεν εντοπίστηκε η 40-44 KDa μορφή της πρωτεΐνης παρά μόνο 20 ημέρες μετά τη χορήγηση FCA. Ακόμη περισσότερο, διερευνήθηκε κατά πόσο η έγχυση κυττάρων του αεροθύλακα στις αρθρώσεις την 7^η ημέρα της ΠΑ μπορεί να μεταβάλλει τα κλινικά συμπτώματα της νόσου. Παρατηρήσαμε επιτάχυνση τόσο της εμφάνισης όσο και της σοβαρότητας της ΠΑ ιδιαίτερα τις πρώτες 18 ημέρες μετά την επαγωγή της. Όλα τα παραπάνω δείχνουν ότι τα κύτταρα του αεροθύλακα που παράγουν AGP πιθανά να συμμετέχουν στο μηχανισμό ανάπτυξης ΠΑ στους επίμυς.

Η κ. Τέστα είναι υπότροφος του Ι.Κ.Υ.

RAT AIR POUCH AS A MODEL FOR THE SIMULATION OF THE ARTICULAR MEMBRANE

Testa T., and M. Yiangou

*Department of Genetics, Development & Molecular Biology, School of Biology, Aristotle University
of Thessaloniki*

Adjuvant arthritis (AA) is considered to be the animal model of rheumatoid arthritis in human. It is induced in rats by the administration of Freund's Complete Adjuvant (FCA) and is characterized by the development of inflammation in the joints. It is accompanied by the increase of the concentration and changes in the glycosylation pattern of α_1 -acid glycoprotein (AGP). AGP is a major acute phase protein produced by liver and blood cells. In previous experiments, immunosuppressive activity within the joint, peripheral immunoregulation and correlation of the glycosylation pattern of AGP to the development of AA were established. Rat air pouch is an isolated and well organized vascularisation system, internally consisted of phagocytes, that simulates the articular membrane. However, this simulation was questioned since no inflammatory granular tissue (pannus) was found. The histological analysis we applied in the air pouch 20 days after the administration of FCA revealed the presence of pannus comparable to that of the arthritic joint. Western blot analysis of the air pouch exudate supernatant, membrane and pannus extracts showed increased levels of 40-44 KDa AGP. On the contrary, 40-44 KDa AGP was not detected in air pouch cell extracts but only 20 days after the administration of FCA. In addition, it was studied whether the infusion of air pouch cells in the joints by day 7 of AA could lead to the alteration of the clinical symptoms of the disease. We observed acceleration both of the onset and severity of AA during the first 18 days post induction. All the above data show that air pouch cells that produce AGP may potentially participate in the development of AA in rats.

Ms Testa is a recipient of a State Scholarships Foundation Fellowship.

**ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΜΕ WESTERN BLOTTING ΤΩΝ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΥΛΙΩ-
ΜΕΝΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΠΟΥ ΕΠΑΓΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟ ΚΑΔΜΙΟ ΚΑΙ ΤΟΝ
ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟ ΣΕ ΑΙΜΟΚΥΤΤΑΡΑ ΜΥΔΙΟΥ**

Τζέλου Α., Πατετσίνη Ε., Νταϊλιάνης Σ. και Μ. Καλογιάννη

*Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας Α.Π.Θ.,
Θεσ/νίκη 541 24*

Το οξειδωτικό stress χαρακτηρίζεται από την παρουσία ελευθέρων ριζών (ROS) οι οποίες παράγονται συνεχώς στους ιστούς των ζώων από ενδοκυτταρικές διαδικασίες ή μετά από την έκθεσή τους σε βαρέα μέταλλα. Έκθεση σε ROS οδηγεί σε τροποποίηση των πρωτεϊνών, όπως στη γλουταθειονυλίωσή τους. Το τελευταίο ίσως λειτουργεί ως μία προστατευτική στρατηγική, για να καλυφθούν οι σουλφυδρυλικές ομάδες ώσπου να ξεπεραστεί το οξειδωτικό stress. Στην παρούσα ανακοίνωση ανιχνεύτηκε με western blotting το σηματοδοτικό μονοπάτι που συμμετέχει στην παραγωγή γλουταθειονυλιωμένων πρωτεϊνών και την επαγωγή της ακτίνης σε αιμοκύτταρα του μυδιού *Mytilus galloprovincialis* μετά την έκθεσή τους σε κάδμιο (Cd) ή ψευδάργυρο (Zn). Συγκεκριμένα τα αιμοκύτταρα επωάστηκαν για 3 ώρες παρουσία 50 μM ZnCl_2 ή 5 μM CdCl_2 μαζί με ένα από τα παρακάτω υποσטרώματα: forskolin 0,01 mM, ενεργοποιητή της αδενυλικής κυκλάσης, cariporide 2 μM , αναστολέα του ανταλλάκτη $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ (NHE), rotenone 25 μM , αναστολέα της μεταφοράς ηλεκτρονίων, N-Acetyl-L-cystein (NAC) 10 mM, αντιοξειδωτικού παράγοντα, wortmannin 50 nM, αναστολέα της κινάσης της φωσφορικής ινοσιτόλης (PI3K), diphenyleneiodonium chloride (DPI) 10 μM , αναστολέα της NADPH οξειδάσης, GF-109203X 11 μM , αναστολέα όλων των ισομορφών της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC), L - NAME 10 μM , αναστολέα της σύνθεσης του οξειδίου του αζώτου (NO) και της cytochalasin - D 2 μM , αναστολέα του πολυμερισμού της ακτίνης. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι 1) επάγεται η γλουταθειονυλίωση των πρωτεϊνών στα αιμοκύτταρα του μυδιού σε απόκριση στα βαρέα μέταλλα Cd και Zn, στο κυκλικό AMP (cAMP) και στο οξειδωτικό stress 2) η ακτίνη είναι ο κύριος στόχος της γλουταθειονυλίωσης, ώστε πιθανά να μπορεί να «ανιχνεύει» ο κυττοσκελετός τις αλλαγές στο οξειδο-αναγωγικό στάδιο του κυττάρου και 3) στη διαδικασία της γλουταθειονυλίωσης των πρωτεϊνών και της επαγωγής της ακτίνης συμμετέχουν τα εξής σηματοδοτικά μόρια: οι ελεύθερες ρίζες (ROS), το κυκλικό AMP (cAMP), η PKC, η PI3K, ο NHE και ο κυττοσκελετός.

**DETECTION BY WESTERN BLOTTING OF GLUTATHIONYLATED PROTEINS
INDUCED BY CADMIUM AND ZINC IN HAEMOCYTES OF MUSSELS**

Tzelou A., Patetsini E., Dailianis S., and M. Kaloyianni

*Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle
University, Thessaloniki 541 24*

Oxidative stress poses a fundamental challenge to living cells because reactive oxygen species (ROS) are highly toxic and can be routinely generated by intracellular processes, or exposure to metals. Exposure to ROS is known to cause modifications of proteins such as their glutathionylation. The latter serves as a protective strategy to mask sulphhydryl groups until oxidative stress is overcome. In the present communication the signaling mechanism that leads to the production of glutathionylated proteins and actin induction in haemocytes of the mussel *Mytilus galloprovincialis* after their exposure either to cadmium (Cd) or to zinc (Zn) was detected by western blotting. In specific, haemocytes were incubated for 3 hr in the presence of 5 μ M of CdCl₂ or 50 μ M of Zn together with either forskolin, an adenylate cyclase activator, or cariporide, a Na⁺-H⁺ exchanger (NHE) inhibitor, or rotenone, an electron transfer inhibitor, or wortmanin, an inositol phosphate kinase (PI3K) inhibitor, or diphenyleneiodonium chloride, a NADPH oxidase inhibitor, or GF, a protein kinase C (PKC) inhibitor, or L-NAME, a nitric oxide synthase inhibitor or cytochasin D, an actin polymerization inhibitor. Our results showed that: 1) glutathionylation can occur in proteins of haemocytes of mussels in response to heavy metals Cd and Zn, cyclic AMP (cAMP) and oxidative stress 2) actin is the major target of glutathionylation and thus may provide an important means for the cytoskeleton to sense altered redox status and 3) in the process of glutathionylation participate the following signaling molecules: reactive oxygen species (ROS), cAMP, PKC, PI3K, NHE and the cytoskeleton.

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ AMBER ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΓΙΑ ΜΕΘΥΛΙΩΜΕΝΑ ΑΜΙΝΟΞΕΑ

Τζιάτζος Γ.Κ.¹, Παπαγεωργίου Δ.Γ.²

Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Υλικών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, ΤΘ 1186, 45110
Ιωάννινα. ¹E-mail: gtziatzo@cc.uoi.gr ²E-mail: dpapageo@cc.uoi.gr

Παρουσιάζουμε ένα σύνολο συνεπών παραμέτρων AMBER για τα μεθυλιωμένα αμινοξέα λυσίνη και αργινίνη. Τέτοια τροποποιημένα αμινοξέα εμφανίζονται στις ιστονικές ουρές του νουκλεοσώματος και επηρεάζουν τις λειτουργίες του όπως πακετάρισμα του DNA και μεταγραφή των γονιδίων. Συγκεκριμένα εξετάσαμε τις περιπτώσεις i) μεθυλιωμένης λυσίνης, ii) διμεθυλιωμένης λυσίνης, iii) τριμεθυλιωμένης λυσίνης, iv) μεθυλιωμένης αργινίνης και v) διμεθυλιωμένης αργινίνης. Τα μερικά ατομικά φορτία υπολογίστηκαν εφαρμόζοντας τη μέθοδο της προσαρμογής του ηλεκτροστατικού δυναμικού, σε μοντέλα συστημάτων που αποτελούνταν από το τροποποιημένο αμινοξύ τερματισμένο με ακετυλο- και N-μεθυλο- ομάδες. Σε κάθε περίπτωση λήφθηκαν υπόψη δύο διαφορετικές πεπτιδικές διαμορφώσεις, η α-ελικοειδής και η β-εκτεταμένη διαμόρφωση. Για να επιβεβαιωθούν οι παράμετροι που λήφθηκαν έγιναν γεωμετρικές ελαχιστοποιήσεις καθώς και προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής. Τα αρχεία παραμέτρων είναι διαθέσιμα σε μορφή Leap.

Η παρούσα έρευνα υποστηρίζεται από τη Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας μέσω του προγράμματος ΠΕΝΕΔ 2003.

AMBER MOLECULAR MECHANICS PARAMETERS FOR METHYLATED AMINO ACIDS

Tziatzos G.K.¹, Papageorgiou D.G.²

Dept. of Materials Science and Engineering, Univ. of Ioannina, POB 1186, 45110 Ioannina, Greece.

¹E-mail: gtziatzo@cc.uoi.gr; ²E-mail: dpapageo@cc.uoi.gr

We present a consistent set of AMBER force-field parameters for the methylated amino acids lysine and arginine. Such modified amino acids commonly occur in the histonic tails of the nucleosome and affect its functions such as DNA packing and gene transcription. More specifically, we consider the cases of i) methylated lysine, ii) dimethylated lysine, iii) trimethylated lysine, iv) methylated arginine and v) dimethylated arginine. Partial atomic charges were calculated by applying the restrained electrostatic potential fitting method in model systems consisting of the modified amino acid residue blocked by acetyl- and N-methyl groups. In each case two different peptide conformations were taken into account, the α -helical and β -strand conformations. Geometry optimizations and molecular dynamics simulations are employed in order to validate the resulting parameters. Parameter files in Leap format are made available.

This work is supported by the General Secretariat for Research and Technology through a PENED 2003 grant.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ BRI2 ΚΑΙ ADAM10

Τόλη Ν., Τσαχάκη Μ., Ευθυμιόπουλος Σ.

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 157 84
Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσσια, Αθήνα*

Η νευροεκφυλιστική νόσος Alzheimer χαρακτηρίζεται, μεταξύ άλλων, από την παρουσία αμυλοειδών πλακών στον εγκέφαλο, κύριο συστατικό των οποίων είναι το πεπτίδιο Αβ. Το πεπτίδιο αυτό σχηματίζεται κατά τη διαδοχική πρωτεόλυση της πρόδρομης πρωτεΐνης του αμυλοειδούς (APP, Amyloid Precursor Protein) από τη β- και τη γ-εκκριτάση (αμυλοειδογενές μονοπάτι). Εναλλακτικά, η APP μπορεί να πρωτεολυθεί από την α- και ακολούθως από τη γ-εκκριτάση, οπότε δε σχηματίζεται το πεπτίδιο Αβ (μη αμυλοειδογενές μονοπάτι). Κατά το μη αμυλοειδογενές μονοπάτι σχηματίζονται το διαλυτό τμήμα sAPPα και το μεμβρανοσυνδεδεμένο τμήμα CTFα. Η πρωτεΐνη ADAM10 είναι η κύρια υποψήφια α-εκκριτάση. Η BRI2 είναι μια πρωτεΐνη γενετικές μεταλλάξεις της οποία εμπλέκονται στις κληρονομικές άνοιες Βρετανίας και Δανίας. Δεδομένου ότι στο παρελθόν έχουμε δείξει ότι η BRI2 αλληλεπιδρά με την APP και μειώνει την πρωτεόλυσή της από την α-εκκριτάση, θελήσαμε να διερευνήσουμε αν η BRI2 ασκεί αυτή την επίδραση μέσω της αλληλεπίδρασής της με την ADAM10. Με πειράματα ανοσοκατακρήμνισης δείξαμε ότι η BRI2 αλληλεπιδρά ειδικά με την ADAM10. Σε αντίστοιχα πειράματα ανοσοκατακρήμνισης, στα οποία χρησιμοποιήθηκαν μοριακές κατασκευές της BRI2 που παρουσίαζαν έλλειψη των αμινοξέων 1 έως 46, 75 έως 106 και 107 έως 266, δείχθηκε ότι οι παραπάνω περιοχές της BRI2 δεν εμπλέκονται στην αλληλεπίδρασή της με την ADAM10. Όπως προαναφέρθηκε, η BRI2 επηρεάζει το μεταβολισμό της APP μέσω του μη αμυλοειδογενούς μονοπατιού προκαλώντας μείωση του CTFα. Παράλληλα, προκαλεί αύξηση ενός άγνωστου καρβοξυτελικού τμήματος (CTFx). Σε πείραμα στο οποίο συνεκφράστηκαν οι πρωτεΐνες APP, BRI2 και ADAM10 παρατηρήθηκε μείωση του CTFα και αύξηση του CTFx. Το αποτέλεσμα αυτό δείχνει ότι πιθανόν η BRI2 και η ADAM10 έχουν ανταγωνιστικές δράσεις ως προς την πρωτεόλυση της APP και ότι η επίδραση της BRI2 στο μεταβολισμό της APP επικρατεί σε σχέση με την επίδραση της ADAM10.

*Αυτή η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από το Εμπειρικό Ιδρυμα.
Η Μαρία Τσαχάκη είναι υπότροφος του Ιδρύματος Κρατικών Υποτροφιών.*

STUDY OF BRI2-ADAM10 INTERACTION

Toli D., Tsachaki M., Efthimiopoulos S.

*Department of Biology, Division of Animal and Human Physiology, University of Athens, 157 84
Panepistimiopolis, Ilisia, Greece*

Alzheimer's disease is the most common form of cerebral dementia. It is characterized by the deposition of extracellular amyloid plaques, which are primarily composed of the A β peptide. A β peptide is released after proteolytic processing of the amyloid precursor protein, APP, by β -secretase and subsequently by γ -secretase (amyloidogenic pathway). Alternatively, APP can undergo proteolysis by α -secretase and subsequently by γ -secretase. This non-amyloidogenic pathway results in the formation of a soluble fragment, sAPP α and a membrane-bound fragment, CTF α , and it precludes the formation of the A β peptide. The major candidate for α -secretase is ADAM10. We investigated whether ADAM10 interacts with BRI2, a protein involved in familial British and Danish dementia. These neurodegenerative diseases are characterised by the accumulation in the brain of the ABri and ADan peptides respectively, which are released as a result of the proteolysis of mutated forms of the BRI2 protein. Given that, in the past, we have shown that BRI2 interacts with APP and reduces its proteolysis by α -secretase, we decide to examine whether this effect is mediated by its interaction with ADAM10. By immunoprecipitation experiments we showed that BRI2 interacts specifically with ADAM10. Further immunoprecipitation experiments, in which we used BRI2 constructs lacking aminoacids 1-46, 75-106 and 107-266 showed that these regions of BRI2 are not involved in its interaction with ADAM10. As mentioned before, BRI2 affects APP metabolism through the non-amyloidogenic pathway, reducing CTF α production. At the same time, BRI2 increases the production of another unknown carboxyterminal peptide (CTFx). On the contrary, ADAM10 increases APP proteolysis through the non-amyloidogenic pathway. Coexpression of BRI2, ADAM10 and APP resulted in a decrease in CTF α levels and an increase in CTFx levels. This result indicates that BRI2 and ADAM10 have antagonistic effects on APP proteolysis and that the effect of BRI2 on APP metabolism prevails as compared to the effect of ADAM10 on APP metabolism

*This research was funded by a grant from Embeirikeion Foundation.
Maria Tsachaki has a scholarship from the State Scholarships Foundation.*

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΨΑΡΙΩΝ ΤΗΣ ΛΙΜΝΗΣ ΚΕΡΚΙΝΗΣ

Τριανταφυλλίδης Α.¹, Μπόμπορη Δ.², Γκμπάντι Ε.¹, Κολιαμήτρα Χ.¹,

¹Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, ²Τομέας Ζωολογίας
Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Σκοπός της παρούσας έρευνας ήταν η δημιουργία γενετικής βάσης δεδομένων για τα είδη ψαριών της λίμνης Κερκίνης στο πλαίσιο μιας ευρύτερης προσπάθειας γενετικής ταυτοποίησης όλων των ειδών που απαρτίζουν την ιχθυοπανίδα των εσωτερικών νερών της Ελλάδας. Για το σκοπό αυτό συλλέχθηκαν 50 άτομα ψαριών από τη λίμνη Κερκίνη, την περίοδο 2007 - 2008, τα οποία ανήκαν σε 10 διαφορετικά είδη. Έγινε απομόνωση DNA από τον μυϊκό ιστό του κάθε ατόμου, ενίσχυση μιτοχονδριακού τμήματος με τη μέθοδο της PCR και ακολούθησε η αλληλούχισή του. Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 30 ακολουθίες. Η αλληλούχιση περιελάμβανε τμήμα μιτοχονδριακού DNA, μήκους περίπου 655 bp της υπομονάδας I του γονιδίου οξειδάσης του κυτοχρώματος c (cox I). Η συγκεκριμένη περιοχή επιλέχθηκε μεταξύ άλλων, λόγω της επαρκούς διαειδικής ποικιλομορφίας της, η οποία επιτρέπει τη διάκριση των ειδών μεταξύ τους, χωρίς να δυσχεραίνει την ομαδοποίηση των διαφορετικών ατόμων του ίδιου είδους. Τα αποτελέσματα επεξεργάστηκαν στατιστικά για την κατασκευή φυλογενετικών δέντρων και τον υπολογισμό γενετικών αποστάσεων. Τέλος, συγκρίθηκαν με δεδομένα αλληλούχισης ειδών από τις λίμνες Βόλβη και Δοϊράνη.

DNA BARCODING FISH SPECIES IN LAKE KERKINI

Triantafyllidis A.¹, Bobori D.², Gbandi E.¹, Koliamitra C.¹

*¹Department of Genetics, Development & Molecular Biology, ²Department of Zoology
School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki*

The purpose of the present work is the construction of a genetic database of the fish species of Lake Kerkini. This is embedded in the wider context of DNA barcoding of all fish species comprising the Greek freshwater ichthyofauna. To this end, 50 individuals were collected from lake Kerkini (during the years 2007- 2008) representing 10 out of the 13 species present in the lake. DNA was isolated from tissue subsamples, amplified by PCR and subsequently sequenced. In the present work 30 sequences were obtained. The region amplified corresponds to a 655 bp fragment of the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (*cox1*). This specific region was selected among others, due to its sufficient interspecies diversity, which allows discrimination of different species and does not obstruct identification of samples that belong to same species. Results were further analyzed to calculate genetic distances and construct phylogenetic trees. Results were also compared to previous work on fish species populations of lakes Doirani and Volvi.

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΟΥ ΓΛΗΝΙΟΥ (*Tinca tinca*)

Τριανταφυλλίδης Α.¹, Αντωνοπούλου Ε.², Καλαφατάκης Σ.¹, Μάρκου Κ.¹

¹Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, E-mail: atriant@bio.auth.gr

²Τομέας Ζωολογίας, E-mail: eantono@bio.auth.gr

Τμήμα Βιολογίας Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη

Το γλίνι, *Tinca tinca*, ανήκει στην οικογένεια των Cyprinidae που περιλαμβάνει 2010 είδη (Nelson, 1994) με Ευρασιατική εξάπλωση. Στην παρούσα έρευνα μελετήθηκε η γενετική δομή του γλινιού σε 30 δείγματα από πέντε Ευρωπαϊκούς πληθυσμούς από Αγγλία, Ελλάδα, Ισπανία, Ρουμανία και Τσεχία. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη μελέτη της πρωτοταγούς αλληλουχίας του μιτοχονδριακού DNA. DNA απομονώθηκε από δείγματα μυός και χρησιμοποιήθηκε σε αντιδράσεις PCR που ενισχύουν τρεις περιοχές του mtDNA. Η πρώτη περιλαμβάνει την περιοχή εκτόπισης βρόχου (D-loop, 1067 ζ.β.), η δεύτερη τμήμα του γονιδίου για την υπομονάδα 1 της οξειδάσης του κυτοχρώματος c (COX-I, 650 ζ.β.) και η τρίτη τμήμα του γονιδίου του κυτοχρώματος b (cyt-b, 664 ζ.β.). Στη συνέχεια, τα προϊόντα της PCR αλληλουχήθηκαν. Οι αλληλουχίες ευθυγραμμίσθηκαν και ακολούθως παρατηρήθηκαν τυχόν πολυμορφισμοί και σημειακές μεταλλάξεις. Συνολικά αναλύθηκαν 1665 ζεύγη βάσεων. Παρατηρήθηκαν 21, 10 και πέντε πολυμορφικές θέσεις στις περιοχές D-loop, COX-I και cyt-b αντιστοίχως. Το φαινόμενο αυτό εξηγείται από τον υψηλό ρυθμό μεταλλαξιγένεσης που εμφανίζει η περιοχή D-loop σε σύγκριση με τα γονίδια COX-I και cyt-b. Τα συμπεράσματα που εξάγονται από την ανάλυση των μιτοχονδριακών απλοτύπων, δείχνουν ομαδοποίηση των πληθυσμών της Αγγλίας και της Ελλάδας, από τη μια, και των πληθυσμών της Ρουμανίας, της Τσεχίας και της Ισπανίας, από την άλλη, με τον πληθυσμό της Ισπανίας να εμφανίζει κάποιους μοναδικούς απλοτύπους. Τα αποτελέσματα και στις τρεις μιτοχονδριακές περιοχές συμφωνούν μεταξύ τους. Η εργασία θα συνεχιστεί με ανάλυση περισσότερων δειγμάτων ανά περιοχή.

GENETIC ANALYSIS OF *TINCA TINCA* POPULATIONS

Triantafyllidis A.¹, Antonopoulou E.², Kalafatakis S.¹, Markou K.¹

¹Department of Genetics, Development & Mol. Biology, E-mail: atriant@bio.auth.gr

²Department of Zoology, E-mail: eantono@bio.auth.gr

School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki

Tinca tinca belongs to the Cyprinidae family which comprises 2010 species (Nelson, 1994) with a Eurasian distribution. The purpose of the present work was to study the genetic structure of *Tinca tinca* in 30 samples from five European populations: England, Greece, Spain, Romania and Czech Republic based on sequencing of mitochondrial DNA. DNA was extracted from muscle tissue and then used in three PCR reactions amplifying three different mtDNA regions. The first comprises the D-loop region (1067 b.p.), the second a part of the cytochrome c oxidase subunit I gene (COX1, 650 b.p.) and the third one part of cytochrome b (cyt-b, 664 b.p.). PCR products were sequenced. The sequences were aligned and observed for genetic polymorphisms. In total 1665 base pairs were analyzed. We observed 21, 10 and 6 point mutations in the regions D-loop, COXI and cyt-b, respectively. This phenomenon is explained by the fact that higher mutation rates are characteristic of the D-loop region compared to the genes COXI and cyt-b. The analysis of mitochondrial haplotypes groups the populations of England and Greece, on one hand, and populations of Romania, Czech Republic and Spain, on the other hand, with the population of Spain presenting unique haplotypes. Conclusions based on the three mitochondrial regions separately are generally in agreement. This work will be continued with further analysis of additional samples per region.

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΤΟΥ CYP1B1 ΜΕ ΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ, ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ ΚΑΙ ΤΩΝ ΩΟΘΗΚΩΝ

Τριβήλου Ε., Κάργας Β., Ιωαννίδης Α. και Μπάγκος Π.Γ.

*Τμήμα Πληροφορικής με Εφαρμογές στην Βιοιατρική, Πανεπιστήμιο Στερεάς
Ελλάδας, Παπασιοπούλου 2-4, Λαμία 35100 E-Mail: pbagos@ucg.gr*

Το γονίδιο CYP1B1 κωδικοποιεί την πρωτεΐνη P450, που εμπλέκεται στην υδροξυλίωση των οιστρογόνων σε 4-OH-οιστρογόνα. Βρίσκεται στο χρωμόσωμα 2p21-22 και αποτελείται από τρία εξόνια. Ορισμένοι πολυμορφισμοί του CYP1B1 έχουν κατά καιρούς συσχετιστεί με διάφορες μορφές καρκίνου, μεταξύ των οποίων είναι ο καρκίνος του προστάτη, του ενδομητρίου και των ωοθηκών. Στην παρούσα μελέτη συγκεντρώσαμε και πραγματοποιήσαμε μετά-ανάλυση όλων των βιβλιογραφικών δεδομένων που συσχετίζουν τους πολυμορφισμούς του CYP1B1 με τους παραπάνω καρκίνους. Στη μελέτη μας συμπεριλήφθηκαν 8 μελέτες για το καρκίνο του προστάτη με συνολικά 3237 ασθενείς και 2808 υγιή άτομα (μάρτυρες), 6 μελέτες για τον καρκίνο του ενδομητρίου με συνολικά 2734 ασθενείς και 4099 υγιή άτομα (μάρτυρες) και 4 μελέτες για τον καρκίνο των ωοθηκών με συνολικά 1165 ασθενείς και 1618 υγιή άτομα (μάρτυρες). Οι πολυμορφισμοί που μας απασχόλησαν ήταν: για το εσώνιο 1 ο 13 (C→T) (2 μελέτες για τον καρκίνο του προστάτη) για το εξόνιο 2 ο 48 (C→G) που οδηγεί σε αντικατάσταση Ala→Ser (4 μελέτες για τον καρκίνο του προστάτη, 3 για το ενδομήτριο, και 2 για τις ωοθήκες αντίστοιχα) και ο 119 (G→T) που οδηγεί στην αντικατάσταση Asn→Ser (4 μελέτες για τον καρκίνο του προστάτη, 3 για το ενδομήτριο και 2 για τις ωοθήκες αντίστοιχα) και για το εξόνιο 3 ο 432 (C→G) που οδηγεί στην αντικατάσταση Leu→Val (8 μελέτες για τον καρκίνο του προστάτη, 6 για το ενδομήτριο, και 4 για τις ωοθήκες αντίστοιχα), ο 453 (A→G) που οδηγεί στην αντικατάσταση Arg→Gly (4 μελέτες για τον καρκίνο του προστάτη και 2 για τον καρκίνο του ενδομητρίου) και ο 449 (C→T) που δεν οδηγεί σε αντικατάσταση αμινοξέος (2 μελέτες για τον καρκίνο του ενδομητρίου). Ασθενείς συσχετίσεις βρέθηκαν για τον πολυμορφισμό Asn453Ser και Leu432Arg με τον καρκίνο του ενδομητρίου καθώς και για τον Arg48Gly και Asn453Ser με τον καρκίνο του προστάτη.

CORRELATION BETWEEN CYP1B1 POLYMORPHISMS AND THE RISK OF PROSTATE, ENDOMETRIAL AND OVARIAN CANCER

Trivilou E., Kargas V., Ioannidis A. and Bagos P.G.

*Department of Informatics with Applications in Biomedicine, University of Central Greece,
Papasiopoulou 2-4, Lamia, 35100 E-mail: pbagos@ucg.gr*

CYP1B1 encodes for cytochrome P450, which is involved in hydroxylation of estrogens to 4-OH-estrogens. CYP1B1 is located in chromosome 2p21-22 and is composed of 3 exons. Various single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the CYP1B1 gene have been implicated in susceptibility to various forms of cancer, such as prostate, endometrial and ovarian cancer. We conducted here, a meta-analysis to evaluate the association of CYP1B1 variants with the above-mentioned forms of cancer. We identified 8 eligible studies for prostate cancer, 6 for endometrial and 4 for ovarian, which included 3237 cases and 2808 healthy controls, 2734 cases and 4099 healthy controls and 1122 cases and 1607 healthy controls respectively. The polymorphisms of interest were: the 13(C→T) intron 1 polymorphism (2 studies for prostate cancer), the 48(C→G) polymorphism that results in substitution Ala→Ser (4 studies for prostate, 3 for endometrial and 2 for ovarian cancer), the 119(G→T) polymorphism that results in substitution Asn→Ser (4 studies for prostate, 3 for endometrial and 2 for ovarian cancer), the 432(C→G) polymorphism that results in substitution Leu→Val (8 studies for prostate, 6 for endometrial and 4 for ovarian cancer), the 453(A→G) polymorphism that results in substitution Arg→Gly (4 studies for prostate and 2 for endometrial cancer) and the 449(C→T) polymorphism that does not result in amino acid substitution (2 studies for prostate and 2 for endometrial cancer). Weak associations were found between the Asn453Ser and Leu432Arg polymorphisms with endometrial cancer and between the Arg48Gly and Asn453Ser polymorphisms with prostate cancer.

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΣΧΕΣΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΠΥΡΗΝΩΝ ΠΟΥ
ΕΠΑΓΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΕΝΩΣΗ ΔΟΞΟΡΟΥΒΙΚΙΝΗ ΣΤΗΝ
ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΣΕΙΡΑ ΠΟΝΤΙΚΟΥ C₂C₁₂**

Τροχούτσου Α., Ευθυμίου Μ., Στεφάνου Γ., Δημόπουλος Ν.Α.

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 265 00 Πάτρα. E-mail: geosteph@biology.upatras.gr

Η απόπτωση παρέχει ένα ζωτικής σημασίας έλεγχο του συνολικού αριθμού των κυττάρων σ' έναν οργανισμό. Η δοξορουβικίνη είναι ένα ανθρακυκλικό αντιβιοτικό με αντικαρκινική δράση που εκδηλώνεται μέσω μηχανισμών μεταξύ των οποίων η απόπτωση και οι γενετικές αλλαγές. Μελετήθηκε η σχέση επαγωγής απόπτωσης και μικροπυρήνων (MN) που προκαλούνται από τη δοξορουβικίνη στη κυτταρική σειρά ποντικού C₂C₁₂. Οι MN είναι γενετικό υλικό ευρισκόμενο εκτός του κύριου πυρήνα και προέρχονται από χρωμοσωματική θραύση ή/και χρωμοσωματική καθυστέρηση. Η επαγωγή απόπτωσης εξετάστηκε με διπλή χρώση ANNEXIN V/PI και των μικροπυρήνων με χρώση DAPI. Η δοξορουβικίνη προκαλεί αυξημένα ποσοστά αποπτωτικών κυττάρων που ακολουθούν την αύξηση της συγκέντρωσης. Αντίθετα, παρατηρήθηκαν αυξημένες συχνότητες μικροπυρήνων σε χαμηλές συγκεντρώσεις της ένωσης, οι οποίες με αύξηση της συγκέντρωσης ακολουθούν πτωτική τάση. Φαίνεται ότι η αύξηση της απόπτωσης σχετίζεται με μείωση της συχνότητας των μικροπυρήνων, υποδεικνύοντας την συμμετοχή της απόπτωσης στον περιορισμό των κυττάρων, τα οποία έχουν υποστεί γενετική βλάβη, που εκφράζεται με την εμφάνιση των μικροπυρήνων. Μελετήθηκε ο μηχανισμός προέλευσης των μικροπυρήνων με σήμανση της περιοχής του κινητοχώρου, με την ανοσοχημική μέθοδο CREST. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι η δοξορουβικίνη επάγει τη χρωμοσωματική θραύση και σε μικρότερο βαθμό τη χρωμοσωματική καθυστέρηση. Η ανευπλοειδογόνος ιδιότητα της ένωσης διερευνήθηκε περαιτέρω μέσω της ανάλυσης της ακεραιότητας της μιτωτικής συσκευής, με τη μέθοδο του διπλού ανοσοφθορισμού για τη β- και τη γ- τουμπουλίνη. Από την ανωτέρω μελέτη προέκυψε ότι η δοξορουβικίνη προκαλεί τη δημιουργία ανώμαλων μεταφάσεων και τροποποιεί τον αριθμό των κεντροσωμάτων, φαινόμενα που σχετίζονται με λανθασμένο χρωμοσωματικό αποχωρισμό.

**STUDY OF THE RELATIONSHIP BETWEEN APOPTOSIS AND
MICRONUCLEATED CELLS INDUCED BY THE ANTICANCER DRUG
DOXORUBICIN ON THE MOUSE CELL LINE C₂C₁₂**

Trochoutsou K., Efthimiou M., Stephanou Γ., Demopoulos N.A.

Department of Biology, University of Patras, 265 00 Patras, Greece

E-mail: geosteph@biology.upatras.gr

Apoptosis provides an important cell control mechanism. Doxorubicin (DOX) is one of the most widely used anticancer drugs due to its broad spectrum of antitumor activity. It belongs to the family of anthracyclines. Various mechanisms have been proposed for its cytostatic activity, including induction of apoptosis and genetic alterations. The aim of this study is to investigate the relationship between apoptosis and genetic damage induced by DOX in C₂C₁₂ mouse cell line. Genetic damage was evaluated by studying the micronucleus (MN) frequency. MNi are generated during cell division and consist of genetic material that has not been incorporated into the main nucleus. They originate from chromosome breakage and/or chromosome loss during the anaphase of meiosis or mitosis. Induction of apoptosis was examined by double fluorescence staining of ANNEXIN V/PI and the MN frequency by DAPI staining. Our results showed that DOX is able to cause apoptosis in a dose-response manner. Increased frequencies of MNi were also observed but contrary to what was observed in relation to apoptosis induction, a decrease of MN frequency was seen with the increase of compound concentration. It is assumed that apoptosis induced in C₂C₁₂ cells by doxorubicin treatment is related with decreased micronucleus frequency, an indication that apoptosis is involved in the elimination of the micronucleated cells. The mechanism by which MNi are induced was investigated by kinetochore labeling, using the immunocytochemical method CREST. The results showed that DOX induced MNi, are mainly formed due to chromosome breakage and in a lesser extent due to chromosome loss. Based on this observation, the aneuploid capacity of the compound was further investigated by analyzing the integrity of the mitotic apparatus, using double immunofluorescence staining of β - and γ - tubulin. It was shown that DOX provoked high abnormal metaphase figures and abnormal centrosome numbers, phenomena which are related with abnormal chromosome segregation.

**IN VITRO ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΟΡΓΑΝΟΦΩΣΦΟΡΙΚΩΝ
ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΩΝ ΣΤΗΝ ΑΥΤΟΜΑΤΗ ΣΥΣΠΑΣΗ ΤΟΥ ΚΟΛΠΟΥ
ΤΗΣ ΚΑΡΔΙΑΣ ΣΤΗΝ ΤΣΙΠΟΥΡΑ (*SPARUS AURATA*)**

Τρύφωνος Μ., Παπαευθυμίου Χρ., Αντωνοπούλου Ε., Θεοφιλίδης Γ.

*Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης., 54124, Θεσσαλονίκη, E-mail: mtryfono@bio.auth.gr*

Τα οργανοφωσφορικά (OPs) εντομοκτόνα χρησιμοποιούνται ευρέως και η τοξικότητά τους οφείλεται κυρίως στην αναστολή της δράσης της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE), η οποία διασπά την ακετυλοχολίνη (ACh). Στον καρδιακό ιστό, η αύξηση της ACh στις συναπτικές απολήξεις, προκαλεί τη μείωση της δύναμης και της συχνότητας της καρδιακής σύσπασης. Σκοπός της παρούσας εργασίας, ήταν η αξιολόγηση της δράσης οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων και μεταβολιτών τους, στην καρδιακή λειτουργία της τσιπούρας (*Sparus aurata*). Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε ο απομονωμένος κόλπος της καρδιάς και καταγράφηκε η δύναμη και η συχνότητα της αυτόματης σύσπασης με μεταγωγέα τάσης. Τα αποτελέσματα της εργασίας έδειξαν ότι τα οργανοφωσφορικά που μελετήθηκαν διακρίνονται σε δύο ομάδες. Στην πρώτη ομάδα εντάσσεται το azinphos methyl και το ethyl paraoxon τα οποία σε χαμηλές συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 2,5 - 5,0 μM αναστέλουν την καρδιακή σύσπαση σε ποσοστά που κυμαίνονται από 60 - 70%. Ενώ στη δεύτερη ομάδα εντάσσονται τα diazinon, methyl parathion και methamidophos τα οποία σε πολύ υψηλότερες συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 45 - 90 μM αναστέλουν την καρδιακή σύσπαση σε ποσοστά που κυμαίνονται από 30 - 60%. Συνεπώς, η σειρά δραστηριότητας των εξεταζόμενων OPs στην αυτόματη σύσπαση του κόλπου της απομονωμένης καρδιάς της τσιπούρας είναι: azinphos methyl > ethyl paraoxon > methyl parathion > methamidophos > diazinon. Επιπλέον, η δράση των ethyl paraoxon, azinphos methyl και methamidophos είναι αντιστρεπτή, αφού μετά από την προσθήκη ατροπίνης (15μM) παρατηρήθηκε πλήρης επαναφορά της καρδιακής σύσπασης. Παραδόξως, ο μηχανισμός δράσης των methyl parathion και diazinon φαίνεται να εμπεριέχει εκτός από την αναστολή της AChE και άλλους στόχους, αφού στα παρασκευάσματα με αυτές τις ενώσεις, δεν επαναφέρεται η καρδιακή σύσπαση μετά την προσθήκη ατροπίνης.

**IN VITRO ASSESSMENT OF THE EFFECT OF ORGANOPHOSPHATES
INCECTICIDES ON THE SPONTANEOUS CONTRACTION OF THE ATRIUM
OF THE HEART IN SEA BREEM (*SPARUS AURATA*)**

Tryfonos M., Papaefthimiou Chr, Antonopoulou E., Theophilidis G.

*Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of
Thessaloniki, Thessaloniki, 54124, Greece, E-mail: mtryfono@bio.auth.gr*

Organophosphates (OPs) pesticides are widely used and their toxicity is due to the inhibition of acetylcholinesterase (AChE), which breaks down the acetylcholine (ACh). In the heart tissue, the increase of ACh on the synaptic terminals of the parasympathetic system causes the decrease of the force and the frequency of the heart contraction. The aim of the present study was to assess the effect of OPs pesticides and their metabolites, on the isolated heart of the sea bream (*Sparus aurata*). The isolated atrium of the heart was used, and the force and the frequency of the spontaneous contraction recorded with a force displacement transducer. The results of these study indicated that the examined OPs are distinguished in two groups. The first group includes azinphos methyl and ethyl paraoxon which in low concentrations, 2.5 – 5.0 μ M, inhibit 60-70% the heart conduction. The second group includes diazinon, methyl parathion and methamidophos which in higher concentrations, 45 - 90 μ M, causes less inhibition (30-60%) in the force and the frequency of the heart contraction. Consequently, the toxicity order of the OPs examined on the spontaneous contraction of the atrium of the heart in sea bream was: azinphos methyl > ethyl paraoxon > methyl parathion > methamidophos > diazinon. Moreover, the action of ethyl paraoxon, azinphos methyl and methamidophos is completely reversible, due to the complete recovery of the contraction after the application of atropine sulfate (15 μ M). Paradoxically, the mechanism of the action of methyl parathion and diazinon probably implicates and other targets, not only the inhibition of AChE, since there was no recovery of the contraction after the application of atropine.

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΝΣΩΜΑΤΩΣΗΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑΣ
ΣΤΗΝ ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΤΟΠΟΛΟΓΙΑΣ ΔΙΑΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ****Τσαούσης Γ.Ν.¹, Μπάγκος Π.Γ.² και Χαμόδρακας Σ.Ι.¹**

¹Τομέας Βιολογίας Κυττάρων και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Αθήνα 157 01. E-mail: shamodr@biol.uoa.gr

²Τμήμα Πληροφορικής με Εφαρμογές στη Βιοϊατρική, Πανεπιστήμιο Στερεάς Ελλάδας,
Παπασιπούλου 2-4, Λαμία 35100. E-mail: pbagos@ucg.gr

Οι αλγόριθμοι πρόγνωσης τοπολογίας διαμεμβρανικών πρωτεϊνών παρέχουν σημαντικές πληροφορίες για την δομή και την τοπολογία αυτών των πρωτεϊνών στις μεμβράνες. Η επιτυχία της απόδοσης τους κυμαίνεται από 70-80%. Με ενσωμάτωση πειραματικής πληροφορίας που προκύπτει από βιοχημικές τεχνικές μπορούμε να επιτύχουμε αύξηση της απόδοσης καταλήγοντας σε περισσότερα αξιόπιστα αποτελέσματα. Στην εργασία αυτή προσπαθούμε να ποσοτικοποιήσουμε την αύξηση αυτή στην απόδοση της πρόγνωσης. Χρησιμοποιήσαμε τα προγράμματα πρόγνωσης TMHMMfix, HMMTM, HMMTOP και PHOBIUS για την πρόγνωση των διαμεμβρανικών τμημάτων α-ελικοειδών μεμβρανικών πρωτεϊνών, τα οποία επιτρέπουν την ενσωμάτωση πειραματικής πληροφορίας για την τοπολογία περιοχών των πρωτεϊνών. Δημιουργώντας σύνολα ελέγχου με πρωτεΐνες γνωστής τρισδιάστατης δομής για κάθε αλγόριθμο πρόγνωσης, υποβάλαμε κάθε πρωτεϊνική ακολουθία σε αδέσμευτη και δεσμευμένη πρόγνωση. Η δεσμευμένη πρόγνωση πραγματοποιήθηκε με ενσωμάτωση πειραματικής πληροφορίας την οποία συλλέξαμε από βιοχημικές μελέτες που ανασύραμε από την βιβλιογραφία. Αξιολογήσαμε τα αποτελέσματα των προγνώσεων σε κάθε περίπτωση χρησιμοποιώντας δείκτες επιτυχίας της απόδοσης της πρόγνωσης. Η πρόγνωση της σωστής τοπολογίας των πρωτεϊνών αυξάνει κατά 30% και η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων αυξάνει αισθητά. Επιπλέον προτείνουμε τρόπο ανίχνευσης περιοχών στην ακολουθία των πρωτεϊνών για τις οποίες η ενσωμάτωση πειραματικής πληροφορίας οδηγεί στα καλύτερα δυνατά αποτελέσματα της πρόγνωσης με τον ελάχιστο αριθμό πειραμάτων. Εκμετάλλευση αυτής της πληροφορίας θα οδηγήσει στον καλύτερο εντοπισμό των πειραμάτων και στην εφαρμογή τους σε ευρεία κλίμακα.

THE INFLUENCE OF INCORPORATING EXPERIMENTAL INFORMATION IN TRANSMEMBRANE TOPOLOGY PREDICTION METHODS

Tsaousis G.N.¹, Bagos P.G.², and Hamodrakas S.J.¹

¹*Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 15701,
E-mail: shamodr@biol.uoa.gr*

²*Department of Informatics with Applications in Biomedicine, University of Central Greece, Pa-
pasiopoulou 2-4, Lamia 35100, Greece, E-mail: pbagos@ucg.gr*

Transmembrane topology prediction algorithms produce important information about the structure and topology of transmembrane proteins. The prediction performance varies from 70-80%. The incorporation of information regarding the topology of proteins, arising from biochemical experiments, has been proved a useful strategy to improve the prediction performance. In this study we aim at quantifying the increase in the prediction performance and reliability using this strategy. For the topology prediction of alpha-helical transmembrane proteins we used the tools TMHMMfix, HMMTM, HMMTOP and PHOBIUS that allow the incorporation of prior topological information. We created a test set for each predictive algorithm using transmembrane proteins with known 3D structure and ran unconstrained and constrained predictions. Constrained predictions were performed using the available topological information for each protein, derived from biochemical studies found in the literature. We evaluated the results of the prediction performance in each case using all measures of accuracy. This way, we generated more reliable results and prediction performance improves 30% regarding the correctly predicted topology of proteins. Moreover, we suggest a way to identify specific sites along the protein sequence for which incorporation of topological information produces the best and most reliable prediction results, while at the same time minimizes the necessary experiments. With the use of this information, experimental topology mapping methods can be focused on specific parts of the global topology of proteins and can be applied to large-scale analysis.

Η ΠΡΩΤΕΪΝΗ BRI ΟΜΟΔΙΜΕΡΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΤΗ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΔΙΣΟΥΛΦΙΔΙΚΩΝ ΔΕΣΜΩΝ ΚΑΙ ΜΗ ΟΜΟΙΟΠΟΛΙΚΩΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ

Τσαχάκη Μ., Μελαχροινού Κ., Κυραργύρη Β., Ευθυμιόπουλος Σ.

Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 157 84, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσια

Οι οικογενείς άνοιες Βρετανικού και Δανέζικου τύπου είναι δύο σπάνιες νευροεκφυλιστικές νόσοι, η εμφάνιση των οποίων σχετίζεται με δύο μεταλλαγμένες μορφές της πρωτεΐνης BRI2. Στους ασθενείς με αυτές τις νόσους η πρωτεόλυση της BRI2, οδηγεί στην απλευθέρωση πρωτεολυτικών θραυσμάτων, τα οποία είναι αμυλοειδογενή και συσσωρεύονται ως πλάκες στους εγκεφάλους των ασθενών. Η φυσιολογική λειτουργία της BRI2 παραμένει άγνωστη. Για να μελετήσουμε στοιχεία της φυσιολογίας της πρωτεΐνης εξετάσαμε την πιθανότητα να δημιουργεί ομοδιμερή. Με πειράματα ανοσοκατακρήμνισης διαφορετικά επιτοπικά σημασμένων BRI2 πρωτεϊνών βρέθηκε ότι αυτές έχουν την ικανότητα να διμερίζονται. Το μόριο της BRI2 περιέχει μονό αριθμό κυστεϊνικών κατάλοιπων, γεγονός που σημαίνει ότι πιθανά υπάρχει ένα ελεύθερο κυστεϊνικό κατάλοιπο, που θα μπορούσε να διαμεσολαβεί τη σύνδεση δύο μορίων BRI2. Για να εξεταστεί κατά πόσο δισουλφιδικοί δεσμοί εμπλέκονται στον ομοδιμερισμό της BRI2, κυτταρικά εκχυλίσματα υποβλήθηκαν σε ανάλυση κατά Western υπό μη αναγωγικές και αναγωγικές συνθήκες. Σε μη αναγωγικές συνθήκες παρατηρήθηκαν μονομερή, διμερή και ολιγομερή της BRI2, ενώ σε αναγωγικές συνθήκες παρατηρήθηκαν μόνο μονομερή. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι τα ομοδιμερή της BRI2 συγκρατούνται μέσω διαμοριακών δισουλφιδικών δεσμών. Στη συνέχεια, θελήσαμε να διερευνήσουμε ποιο είναι το υπεύθυνο κυστεϊνικό κατάλοιπο για τη δημιουργία αυτού του διαμοριακού δισουλφιδικού δεσμού. Με τη χρήση BRI2 πρωτεϊνών που έφεραν σημειακές μεταλλάξεις σε συγκεκριμένα κυστεϊνικά κατάλοιπα, δείξαμε ότι η εξωκυτταροπλασματική κυστεΐνη 89 είναι αυτή που εμπλέκεται στον ομοδιμερισμό. Επιπλέον, με πειράματα ανοσοκατακρήμνισης βρέθηκε ότι μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις συγκρατούν τα ομοδιμερή, ακόμα και απουσία δισουλφιδικών δεσμών. Τέλος, βρέθηκε ότι η πρωτεΐνη BRI2 που φέρει έλλειψη της εξωκυτταροπλασματικής ακολουθίας 107-266 και σημειακή μεταλλαγή στην κυστεΐνη 89 δεν ομοδιμερίζεται, το οποίο σημαίνει ότι η περιοχή που απαλείφθηκε εμπλέκεται στις μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις που συγκρατούν τα ομοδιμερή. Μελλοντικά, η αποκάλυψη της σημασίας του ομοδιμερισμού για τη BRI2 θα προσφέρει χρήσιμα δεδομένα για το φυσιολογικό ρόλο της πρωτεΐνης και για τις πιθανές αποκλίσεις που οδηγούν στον νευροεκφυλισμό.

Αυτή η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από το Εμπειρικό Ιδρυμα.

Η Μαρία Τσαχάκη είναι υπότροφος του Ιδρύματος Κρατικών Υποτροφιών.

BRI2 PROTEIN FORMS HOMODIMERS WITH THE INVOLVEMENT OF DISULFIDE BONDS AND NON COVALENT INTERACTION

Tsachaki M., Melachroinou C., Kyrargyri V., Efthimiopoulos S.

*Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens,
157 84 Panepistimiopolis, Ilisia*

Familial British and Danish dementias are two rare neurodegenerative diseases, which are genetically linked with two mutated forms of the BRI2 protein. In patients suffering from these diseases, processing of BRI2 releases proteolytic fragments which are amyloidogenic and accumulate forming plaques in the patients' brains. The physiological function of BRI2 remains unknown. To unravel aspects of its biological properties we investigated whether BRI2 can form homodimers. Immunoprecipitation experiments of differentially tagged BRI2 proteins showed that they possess the ability to dimerize. The BRI2 molecule contains an odd number of cysteine residues, which means that there is possibly a free cysteine residue which could mediate the interaction between two BRI2 molecules. In order to examine whether disulfide bonds are involved in the homodimerization of BRI2, cell extracts were analyzed by Western blot under non-reducing and reducing conditions. Under non-reducing conditions we observed BRI2 monomers, dimers and oligomers, whereas under reducing conditions only BRI2 monomers were observed. These results indicate that the BRI2 homodimers are held together by intermolecular disulfide bonds formed between cysteine residues. Next, we sought to discover the cysteine residue(s) involved in the intermolecular disulfide bonds. Using BRI2 constructs with point mutations of specific cysteine residues, we showed that extracellular cysteine 89 is responsible for the formation of the disulfide bond. Additionally, with co-immunoprecipitation experiments we found that non covalent interactions hold the BRI2 homodimers together even in the absence of disulfide bonds. Finally, we showed that a BRI2 protein that bears a deletion of the extracellular aminoacid sequence 75-106 as well as a point mutation at cysteine 89 is not capable of homodimerization, which shows that the sequence deleted is essential for BRI2 homodimerization via non covalent interactions. Future studies, revealing the role of homodimerization for BRI2 protein will give insights in the physiological role of the protein and the deviations that lead to neurodegeneration.

*This research was funded by a grant from Embeirikeion Foundation.
Maria Tsachaki has a scholarship from the State Scholarships Foundation.*

**ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ T-DNA ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑΤΩΝ ΤΟΥ
ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΗ SGF29 ΣΤΟ *Arabidopsis thaliana***

Τσεμεντζή Δ., Καλδής Α., Βλαχονάσιος Κ.Ε.

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124
Θεσσαλονίκη. E-mail: kolachon@bio.auth.gr

Η γονιδιακή έκφραση είναι μια λεπτά ρυθμιζόμενη διαδικασία, και η δυναμική φύση της χρωματίνης παρέχει πολλαπλά επίπεδα ελέγχου μέσω ποικίλων μηχανισμών, ένας εκ των οποίων και οι μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις των ιστονών. Η ακετυλίωση ειδικότερα, μεσολαβείται από ειδικά πολυπρωτεϊνικά σύμπλοκα που δρουν ως ακετυλτρανσφεράσες των ιστονών (HAT). Ένα HAT σύμπλοκο είναι και το SAGA που αποτελείται από περίπου 14 πολυπεπτίδια στη ζύμη. Αν και οι υπομονάδες του συμπλόκου είναι εξελικτικά συντηρημένες, πολύ λίγα είναι γνωστά για τις ορθόλογες πρωτεΐνες στα φυτά. Η πρωτεΐνη SGF29 είναι μια πρόσφατα χαρακτηρισμένη υπομονάδα του SAGA, με ρόλο άγνωστο ακόμα και στη ζύμη. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η εξέταση του ρόλου του SGF29 στο *Arabidopsis thaliana* με τη χρήση ανάστροφης γενετικής. Το γονιδίωμα του *Arabidopsis* κωδικοποιεί δύο ορθόλογες πρωτεΐνες της SGF29 (At3g27460 και At5g40550) με 91% ομοιότητα αμινοξικής ακολουθίας, οι οποίες ονομάστηκαν SGF29a και SGF29b. Ιδιαίτερα συντηρημένο παρουσιάζεται το TUDOR domain των πρωτεϊνών αυτών, το οποίο προσδένεται σε μεθυλιωμένες ιστόνες. Απομονώθηκαν μεταλλάγματα ένθεσης T-DNA από την συλλογή του SALK και ταυτοποιήθηκαν ομόζυγες μεταλλάξεις και για τα δύο γονίδια, η μια με το T-DNA ένθεμα στο έβδομο εξώνιο του SGF29a, και η άλλη στο 5'UTR του SGF29b. Ανάλυση RT-PCR επιβεβαίωσε την απουσία πλήρους μεταγράφου SGF29a, ενώ μειωμένη έκφραση παρατηρήθηκε για το SGF29b στα αντίστοιχα μεταλλάγματα. Φαινοτυπικές αποκλίσεις παρουσίασαν μόνο τα *sgf29a*: λιγότερα και μικρότερα φύλλα ροζέτας, καθυστερημένη άνθηση σε μικρές μέρες και ανθεκτικότητα σε καταπόνηση αλατότητας. Τα αποτελέσματα αυτά προτείνουν ότι το SGF29a πιθανόν να συμμετέχει σε συγκεκριμένες λειτουργίες της φυσιολογίας του φυτού, όπως η έναρξη της άνθησης και η απόκριση του σε αβιοτικές καταπονήσεις.

**MOLECULAR CHARACTERIZATION OF T-DNA MUTANTS OF
TRANSCRIPTIONAL CO-ACTIVATOR *SGF29* IN *Arabidopsis thaliana***

Tsementzi D., Kaldis A., Vlachonasios K.E.

Department of Botany, School of Biology, Aristotle University, 54124 Thessaloniki
E-mail: kolachon@bio.auth.gr

The post-translational modification of histones plays an important role in chromatin regulation, a mechanism that insures the fidelity of gene expression and other DNA processes. Among these modifications, acetylation is mediated by histone acetyltransferase (HAT) complexes such as the Spt-Ada-Gcn5-Acetyltransferase (SAGA), a 1.8 MDa multiprotein coactivator containing approximately 14 polypeptides in yeast. Although components of this complex are well conserved through evolution, plant orthologs of the yeast *SGF29*, a recently described component of SAGA, has not yet been identified, and its function is still unknown even in yeast. In *Arabidopsis* genome there are two orthologs of *SGF29* (*At3g27460* and *At5g40550*), designated *SGF29a* and *SGF29b* displaying 91% identity at amino acid sequence. Both proteins showed great similarities with those of yeast, mouse and human orthologs in TUDOR domain, a chromatin-binding domain. To examine their biological role in *Arabidopsis thaliana*, we isolated T-DNA insertion mutants from the SALK collection. Homozygous mutations were identified for both genes, one with a T-DNA insertion in the seventh exon of *SGF29a* and the other in the 5'UTR of *SGF29b*. RT-PCR analysis of homozygous *sgf29a* plants confirmed the absence of full length *SGF29a* transcript, while a reduced amount of *SGF29b* transcript was observed in *sgf29b* mutants. While *sgf29b* mutants were indistinguished from wildtype plants, *sgf29a* plants showed less and smaller rosette leaves and late flowering in short days. Moreover, *sgf29a* mutants were resistant to salt stress in seed germination and root elongation assays, indicating that *SGF29a* may be involved in regulation of flowering time in short days and in responses to salt stress.

ΑΛΛΟΧΘΟΝΑ ΜΑΚΡΟΦΥΚΗ ΣΤΟ ΛΙΜΑΝΙ ΤΗΣ ΡΟΔΟΥ

Τσιάμης Κ.^{1,2}, Μοντεσάντου Β.¹, Παναγιωτίδης Π.² & Μ. Σαλωμίδη²

¹Τομέας Οικολογίας & Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 15784, Αθήνα. E-mail: kostas.tsiamis@gmail.com

²Ελληνικό Κέντρο Θαλασσιών Ερευνών, Ινστιτούτο Ωκεανογραφίας, Ανάβυσσος 19013, Αττική

Το νησί της Ρόδου κατέχει μία εξέχουσα γεωγραφική θέση, αφού αποτελεί σύνδεσμο του Αιγαίου Πελάγους με τη Θάλασσα της Λεβαντίνης. Σκοπός της εργασίας είναι η καταγραφή και η μελέτη αλλόχθονων μακροφυκών στο λιμάνι της Ρόδου. Τα δείγματα συλλέχτηκαν τον Ιανουάριο του 2006 με καταστροφική δειγματοληψία από βράχια της ανώτερης υποπαράλιας ζώνης. Συνολικά, προσδιορίστηκαν 4 αλλόχθονα μακροφύκη: Α) *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea*. Παντροπικό χλωροφύκος, πιθανότατα έχει εισαχθεί στη Μεσόγειο από τη ΝΔ. Αυστραλία μέσω ναυσιπλοΐας. Από τις αρχές της δεκαετίας του '90 έχει εξαπλωθεί σχεδόν σε όλη τη Μεσόγειο. Ιδιαίτερα διαδεδομένο στις ελληνικές ακτές, η εύρεσή του στην παρούσα εργασία ήταν αναμενόμενη. Εμφανίζει συμπεριφορά "εισβολέα". Β) *Styropodium schimperi*. Λεσσεψιανό φαιοφύκος, προερχόμενο από την Ερυθρά Θάλασσα, εισέβαλλε στη Μεσόγειο τα τελευταία 15 χρόνια. Αναφέρεται για πρώτη φορά από τις ακτές της Ρόδου. Γ) *Asparagopsis taxiformis*. Τροπικό ροδοφύκος με αμφισβητούμενη προέλευση. Σήμερα πιστεύεται ότι συνυπάρχουν πολλές ποικιλίες του είδους αυτού στη Μεσόγειο, και μία από αυτές σίγουρα είναι αλλόχθονη. Η εύρεσή του στη Ρόδο αποτελεί πρώτη αναφορά για τις ελληνικές θάλασσες, και απαιτείται περισσότερη έρευνα για τη διαλεύκανση της προέλευσής του. Δ) *Lophocladia lallemandii*. Ινδο-Ειρηνικό ροδοφύκος, έχει εισαχθεί στη Μεσόγειο μέσω του Σουέζ ή/και μέσω ναυσιπλοΐας. Αναφέρεται για πρώτη φορά από τις ακτές της Ρόδου. Η εύρεση των αλλόχθονων μακροφυκών στο λιμάνι της Ρόδου πιστοποιεί τη σημασία του λιμανιού ως «hot spot» σημείο εξάπλωσης αλλόχθονων ειδών, ενώ συγχρόνως αναδεικνύει το νησί της Ρόδου ως κύριο σταθμό του μεταναστευτικού ρεύματος αλλόχθονων μακροφυκών που εξαπλώνονται από την ανατολική προς τη δυτική λεκάνη της Μεσογείου.

ALIEN MACROALGAE IN RHODES PORT

Tsiamis K.^{1,2}, Montesantou B.¹, Panayotidis P.² & M. Salomidi²

¹Section of Ecology & Systematics, Biology Department, Athens University, Panepistimiopolis
15784, Athens. E-mail: kostas.tsiamis@gmail.com

²Hellenic Center of Marine Research, Institute of Oceanography, Anavissos 19013, Attica.

Rhodes Island, situated at the border between the Aegean and Levantine Seas, is one of the most interesting sites of marine research. Aim of this research is to study alien macroalgae found in Rhodes Port. Samplings were carried out at the upper infralittoral zone in January 2006. Samples were collected on rocky substrate by the destructive method. In total, 4 alien macroalgae were identified: A) *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea*, a pantropical green alga, probably introduced in the Mediterranean Sea through shipping from SW. Australia. Taking into account that this alga is widely distributed at the Greek coasts, its presence in Rhodes Island was prospective. Moreover, it exhibits an invading behavior. B) *Styopodium schimperi*, a lessepsian brown alga coming from the Red Sea, introduced in the Mediterranean Sea during the last 15 years. It is reported for the first time in Rhodes Island. C) *Asparagopsis taxiformis*, a tropical red alga whose origin is debatable. Recent studies indicate that several strains of this alga co-occur in the Mediterranean Sea and one of them is definitely introduced. *A. taxiformis* is reported for the first time in Greece and a more detailed study of this species is needed. D) *Lophocladia lallemandii*, an Indo-Pacific red alga, introduced in the Mediterranean Sea through shipping or through the Suez Canal. Its presence is recorded for the first time at Rhodes coasts. The presence of alien macroalgae in Rhodes Port reveals its significance as a «hot spot» for alien macroalgae. In addition, alien macroalgae found in the present study indicate that Rhodes Island is one of the most important stations of alien macroalgae migration flux in the Mediterranean Sea.

**ΕΞΑΠΛΩΣΗ ΚΑΙ ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ ΤΩΝ ΓΕΝΩΝ *Calamintha* ΚΑΙ *Mentha*
ΣΤΟΥΣ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟΥΣ ΤΥΠΟΥΣ ΟΙΚΟΤΟΠΩΝ ΤΟΥ ΟΡΟΥΣ ΒΕΡΜΙ-
ΟΥ (GR1210001)**

Τσιάνου Μ., Καρούσου Ρ.

Εργαστήριο Συστηματικής Βοτανικής & Φυτογεωγραφίας, Τμήμα Βιολογίας,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 541 24 Θεσσαλονίκη,
E-mail: karousou@bio.auth.gr

Το Όρος Βέρμιο (GR1210001) (Ν. Ημαθίας) είναι περιοχή του δικτύου NATURA 2000 και περιλαμβάνει 19 φυσικούς τύπους οικοτόπων. Στην παρούσα εργασία καταγράφηκε η εξάπλωση των ειδών των γενών *Calamintha* και *Mentha* στους διαφορετικούς τύπους οικοτόπων της περιοχής και εκτιμήθηκε η περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο δειγμάτων από διαφορετικές περιοχές συλλογής. Στην περιοχή απαντώνται δύο taxa του γένους *Calamintha*, τα *C. nepeta* (L.) Savì subsp. *nepeta* και *C. sylvatica* Bromf. subsp. *sylvatica* και τρία taxa του γένους *Mentha*, τα *M. longifolia* (L.) Hudson, *M. spicata* L. και *M. pulegium* L. Η *M. spicata* βρέθηκε σε εννέα τύπους οικοτόπων, οι *M. longifolia*, *C. nepeta* και *C. sylvatica* σε τρεις, ενώ η *M. pulegium* βρέθηκε σε έναν μόνον οικότοπο. Τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν ότι υπάρχει συσχέτιση ανάμεσα στην κατανομή των taxa *C. nepeta* subsp. *nepeta* – *C. sylvatica* subsp. *sylvatica* και *M. longifolia* – *M. spicata* στο Όρος Βέρμιο και τους τύπους οικοτόπων όπου αυτά φύονται. Στο γένος *Calamintha* η περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο ποικίλει από 1,14 % (ml/100g ξηρού βάρους) έως 1,73% ενώ στο γένος *Mentha* από 0,16% έως 1,92%. Και στα δύο γένη οι υψηλότερες τιμές βρέθηκαν σε φυτά που συλλέχθηκαν από τον τύπο οικοτόπου «Θερμόφιλα δρυοδάση της Αν. Μεσογείου και της Βαλκανικής».

DISTRIBUTION AND ESSENTIAL OILS OF THE GENERA *Calamintha* AND *Mentha* IN THE DIFFERENT HABITAT TYPES OF OROS VERMIO (GR1210001)

Tsianou M., Karousou R.

Laboratory of Systematic Botany & Phytogeography, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki 541 24 Thessaloniki, E-mail: karousou@bio.auth.gr

Oros Vermio (GR1210001) (Imathia prefecture) is a site of the NATURA 2000 network and comprises 19 natural habitat types. In the present work the distribution of *Calamintha* and *Mentha* taxa in the different habitat types of the area is studied. Furthermore the essential oil content of plants collected in different localities is estimated. Two taxa of the genus *Calamintha*, viz *C. nepeta* (L.) Savi subsp. *nepeta* and *C. sylvatica* Bromf. subsp. *sylvatica* and three taxa of the genus *Mentha*, *M. longifolia* (L.) Hudson, *M. spicata* L. and *M. pulegium* L., were found in the area. *M. spicata* was found in nine habitat types, *M. longifolia*, *C. nepeta* and *C. sylvatica* in three, while *M. pulegium* was found in only one habitat type. Our results suggest that a correlation exists between the spatial distribution of the taxa *C. nepeta* subsp. *nepeta* – *C. sylvatica* and *M. longifolia* – *M. spicata* in Oros Vermio and the habitat types where they are growing. In the genus *Calamintha* the essential oil ranges from 1.14 % (ml/100g of dry weight) up to 1.73%, while in the genus of *Mentha* from 0.16% up to 1.92%. In both genera the highest oil content was encountered in plants growing in “Thermophilous oak woods of East Mediterranean and Balkans”.

**ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΣΤΕΛΕΧΩΝ *Klebsiella pneumoniae* ΜΕ
ΜΕΙΩΜΕΝΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΣΤΙΣ ΚΑΡΒΑΠΕΝΕΜΕΣ****Φερούση Χ.¹, Γιακκούπη Π.², Βουρλή Σ.², Ξανθάκη Α.³, Τούτουζα Μ.³,
Χατζηνικολάου Δ.Γ.¹, Βατόπουλος Α.Κ.²**¹Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο
Αθηνών, Αθήνα 157 01, 210.72.53.780.²Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Εθνική Σχολή Δημόσιας Υγείας, Αλεξάνδρας 156, Αθήνα,
210.64.22.278.³Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Ιπποκράτειο Περιφερειακό Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών,
Βασ. Σοφίας 114, 115 27, Αθήνα, 210.74.83.770.

Στελέχη του βακτηρίου *Klebsiella pneumoniae* μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές νοσοκομειακές λοιμώξεις, παρόλο που το συγκεκριμένο είδος ανήκει στη φυσιολογική χλωρίδα των θηλαστικών. Έως το 2002, οι καρβαπενέμες αποτελούσαν τα αντιβιοτικά επιλογής για την καταπολέμηση τέτοιων λοιμώξεων. Τα τελευταία χρόνια έχει καταγραφεί αυξημένη συχνότητα απομόνωσης κλινικών στελεχών *K.pneumoniae* που διαθέτουν το γονίδιο *bla_{VIM1}*, το οποίο προσδίδει στο βακτήριο μειωμένη ευαισθησία στις καρβαπενέμες. Στόχος της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη των επιδημιολογικών χαρακτηριστικών έντεκα (11) στελεχών *K. pneumoniae* που απομονώθηκαν από μεγάλο Νοσοκομείο της Αθήνας στο χρονικό διάστημα 2003 έως 2006. Αρχικά τα στελέχη μελετήθηκαν φαινοτυπικά με τη μέθοδο επίστρωσης Kirby-Bauer, τη μέτρηση των ελάχιστων ανασταλ-τικών συγκεντρώσεων (MICs) και τη διενέργεια επιλεγμένων δοκιμασιών συνέργιας (EDTA test, DDST). Στη συνέχεια, η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) κατέδειξε την ύπαρξη του *bla_{VIM1}* γονιδίου στα στελέχη τα οποία τυποποιήθηκαν με τη μέθοδο της ηλεκτροφόρησης σε παλλόμενο πεδίο (PFGE). Η PFGE αποκάλυψε την ύπαρξη τριών διακριτών κλώνων. Το *bla_{VIM1}* γονίδιο ανιχνεύτηκε σε όμοια ιντεγκρόνια και στους τρεις κλώνους, όμως πειράματα βακτηριακής σύζευξης κατέδειξαν πως ήταν μεταβιβάσιμο μόνο σε στελέχη ενός από τους τρεις αυτούς κλώνους. Η τυποποίηση των στελεχών, σε συνδυασμό με τη μελέτη των επιδημιολογικών τους στοιχείων, καταδεικνύει τη διαχρονική παρουσία δύο κλώνων στο νοσοκομείο, στο τριετές διάστημα που μελετάται καθώς και την εμφάνιση του τρίτου το 2006. Το εύρημα επιβεβαιώνει τους φόβους σχετικά με την επιδημική εμφάνιση και εγκατάσταση στο νοσοκομειακό περιβάλλον πολυανθεκτικών κλώνων *K. pneumoniae* και εγείρει σοβαρές ανησυχίες σχετικά με τη διασπορά του ίδιου VIM ιντεγκρονίου σε διαφορετικούς μικροβιακούς κλώνους.

**EPIDEMIOLOGICAL STUDIES OF *Klebsiella pneumoniae* ISOLATES WITH
DECREASED SUSCEPTIBILITY IN CARBAPENEMES**

**Ferousi C.¹, Giakkoupi P.², Vourli S.², Ksanthaki A.³, Toutouza M.³,
Hatzinikolaou D.G.¹, Vatopoulos A.K.²**

¹Microbiology Laboratory, Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, Athens
157 0, 210.72.53.780.

²Department of Microbiology, National School of Public Health, Athens, Aleksandras 156, Athens,
210.64.22.278.

³ Department of Microbiology, Hippocrateion General Peripheral Hospital of Athens, Vas.Sofias 114,
115 27, Athens, 21..74.83.770.

Klebsiella pneumoniae isolates can cause serious intra-hospital infections even though this species belongs to the natural human microflora. Until 2002, carbapenemes were the antibiotic of choice for the treatment of these infections. At that time, the first isolation of *Klebsiella pneumoniae* strains with decreased susceptibility in carbapenemes, carrying the *bla_{VIM1}* gene, was reported. The aim of this study was the epidemiological survey of such isolates, recovered from clinical specimens taken from a major Athenian Hospital during the period 2003-2006. Antibiotic susceptibilities were determined utilizing standard agar diffusion and dilution methods, including synergy tests (EDTA test, DDST). PCR detected the presence of *bla_{VIM1}* gene in ten of the isolates that were further characterized using PFGE methodology. The photographic image of the PFGE bands implied the existence of three distinguished strains of *Klebsiella pneumoniae*. The *bla_{VIM1}* gene was found in similar integrons in all three strains although, according to bacterial conjugation experiments, the plasmid carrying this integron was conjucative only in one of them. The epidemiological characteristics of the isolates, together with strain characterization, carried out in this study, clearly confirm the potential risk from the spread and habitation of multi-resistant bacteria in hospitals.

**ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΕΝΟΣ HMM ΜΟΝΤΕΛΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ
ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΤΟΙΧΩΜΑΤΟΣ (CWPs) ΘΕΤΙΚΩΝ ΚΑΤΑ GRAM ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ****Φιμερέλη Δ.Κ.¹, Λίτου, Ζ.Ι.¹, Μπάγκος, Π.Γ.² και Χαμόδρακας, Σ.Ι.¹**

¹Τομέας Βιολογίας Κυττάρων και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 01,

E-mail: fdanai@gmail.com, zlitou@biol.uoa.gr, shamodr@biol.uoa.gr

²Τμήμα Πληροφορικής με Εφαρμογές στη Βιοιατρική, Πανεπιστήμιο Στερεάς Ελλάδας,
Παπασιπούλου 2-4, Λαμία 35100. E-mail: pbagos@ucg.gr

Οι επιφανειακές πρωτεΐνες των θετικών κατά Gram βακτηρίων παίζουν σημαντικό ρόλο στην προσκόλληση στο κύτταρο ή ιστό ξενιστή και είναι απαραίτητες για την μολυσματικότητα των βακτηρίων. Οι περισσότερες από αυτές τις πρωτεΐνες περιέχουν στο καρβοξυτελικό άκρο τους ένα πεπτιδίο που στοχεύει στο κυτταρικό τοίχωμα (cell-wall proteins-CWPs). Αποτελείται από ένα LPxTG μοτίβο, ακολουθούμενο από μια υδροφοβή περιοχή και μια θετικά φορτισμένη ουρά και κόβονται από ένζυμα που ονομάζονται σορτάσες. Οι σορτάσες, είναι μεμβρανικές πρωτεΐνες που κόβουν το LPxTG μοτίβο μεταξύ της θρεονίνης και της γλυκίνης και σχηματίζουν έναν αμιδικό δεσμό μεταξύ του καρβοξυτελικού άκρου της θρεονίνης και του αμινοτελικού άκρου της πεπτιδογλυκάνης. Οι CWPs, είναι υποστρώματα των σορτάσων και δεν περιέχουν όλες το LPxTG μοτίβο (μπορούν να περιέχουν ένα NPQTN, ένα LPxTA ή ένα LAxTG μοτίβο). Οι σορτάσες που κόβουν αυτές τις πρωτεΐνες μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε πέντε υποοικογένειες. Στην συγκεκριμένη εργασία συλλέξαμε όλες τις CWPs, μέσω της διεθνούς βιβλιογραφίας και της βάσης UniProt. Θα γίνει κατηγοριοποίηση των πρωτεϊνών σε υποοικογένειες ανάλογα με τον τύπο της σορτάσης που τις κόβουν. Οι πρωτεΐνες όλων των υποοικογενειών θα χρησιμοποιηθούν για να κατασκευαστεί ένα HMM μοντέλο το οποίο θα μπορεί να εφαρμοστεί ώστε να εντοπίζει όλους τους τύπους των CWPs. Μελλοντικός στόχος της εργασίας είναι η κατασκευή μιας βάσης δεδομένων, η οποία θα περιέχει όλες τις CWPs, από προσδιορισμένα βακτηριακά πρωτεόματα, κατηγοριοποιημένες με βάση την λειτουργία τους.

A HMM MODEL FOR THE PREDICTION OF CELL WALL PROTEINS (CWPs) OF GRAM POSITIVE BACTERIA

Fimereli D.¹, Litou Z.I.¹, Bagos P.G.², Hamodrakas S.J.¹

¹*Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 15701.*

E-mail: shamodr@biol.uoa.gr

²*Department of Informatics with Applications in Biomedicine, University of Central Greece,*

Papasiopoulou 2-4, Lamia 35100, Greece. E-mail: pbagos@ucg.gr

Surface proteins of gram-positive bacteria play a significant role for adherence to the host cell or tissue and are required for virulence. Most of these proteins contain a C-terminal cell wall sorting signal consisting of an LPxTG motif, followed by a hydrophobic domain and a tail of mostly positively charged residues. They are cleaved by enzymes called sortases. Sortases, which are membrane proteins, cleave the LPxTG motif between threonine and glycine and form an amide bond between the carboxyl-group of threonine and the amino-group of peptidoglycan cross-bridges. Not all proteins that are substrates of sortases contain a LPxTG motif (they may also contain a NPQTN, a LPxTA or a LAxTG motif). Sortases that cleave all these proteins are classified into five subfamilies. Currently, we collected all cell-wall proteins, with a sorting signal, searching through the literature and the Uniprot database. We will categorize them into subfamilies according to the type of the sortase that cleaves them. Proteins of all subfamilies will be used to construct a HMM model, applicable to all cell wall proteins. This model will identify all proteins that are known to be or are probable sortase substrates. A future goal of this study will also be to construct a database containing all proteins from determined bacterial proteomes, that are substrates of sortases and to categorize them into families according to their function.

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΤΩΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ COUP- TF ΠΟΥ ΠΡΟΕΡΧΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΟ ΜΑΤΙΣΜΑ ΣΤΟΝ ΑΧΙΝΟ

Φλυτζάνης Κ.Ν.*

Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο
Πατρών, Πάτρα 26500. E-mail: kostas@bcm.tmc.edu

Οι COUP-TFs είναι μεταγραφικοί παράγοντες της οικογένειας των ορφανών πυρηνικών υποδοχέων, εμφανίζουν συντηρημένη αλληλουχία σε όλα τα μετάζωα και εκφράζονται κατά προτίμηση στο νευρικό σύστημα. Εκτός της συντηρημένης αλληλουχίας τους επίσης συντηρημένες είναι οι θέσεις των εσωνίων τους στους διάφορους οργανισμούς, ενώ δεν έχει παρατηρηθεί εναλλακτικό μάτισμα. Σε τρία διαφορετικά είδη αχινού όμως, παρατηρήσαμε δύο μετάγραφα αποτέλεσμα εναλλακτικού ματίσματος ενός μικρού εξωνίου 63 bp. Τα δύο mRNAs παράγουν δύο πρωτεΐνες, η μεγαλύτερη εκ των οποίων περιέχει 21 επιπρόσθετα αμινοξέα στην καρβοξυτελική επέκταση της περιοχής πρόσδεσης στο DNA (DBD). Για να εξακριβωθούν τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά πρόσδεσης στο DNA, που πιθανώς να προσδίδονται από μια τέτοια αλλαγή, πραγματοποιήθηκε κλωνοποίηση των δύο cDNAs που κωδικοποιούν τις δύο πρωτεΐνες. Κατόπιν παράχθηκαν RNAs *in vitro* με τα οποία έγινε μετάφραση σε δύο διαφορετικά *in vitro* συστήματα. Οι προκύπτουσες πρωτεΐνες χρησιμοποιήθηκαν σε EMSAs (Electrophoretic Mobility Shift Assay) με το CIR στοιχείο απόκρισης του γονιδίου της ακτίνης CyIIIb (ένα DR2 στοιχείο στο οποίο προσδένεται ο COUP-TF) και με μια ποικιλία άλλων ευθέων επαναλήψεων αλλά και παλινδρομικών στοιχείων που σχεδιάστηκαν από την αλληλουχία του CIR. Η μικρή ισομορφή (62kDa) προσδένεται με διαφορετική συγγένεια σε όλα τα στοιχεία απόκρισης που εξετάστηκαν. Η μεγάλη ισομορφή (64kDa) δεν προσδένεται αποτελεσματικά σε κανένα από αυτά τα στοιχεία απόκρισης και επιπλέον μειώνει το ποσοστό πρόσδεσης της μικρής πρωτεΐνης όταν ετεροδιμεριστεί με αυτήν. Παράλληλα, και προκειμένου να γίνει αναγνώριση των δύο πρωτεϊνών *in vivo* και *in vitro*, κατασκευάστηκε ένα νέο αντίσωμα ειδικό για το πεπτίδιο των 21 αμινοξέων. Το ειδικό αυτό αντίσωμα αξιοποιήθηκε σε πειράματα ανάλυσης πρωτεϊνών (Western blots), όπου και διαπιστώθηκε η παρουσία μιας πρωτεΐνης 64kDa, σε όλα τα αναπτυξιακά στάδια των αχινών *P.lividus* και *S.granularis*. Με τη χρήση του ειδικού αντισώματος σε πειράματα ανοσοφθορισμού επιδιώχθηκε, τέλος, η εύρεση ενδεχόμενης διαφοροποίησης στην ενδοκυτταρική κατανομή των δύο πρωτεϊνών, στα έμβρυα του αχινού. Η μεγάλη πρωτεΐνη εντοπίστηκε στο κυτταρόπλασμα εμβρύων του σταδίου των 16 κυττάρων, ενώ για τη μικρή ισομορφή είναι γνωστή η παρουσία της στον πυρήνα. Τα αποτελέσματα αυτά είναι ενδεικτικά ενός πιθανού ρυθμιστικού ρόλου της μεγάλης ισομορφής κατά τη διαφοροποίηση του εμβρύου.

Στην εργασία αυτή συμμετείχαν οι:

Κοζάνου Ζ., Καλαμπόκη Α., Ζήνωνος Ζ. και Κ.Ν. Φλυτζάνης

* Προσκεκλημένος ομιλητής

FUNCTIONAL DIFFERENCES OF THE COUP-TF ALTERNATIVE SPLICED ISOFORMS IN THE SEA URCHIN

Flytzanis C.N.*

*Division of Genetics, Cell and Developmental Biology, Department of Biology, University
of Patras, Patras 26500, Greece. E-mail: kostas@bcm.tmc.edu*

Chicken Ovalbumin Upstream Promoter-Transcription Factors (COUP-TFs) belong to the steroid-thyroid-retinoic acid superfamily of hormone receptors. At present, a ligand for COUP-TF has not been identified and thus, these proteins are classified as orphans. COUP-TFs are found from hydra to human with highly homologous protein sequences across species suggesting functional conservation. They are known to play a crucial role in organogenesis, neurogenesis and cellular differentiation throughout embryonic development. Much is also known about their target genes and their ability to homodimerize and heterodimerize with other receptors to suppress transcriptional activation. Alternative spliced isoforms, although frequently found in members of the nuclear receptor family, were never before detected for COUP-TFs in any of the phyla where these conserved proteins are expressed. We show that in sea urchins alternative splicing of the COUP-TF's primary transcript leads into two mRNAs, which encode for two proteins that differ in a 21 amino acid insertion into the T-Box extension of the DNA binding domain. Both mRNAs and their corresponding proteins are expressed during oogenesis and are found stored in the egg. We also detect both mRNAs and proteins throughout embryonic development, using RT-PCR and protein blots respectively. In vitro DNA binding experiments (EMSAs), with the use of in vitro translated proteins, reveal that the larger isoform is incapable of binding to a variety of COUP-TF response elements. Furthermore, in the presence of the large isoform the smaller COUP-TF protein's ability to bind to DNA is diminished in an antagonistic way, suggesting that the heterodimeric protein is also incapable of DNA binding. Using a peptide specific antibody which reacts exclusively with the large COUP-TF isoform, we detected the protein in the cytoplasm of the embryonic cells. Our results indicate that the intact heterodimerization property of the large COUP-TF isoform in conjunction with its different cellular compartmentalization reflects a possible regulative role for the large isoform.

The contributors of this work were:

Kozaou Z., Kalampoki L., Zinonos Z., and C.N. Flytzanis

** Invited speaker*

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΚΙΝΗΤΩΝ ΚΑΙ
ΑΣΥΡΜΑΤΩΝ, ΨΗΦΙΑΚΩΝ ΤΗΛΕΦΩΝΩΝ, ΣΤΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΚΑΙ
ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΥΩΝ****Φραγκοπούλου Α.Φ., Προύσαλη Α., Στασινοπούλου Μ., Βελέντζας Α.,
Κουσουλάκος Σ., και Μαργαρίτης Λ.Χ.***Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας Ε.Κ.Π.Α.*

Η εκτενής έρευνα των επιπτώσεων της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας που προέρχεται από τα κινητά τηλέφωνα και η οποία έχει πραγματοποιηθεί από την ερευνητική μας ομάδα σε έντομα, έχει δείξει σημαντικές κυτταρικές και αναπαραγωγικές επιπτώσεις. Το συνεχώς αυξανόμενο ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας αλλά και της κοινωνίας για την πλήρη διαλεύκανση των επιπτώσεων στον άνθρωπο, μας οδήγησαν να επιλέξουμε ως πειραματόζωο για συνέχιση της έρευνάς μας, τον μυ *Mus musculus*, Balb/c. Έτσι σχεδιάστηκε μια ποικιλία πειραμάτων με άτομα διαφορετικής ηλικίας και φύλου τα οποία εκτέθηκαν σε συνθήκες «διαμορφωμένης εκπομπής» κινητού τηλεφώνου με μέγιστο «ρυθμό ειδικής απορρόφησης» (SAR, specific absorption rate) 0,8 W/Kg για διαφορετική διάρκεια και περιοδικότητα. Οι επιπτώσεις ελέγχονται με διάφορα κριτήρια όπως α) συμπεριφορά και ικανότητα εξερεύνησης νέου χώρου με ειδική διάταξη λαβυρίνθου που κατασκευάσαμε, β) με ιστολογική, ιστοχημική και ανοσοϊστοχημική ανάλυση, γ) με ανίχνευση απόπτωσης. Άλλη σειρά πειραμάτων περιελάμβανε δωρη έκθεση ζευγαριών μυών σε ακτινοβολία βάσης ασύρματου τηλεφώνου. Ως μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν αντίστοιχα άτομα στον ίδιο χώρο, αλλά προστατευμένα από την ακτινοβολία (Δίπλωμα Ευρεσιτεχνίας Λ.Χ.Μ., 1005265). Η ακτινοβολία και στις δύο περιπτώσεις συνεχίστηκε και κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, ενώ τα νεογνά σε μερικές περιπτώσεις επίσης συνέχισαν να ακτινοβολούνται. Τα μέχρι τώρα προκαταρκτικά αποτελέσματα υποδεικνύουν αλλαγή στη συμπεριφορά (δυσχέρεια διερεύνησης του λαβυρίνθου) και ανωμαλίες οστεοποίησης στα νεογνά. Πειράματα είναι σε εξέλιξη για την ανίχνευση απόπτωσης και για την ενεργοποίηση γονιδίων θερμικού πλήγματος.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς τον καθηγητή Λ.Χ. Μαργαρίτη

EFFECTS OF ELECTROMAGNETIC RADIATION FROM MOBILE AND WIRELESS (DECT) PHONES ON THE BEHAVIOUR AND DEVELOPMENT OF BALB/C MICE

Fragopoulou A.F., Prousalis A., Stasinopoulou M., Velentzas A., Koussoulakos S. and L.H. Margaritis

Dept of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, Athens University

The extensive research on the effects of electromagnetic radiation deriving from mobile phones has shown so far significant cellular and reproductive effects, on several types of organisms. Our group has been involved for long on the effects upon insects. However, since the concern of the scientific community is focused on health effects we have extended our work towards a mammal, the mouse *Mus musculus*, Balb/c. Thus a variety of experiments have been designed with mice of different age and sex which were exposed to conditions of 'modulated emission' using a conventional mobile phone operating at a maximum SAR (specific absorption rate) of 0,8 W/kg body tissue for different duration and periodicity. The overall effects are tested by various criteria, including: a) behaviour and ability to explore new areas using a special set-up of labyrinth with tubes, b) histological and cytochemical analysis and c) detection of apoptosis. Another series of experiments included an eight hour night time exposure of mice placed close to a wireless DECT (Digital Enhanced Cordless Telephone) base. Sham exposed mice were kept away from radiation within specially designed shielding (patent nr. 1005265 to LHM) under the same conditions. Exposure of mice was continued during pregnancy. In some cases offsprings were irradiated as well. The so far preliminary results indicate behavioral changes (difficulty in labyrinth investigation) and abnormal ossification of the newborn. Work is in progress to clarify whether apoptosis takes place, heat shock genes are activated, e.t.c.

This work has been supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to Professor L.H.Margaritis

**ΕΛΕΓΧΟΣ ΜΝΗΜΗΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΣΗΣ ΣΕ ΜΥΕΣ, ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΚΘΕΣΗ ΣΕ
ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ ΚΙΝΗΤΟΥ ΤΗΛΕΦΩΝΟΥ****Φραγκοπούλου Α.Φ.¹, Μιλτιάδους Π.², Σταματάκης Α.², Στυλιανοπούλου
Φ.², Κουσουλάκος Σ.¹ και Μαργαρίτης Λ.Χ.¹**¹Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Ε.Κ.Π.Α.²Εργαστήριο Βιολογίας-Βιοχημείας, Τμήμα Νοσηλευτικής, Ε.Κ.Π.Α.

Οι ιδιότητες των μη ιονιζουσών ακτινοβολιών έχουν αποτελέσει πεδίο έρευνας, αλλά και διαμάχης μεταξύ των επιστημονικών ομάδων ως προς τον βαθμό επικινδυνότητας. Οι διάφορες μελέτες που πραγματοποιούνται έχουν ως στόχο να διερευνήσουν τις τυχόν επιπτώσεις σε κύτταρα και σε οργανισμούς με απώτερο στόχο τον άνθρωπο. Η παρούσα έρευνα σχεδιάστηκε ώστε να ελεγχθεί εάν η ακτινοβολία των κινητών τηλεφώνων μπορεί να διαταράξει τις διαδικασίες μάθησης και μνήμης ειδικότερα στα παιδιά. Αφού έγινε αναγωγή ηλικίας μινών 45 ημερών, ως αντίστοιχη νέων όψιμης εφηβείας (θεωρώντας ως μέγιστο όριο ζωής τα 80 χρόνια στον άνθρωπο και τα δύο χρόνια στο ποντίκι), πραγματοποιήθηκαν ακτινοβολήσεις για συγκεκριμένο χρόνο. Στη συνέχεια ελέγχθηκε η ικανότητά τους για χωρική μάθηση και μνήμη στον υδάτινο λαβύρινθο κατά Morris (Morris, 1984). Πέντε μύες ράτσας Balb/c χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες, ενώ άλλοι πέντε μύες ακτινοβολήθηκαν για 90 λεπτά πριν την είσοδό τους στον υδάτινο λαβύρινθο. Τα πειραματόζωα εκπαιδεύτηκαν για τέσσερις ημέρες να εντοπίζουν τη θέση μιας βυθισμένης πλατφόρμας και δύο ώρες μετά ελέγχθηκε η ικανότητα ανάκλησης της θέσης αυτής-μεσοπρόθεσμης μνήμη. Η συμπεριφορά των ζώων κατά τη διάρκεια της εκπαίδευσης και της δοκιμασίας μνήμης καταγράφηκε με το λογισμικό Noldus, EthoVision 3.1 με τη χρήση ψηφιακής κάμερας CCD συνδεδεμένης σε ηλεκτρονικό υπολογιστή. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως οι ακτινοβολημένοι μύες με συνθήκες ακτινοβολίας κινητού τηλεφώνου (μέγιστος ειδικός ρυθμός απορρόφησης – SAR = 0,8 W/kg), επηρεάζονται ως προς την ικανότητα ανάκλησης της θέσης της βυθισμένης πλατφόρμας, πράγμα που υποδηλώνει ότι έχει πιθανώς διαταραχθεί η ικανότητα αποθήκευσης (παγίωσης) ή/και ανάσυρσης πληροφοριών. Σε μελλοντικά πειράματα θα αναζητηθούν οι μοριακοί μηχανισμοί και ενδεχόμενα οι κυτταρικές αλλαγές που βρίσκονται κάτω από τις μακροσκοπικές αυτές αλλαγές συμπεριφοράς.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς τον καθηγητή Λ.Χ. Μαργαρίτη

**MEMORY AND LEARNING TEST IN BALB/C MICE
FOLLOWING EXPOSURE TO MOBILE PHONE RADIATION**

**Fragopoulou A.F.¹, Miltiadous P.², Stamatakis A.², Stylianopoulou F.²,
Kousoulakos S.¹ and Margaritis L.H.¹**

¹Dept of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, Athens University, ²Laboratory of Biology-Biochemistry, School of Health Sciences, Faculty of Nursing, Athens University.

Non ionizing electromagnetic radiation (EMR) is a man-made sort of radiation that has been developed decades ago to serve various forms of wireless communication. The most recent development is the mobile phone communication (GSM and DTS systems) that has greatly expanded in all countries. Despite the intense research little is as yet known about the actual effects on molecules, cells and organisms. This research has been designed accordingly in order to reveal any possible malfunction in the process of learning and memory in mice *Mus musculus* Balb/c. The age of 45 days has been selected to correspond to late puberty in youngsters. Five mice were exposed to EMR for 90 min using a conventional mobile phone operating at a maximum SAR (specific absorption rate) of 0,8 watts/kg and another group of five mice was sham exposed serving as control. Both groups were trained in a Morris maze (Morris, 1984) for four days and thereafter their memory was tested using the same maze and the software Noldus, Etho Vision 3.1 using a CCD video camera. The recorded data indicated that mice exposed to the near field of a conventional mobile phone had difficulty in storing and/or retrieving information. In future experiments, the cellular/molecular mechanisms underlying this memory malfunction shall be investigated.

This work has been supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to Professor L.H.Margaritis

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΗΣ
ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ ΣΗΣΑΜΙΟΥ ΣΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΟΙΣΤΡΟΓΟΝΙΚΩΝ
ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ER α ΚΑΙ ER β ΣΤΟΝ ΠΡΟΣΤΑΤΗ ΚΑΙ ΤΗ ΜΗΤΡΑ
ΑΡΟΥΡΑΙΩΝ WISTER**

Φωτεινού Β.-Ε., Αναγνώστης Α., Παπαδόπουλος Α.Ι.

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΣΘΕ ΑΠΘ

Στα πλαίσια της εντεινόμενης έρευνας που πραγματοποιείται στον τομέα των βιολειτουργικών τροφίμων, καταβάλαμε προσπάθεια να εντοπίσουμε τις επιπτώσεις της χορήγησης διαφορετικής ποσότητας αποφλοιωμένου σησαμιού, στην έκφραση των οιστρογονικών υποδοχέων ER α και ER β του προστάτη και της μήτρας αρουραίων Wister. Με χρήση της μεθόδου Western blotting, διαπιστώσαμε ότι χορήγηση τροφής εμπλουτισμένης σε σησάμι σε ποσοστό 20%, 30% και 40% επάγει την έκφραση του ER β όπως επίσης και του ER α . Η παρατηρούμενη αύξηση είναι ανάλογη του ποσοστού, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι για τις ποσότητες που χρησιμοποιήσαμε στα πειράματά μας, η επαγωγή της έκφρασης του υποδοχέα ER β εξαρτάται από την ποσότητα του χορηγούμενου σησαμιού. Η αύξηση που παρατηρείται στην έκφραση του υποδοχέα ER α δεν φαίνεται να είναι στατιστικά σημαντική σε όλα τα πειράματά μας. Τα αποτελέσματα αυτά υποστηρίζουν μία ευεργετική επίδραση της κατανάλωσης σησαμιού στην υγεία, εφόσον φαίνεται να μειώνουν την αναλογία ER α /ER β μεταβολή που θεωρείται ως θετική για την πρόληψη εμφάνισης ορμονοεξαρτόμενων μορφών καρκίνου. Απομένει να προχωρήσουμε σε προσδιορισμό των επιπέδων του mRNA των γονιδίων που κωδικοποιούν τους δύο αυτούς υποδοχείς με χρήση της μεθοδολογίας Quantitative RT-PCR ώστε να μπορέσουμε να οδηγηθούμε σε περισσότερο ακριβή και ασφαλή συμπεράσματα.

EFFECT OF THE QUANTITY OF CONSUMED SESAME THROUGH THE DIET UPON THE EXPRESSION OF ER α AND ER β IN PROSTATE AND UTERUS OF WISTER RATS

Fotinou V.-E, Anagnostis A., Papadopoulos A.I.

Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Faculty of Sciences, ARISTOTLE UNIVERSITY OF THESSALONIKI

In the present study we attempted to estimate the effect of consumption of varying quantities of sesame that is considered as a bioactive food, through the normal diet upon the expression of estrogen receptors ER α and ER β in Wister rats. By means of Western blotting we found that treatment of rats with a normal diet enriched with various quantities of sesame (20%, 30% and 40%) causes increase in the expression of ER β as well as ER α . The increase in the expression of ER β is statistically significant and is positively related to the percentage content for sesame in the food supplied. The results in concern to the expression of ER α are not consistent. These results support the beneficial role of sesame consumption upon the health status of the organism, since it decreases the ratio of ER α /ER β , a condition claimed to favor prevention or inhibition of development of hormone dependent cancer. It remains to proceed to estimation of the levels of mRNA for the genes encoding for the two ERs in order to reach accurate and safe conclusions.

**ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΣΗΜΑΝΣΗΣ ΜΕ ¹³C ΚΑΙ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ
ΥΠΟΔΕΙΚΝΟΥΝ ΤΗΝ ΥΠΑΡΞΗ ΕΝΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ CO₂
ΣΤΑ ΦΥΜΑΤΙΑ ΤΟΥ *Lotus japonicus***

Φωτέλλα Μ., Τσίκου Δ., Κατινάκης Π. και Ε. Φλεμετάκης

Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, 11855
Αθήνα. E-mail: mflem@aua.gr

Η συμβιωτική αζωτοδέσμευση περιλαμβάνει την αλληλεπίδραση μεταξύ ψυχανθών και βακτηρίων του εδάφους (ριζόβια) και οδηγεί στο σχηματισμό του φυματίου, όπου το μοριακό άζωτο ανάγεται σε αμμωνία. Η διαδικασία αυτή είναι ενεργειακά δαπανηρή και απαιτεί τη μεταφορά στο φυμάτιο άνθρακα με τη μορφή σακχαρόζης. Παρά όμως την αυξημένη συσσώρευση στο φυμάτιο, του παραγόμενου από το μεταβολισμό άνθρακα CO₂, ελάχιστα έχει μελετηθεί εάν το φυμάτιο δύναται να αντισταθμίσει αυτή την κατανάλωση άνθρακα. Για να μελετηθεί η συνεισφορά του φυματίου στο ισοζύγιο άνθρακα του ψυχανθούς *L. japonicus*, πραγματοποιήθηκε σήμανση του ριζικού συστήματος φυτών μη εμβολιασμένων ή εμβολιασμένων με το βακτήριο *Mesorhizobium loti*, με ¹³C-φέροντα ανθρακικά ιόντα. Παράλληλα, μελετήθηκε η έκφραση γονιδίων που συμμετέχουν στη δέσμευση και το μεταβολισμό του CO₂ με τη χρήση της τεχνικής της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης πραγματικού χρόνου. Στα φυμάτια παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη σήμανση με ¹³C, γεγονός που ενισχύει τη συνεισφορά των φυματίων στην πρόσληψη άνθρακα στα εμβολιασμένα φυτά. Γενικά, σε σύγκριση με τα μη εμβολιασμένα φυτά, τα εμβολιασμένα εμπλουτίστηκαν σαφώς περισσότερο με ¹³C, σημαντικό ποσοστό του οποίου μεταφέρθηκε και ενσωματώθηκε στα υπέργεια όργανά τους. Επίσης, η μοριακή προσέγγιση έδειξε ότι η έκφραση γονιδίων που συμμετέχουν στο μεταβολισμό του μηλικού οξέος αυξήθηκε σημαντικά στους βλαστούς των εμβολιασμένων φυτών σε σχέση με τα φυτά που δεν έφεραν φυμάτια. Επιπλέον, η έκφραση γονιδίων που συμμετέχουν στη δέσμευση CO₂ απουσία φωτός αυξήθηκε σημαντικά στα φυμάτια και τη ρίζα των εμβολιασμένων φυτών συγκριτικά με τα μη εμβολιασμένα φυτά. Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας υποδεικνύουν την ύπαρξη ενός πιθανού φυσιολογικού και βιοχημικού μηχανισμού, ικανού να μειώνει τις απώλειες άνθρακα κατά τη διάρκεια της αζωτοδέσμευσης μέσω της άμεσης επαναπρόσληψης του CO₂ που ελευθερώνεται από την αναπνοή του φυτού και των ριζοβίων στα φυμάτια.

**¹³C TRACING AND TRANSCRIPTOMIC ANALYSIS INDICATE THE
EXISTENCE OF A DARK CO₂ FIXATION MECHANISM IN NODULES OF
*Lotus japonicus***

Fotelli M., Tsikou D., Katinakis P., and E. Flemetakis

*Department of Biotechnology, Agricultural University of Athens, Iera Odos 75, 11855 Athens.
E- mail: mflem@aua.gr*

Symbiotic nitrogen fixation (SNF) involves the complex interaction of legume plants with the soil bacteria collectively called Rhizobia. This interaction results in the formation of a novel plant organ, the root nodule in which the symbiotic form of rhizobia can biochemically transform molecular nitrogen into ammonia. SNF is a highly energy demanding process rendering the nodule a strong sink organ. Carbon and energy are transported in nodules mainly in the form of sucrose. One of the final products of carbon metabolism is CO₂, which is highly accumulating in nodules. However, little is known on nodules' potential to compensate for these carbon expenses. A ¹³C-pulse labelling experiment was conducted to examine the contribution of symbiotic nitrogen-fixing nodules to the carbon economy of *Lotus japonicus*. This approach was combined with molecular studies on key enzymes involved in carbon metabolism. ¹³C-pulse labelling was performed through the root system of plants un-inoculated or inoculated with *Mesorhizobium loti*, under controlled environmental conditions and with an experimental set-up excluding contamination of the plants' hypergeous parts with ¹³C. Nodules of inoculated roots became substantially enriched in ¹³C, indicating the contribution of nodules to carbon uptake in inoculated plants. Overall, inoculated plants were significantly more ¹³C-labelled than un-inoculated plants and a considerable amount of ¹³C was transferred and incorporated to their hypergeous organs. In an attempt to elucidate these findings on molecular level, gene expression studies were carried out by the use of the Real-Time PCR technique. Genes involved in malate metabolism were up-regulated in the stems of inoculated compared to un-inoculated plants. Moreover, genes involved in dark CO₂ fixation were highly expressed in the nodules and roots of inoculated compared to the un-inoculated plants. Our results are indicative of a possible physiological and biochemical mechanism capable of reducing carbon losses during SNF by the direct re-incorporation of CO₂ produced by plant and bacteroid respiration in the nodules.

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑ ΑΛΛΕΡΓΙΟΓΟΝΩΝ ΓΥΡΕΟΚΟΚΚΩΝ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *PARIETARIA JUDAICA* ΣΤΗΝ ΠΟΛΗ ΤΗΣ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

Φωτίου Χ., Δάμιαλης Α., Βώκου Δ.

Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,
Πανεπιστημιούπολη 54124. E-mail: chfotiou@bio.auth.gr

Οι γυρεόκοκκοι του είδους *Parietaria judaica* (περδικάκι) της οικογένειας Urticaceae αποτελούν μια από τις σημαντικότερες αιτίες αλλεργιών στις αστικές περιοχές της Μεσογειακής λεκάνης. Δεδομένης της επίδρασης του είδους στην ανθρώπινη υγεία και της μεγάλης εξάπλωσής του στη Θεσσαλονίκη, μελετήσαμε τα χαρακτηριστικά παραγωγής και κυκλοφορίας γυρεοκόκκων του σε δύο πληθυσμούς, βόρειας και νότιας έκθεσης, στο κέντρο της πόλης. Ακριβέστερα, μελετήσαμε τα χαρακτηριστικά κυκλοφορίας γυρεοκόκκων ολόκληρης της οικογένειας Urticaceae, καθώς δεν ήταν εφικτή περαιτέρω διάκριση με το οπτικό μικροσκόπιο. Για τη μελέτη της ανθοφορίας, παρακολούθησαμε ανά τακτά χρονικά διαστήματα τους δύο πληθυσμούς (κάθε 2-3 εβδομάδες) στη διάρκεια ολόκληρου του έτους. Προέκυψε ότι το είδος εμφανίζει δύο περιόδους ανθοφορίας, την άνοιξη και το φθινόπωρο, οπότε η παρακολούθηση ήταν πολύ πυκνότερη, περίπου ανά 5ήμερο. Σε κάθε παρατήρηση, καταγράψαμε το ποσοστό των ανοιχτών από το σύνολο των ερμαφρόδιτων ανθέων που έφεραν 45 βλαστοί για κάθε πληθυσμό. Σε τρία ερμαφρόδιτα άνθη από κάθε βλαστό που δεν είχαν ακόμη ανοίξει εκτιμήσαμε το μέγεθος των περιεχόμενων γυρεοκόκκων (σύνολο 90 ανθέων για κάθε πληθυσμό, για κάθε περίοδο ανθοφορίας). Παράλληλα, με γυρεοσυλλέκτη Burkard, συλλαμβάναμε τους ανεμομεταφερόμενους γυρεόκοκκους στο κέντρο της Θεσσαλονίκης. Η ανθοφορία στον πληθυσμό της νότιας έκθεσης την άνοιξη ξεκίνησε περίπου μία εβδομάδα νωρίτερα σε σχέση με τον πληθυσμό της βόρειας έκθεσης. Παρόμοια διαφορά δεν παρατηρήθηκε το φθινόπωρο. Η συνεισφορά των ανθέων του πληθυσμού νότιας έκθεσης σε γυρεόκοκκους ήταν πολύ μεγαλύτερη αυτής του πληθυσμού βόρειας έκθεσης την άνοιξη, ενώ και πάλι δεν παρατηρήθηκε διαφορά κατά το φθινόπωρο. Διαφορά στη γυρεοπαραγωγή ανά άνθος παρατηρήθηκε και σε σχέση με την περίοδο ανθοφορίας. Την άνοιξη ήταν περισσότερο από διπλάσια αυτής του φθινοπώρου. Η κορύφωση της ανθοφορίας του *P. judaica* την άνοιξη προσεγγίζει ικανοποιητικά την κορύφωση της κυκλοφορίας γυρεοκόκκων ολόκληρης της οικογένειας Urticaceae. Παρότι το είδος παρουσιάζει δεύτερη ανθοφορία το φθινόπωρο, δεν παγιδευτήκαν παρά ελάχιστοι γυρεόκοκκοι των Urticaceae, γεγονός που αποτελεί ιδιαίτερα ενδιαφέρον εύρημα. Οι λόγοι είναι άγνωστοι. Υποθέσεις προς διερεύνηση αφορούν τη σχέση μεταξύ χαρακτηριστικών γυρεοκόκκων και πνεόντων ανέμων, καθώς και μεταξύ μεγέθους παραγωγής και παγιδευσης. Προκύπτει ωστόσο ότι οι περιόδοι ανθοφορίας των ειδών και κυκλοφορίας των γυρεοκόκκων τους δεν ταυτίζονται πάντοτε.

PARIETARIA JUDAICA POLLEN PRODUCTION AND AIR TRANSFER IN THESSALONIKI AREA

Fotiou C., Damialis A., Vokou D.

*Department of Ecology, School of Biology Aristotle University of Thessaloniki
University Campus 54124. E-mail: chfotiou@bio.auth.gr*

Pollen of *Parietaria judaica* (Urticaceae) is one of the major causes of allergy in urban areas of the Mediterranean basin. Given the species' impact on human health and its wide distribution in Thessaloniki, we studied its pollen production in two populations in the centre of the city differing in exposure, southern and northern, and also pollen atmospheric circulation. More precisely, we studied the pollen circulation characteristics of the whole Urticaceae family, since further distinction was not feasible under the optical microscope. During the whole year, we monitored three sampling areas of 0.5 m² in each population, at regular time intervals (every 2-3 weeks). We found the species to have two flowering periods, in spring and in autumn; during these periods our observations were more frequent, about every five days; in each observation and from each population, we kept record of the ratio of open hermaphrodite flowers in 45 shoots. In each flowering period and from each population, we estimated the pollen grains carried by 90 indehiscent hermaphrodite flowers. By use of a Burkard trap in the centre of the city, we kept records of the air-borne pollen. In spring, flowering started nearly one week earlier in the population of southern exposure. No such difference was observed in autumn. The southern exposure population produced more pollen grains per flower and also more flowers per shoot. There was no difference in the pollen production per flower in autumn. Pollen production per flower differed between flowering periods; in spring, it was more than double that in autumn. Peak of flowering of *P. judaica* fairly coincided with the pollen transfer peak of the whole Urticaceae family. Even though the species, widely distributed in the city, displayed a second flowering period in autumn, negligible amounts of Urticaceae pollen were then trapped. The reasons of this interesting finding are still unknown. The relationship between pollen and wind features as well as between the size of pollen production and pollen trapping are to be investigated. Nevertheless, it is important to note that species flowering and pollen seasons do not always coincide.

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΣΥΝΕΧΟΥΣ ΚΑΙ ΔΙΑΚΟΠΤΟΜΕΝΗΣ
ΕΚΘΕΣΗΣ ΣΕ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ ΚΙΝΗΤΟΥ ΤΗΛΕΦΩΝΟΥ GSM 900 MHz**

Χαβδούλα Ε.Δ., Παναγόπουλος Δ.Ι. και Μαργαρίτης Λ.Χ.

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρων & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα 15784*

Δημοσιευμένα πειράματα του εργαστηρίου μας έχουν δείξει ότι η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία που εκπέμπεται από τα κινητά τηλέφωνα του συστήματος GSM, 900 MHz, διαμορφωμένη από ανθρώπινη φωνή (ομιλούσα εκπομπή), προκαλεί μείωση στην αναπαραγωγική ικανότητα του εντόμου *D. melanogaster* με 6 min έκθεση την ημέρα για 5 ημέρες. Η μείωση αυτή οφείλεται στο αυξημένο ποσοστό κυτταρικού θανάτου στα ωοθυλάκια κατά την ωογένεση, που παρατηρείται και φυσιολογικά ως μηχανισμός ελέγχου. Με στόχο να διερευνηθεί εάν και κατά πόσον είναι συσσωρευτική η επίδραση της ακτινοβολίας, ή εάν υπάρχουν βραχυπρόθεσμοι επιδιορθωτικοί μηχανισμοί, σχεδιάστηκαν πειράματα σύγκρισης της βιολογικής επίδρασης ανάμεσα στην διακοπτόμενη, (π.χ. 1 min κάθε 10 min για 6 φορές, 2 min κάθε 20 min για 3 φορές), και στη συνεχή έκθεση, (6min μία φορά), η επίδραση της οποίας έχει ήδη μελετηθεί σε προηγούμενη δημοσιευμένη εργασία μας. Τα προκαταρκτικά αποτελέσματα βασισμένα στην καταμέτρηση των θυγατρικών χρυσαλίδων που προκύπτουν κατά την αναπαραγωγή, καθώς και στην ανίχνευση απόδομημένου DNA στα ωοθυλάκια, έδειξαν πως η διακοπτόμενη έκθεση έχει περίπου την ίδια επίδραση όπως η συνεχής, πράγμα που ενδεχομένως υποδηλώνει πως για το συγκεκριμένο βιολογικό σύστημα της ωογένεσης στα έντομα λειτουργεί μηχανισμός συσσωρευτικής επίδρασης. Αντίστοιχα πειράματα είναι σε εξέλιξη σε ανώτερους οργανισμούς, όπως σε θηλαστικά, (ποντίκια *Mus musculus*, Balb/c), προκειμένου να διερευνηθεί εάν το φαινόμενο αυτό είναι καθολικό. Αυτό θα σημαίνει πως δεν έχει σημασία η διάρκεια κάθε συνομιλίας με το κινητό τηλέφωνο, αλλά η συνολική ημερήσια (ίσως και εβδομαδιαία) δόση ακτινοβολίας.

*Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του
Πανεπιστημίου Αθηνών προς τον καθηγητή Λ.Χ. Μαργαρίτη*

COMPARISON OF BIOLOGICAL EFFECTS BETWEEN CONTINUOUS AND INTERRUPTED EXPOSURE TO GSM 900 MHz MOBILE PHONE RADIATION

Chavdoula E.D., Panagopoulos D.I., Margaritis L.H.

Faculty of Biology, Department of Cell Biology and Biophysics, University of Athens, Panepistimiopolis, 15784 Zografou, Athens.

According to our published work, 6 min exposure per day for 5 days to GSM 900 MHz mobile phone electromagnetic radiation, "modulated" by human voice (speaking emission) was found to decrease the reproductive capacity of the insect *D. melanogaster*. We have found that this decrease is due to induced cell death in the follicles, a process that normally occurs as a check-point control mechanism during oogenesis. In order to find out whether interrupted exposure has the same effect as the one-dose exposure, we designed the following experiments: a) One continuous 6 min exposure per day, b) three 2 min exposures, with a 20 min interval between them, and c) six 1 min exposures, with a 10 min interval between them. The so far results based on the number of F1 pupae and the DNA fragmentation in the egg chambers cells nuclei from virgin female insects demonstrated by acridine orange staining and TUNEL assay, the interrupted exposure seems to have almost the same biological effect as the continuous one. These observations may suggest that GSM mobile phone radiation produces cumulative effects on the biological system we examined. Similar experiments are in progress in order to test whether this effect also expands into other organisms like mice (*Mus musculus*, Balb/c). This would mean that the biological effects produced by mobile phone radiation are mainly associated with the entire time of the daily or weekly exposures, and not with the duration of each one.

This work has been supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to Professor L.H.Margaritis

**ΧΡΗΣΗ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΦΥΤΩΝ ΩΣ ΕΔΑΦΟΒΕΛΤΙΩΤΙΚΩΝ ΣΕ ΟΡΓΑΝΙΚΕΣ
ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ****Χάλκος Δ.¹, Καδογλίδου Κ.², Καραμανώλη Κ.², Κωνσταντινίδου Ε.-Ι. Α.², Βώκου Δ.¹**¹Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ²Εργαστήριο Γεωργικής Χημείας, Τμήμα Γεωπονίας, Αριστο-
τέλειο Πανεπιστήμιο, 54124 Θεσσαλονίκη. E-Mail: dchalkos@bio.auth.gr

Ακρογωνιαίος λίθος της οργανικής γεωργίας είναι η ύπαρξη γόνιμου, μικροβιακά ενεργού εδάφους. Για την ικανοποίηση αυτής της ανάγκης, χρησιμοποιούνται εδαφοβελτιωτικά και εφαρμόζονται πρακτικές δημιουργίας χούμου. Στην παρούσα εργασία, διερευνήσαμε τη δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν αρωματικά φυτά ως εδαφοβελτιωτικά για τους ακόλουθους λόγους. Τα αιθέρια έλαια που περιέχουν δρουν επιλεκτικά ενάντια στη φύτευση και τη φυτική αύξηση, είναι γνωστά για την αντιμικροβιακή τους δράση έναντι φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών, ενώ έχει αναφερθεί ότι ευνοούν τους εδαφικούς μικροβιακούς πληθυσμούς και προωθούν τον εδαφικό μεταβολισμό. Η τομάτα (*Solanum lycopersicum*) αποτελεί ένα από τα κοινότερα βιολογικά καλλιεργούμενα λαχανικά στην Ελλάδα, μια χώρα πλούσια σε αρωματικά φυτά, γι αυτό και επιλέχθηκε για τα πειράματα. Χρησιμοποιήσαμε φύλλα των *Mentha spicata* (δυόσμος), *Salvia fruticosa* (φασκόμηλο), *Lavandula stoechas* (λεβάντα), *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (ρίγανη) και μελετήσαμε την επίδραση που έχουν στη φύτευση και αύξηση της τομάτας. Ξερά φύλλα καθενός από αυτά τα αρωματικά φυτά αναμείχθηκαν με έδαφος από τα ανώτερα 10 cm οριοθετημένων επιφανειών ενός οργωμένου αγρού, σε συγκεντρώσεις 0% (δείγμα αναφοράς), 2%, 4% και 8% (κατά βάρος). Αμέσως μετά, καθώς και 20, 40 και 60 ημέρες μετά την ενσωμάτωση των φύλλων στο έδαφος, δείγματα από όλες τις επεμβάσεις μεταφέρθηκαν σε σπορεία και σπάρθηκαν με σπέρματα τομάτας. Τρεις εβδομάδες αργότερα μετρήθηκε ο αριθμός και το ύψος των φυταρίων. Στις περισσότερες περιπτώσεις, ο δυόσμος οδηγούσε σε αύξηση της φύτευσης και της επιμήκυνσης, η λεβάντα και η ρίγανη είχαν ανασταλτική επίδραση και το φασκόμηλο καμία. Με βάση αυτά τα αποτελέσματα, επιλέξαμε για περαιτέρω μελέτη το δυόσμο και το φασκόμηλο. Επαναλάβαμε το πείραμα επεκτείνοντας την διάρκειά του στις 90 ημέρες και εκτιμήσαμε επιπλέον την επιφάνεια του μεγαλύτερου φύλλου και το ξηρό βάρος των φυταρίων, καθώς και το μέγεθος και τη δραστηριότητα των εδαφικών μικροβιακών πληθυσμών. Τα αποικοδομούμενα φύλλα του δυόσμου οδήγησαν σε αύξηση όλων των φυτικών παραμέτρων, σε όλες τις επεμβάσεις, εκτός από αυτές στην αρχή του πειράματος. Δεν υπήρξε αναστολή της φύτευσης αλλά παρατηρήθηκε σε αρκετές περιπτώσεις αναστολή της αύξησης στις επεμβάσεις με φύλλα φασκόμηλου. Και τα δύο αρωματικά φυτά οδήγησαν σε εντυπωσιακή αύξηση του μεγέθους των μικροβιακών πληθυσμών που εκφράστηκε και στους ρυθμούς αποικοδόμησης. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν τη μεγάλη σημασία που μπορεί να έχει η εφαρμογή φύλλων δυόσμου σε καλλιέργειες τομάτας ως εδαφοβελτιωτικού. Τα φύλλα του φασκόμηλου επιφέρουν βελτίωση των ιδιοτήτων του εδάφους. Καθώς όμως έχουν (έστω και μικρή) ανασταλτική δράση στην αύξηση της τομάτας, θα πρέπει να δοκιμαστούν και σε άλλες καλλιέργειες, όπου θα μπορούσαν να βρουν αποτελεσματικότερη εφαρμογή.

AROMATIC PLANTS FOR SOIL AMENDMENT IN ORGANIC FARMING

Chalkos D.¹, Kadoglidou K.², Karamanoli K.², Constantinidou H.-I.A.², Vokou D.¹

¹Department of Ecology, School of Biology, ²Laboratory of Agricultural Chemistry, Aristotle University, 54124 Thessaloniki. E-Mail: dchalkos@bio.auth.gr

A microbially active soil is the foundation of organic farming. To ensure soil productivity and produce quality, soil amendment and humus building practices are applied that aim at supplying plant nutrients, retaining soil moisture, and contributing to pest and weed control. In the current research we examined whether aromatic plants can be used as soil amendment supplements in organic horticulture. The background information for these experiments is the biological activity of essential oils that have been known to selectively inhibit seed germination and seedling growth, to inhibit plant pathogens, but also to promote growth of soil microbes and enhance soil metabolism. Tomato (*Solanum lycopersicum*) was selected for the experiments as it is one of the most commonly organically grown vegetables in Greece, a country rich in aromatic plants. We used leaves of four aromatic plants, *Mentha spicata*, *Salvia fruticosa*, *Lavandula stoechas*, *Origanum vulgare* ssp. *hirtum*, and we examined their effect on tomato germination and growth. Dry leaves of each aromatic plant were mixed with the upper 10 cm of soil in plots of a furrowed field, at concentrations 0% (control samples), 2%, 4% and 8% w/w. Right after the mixture incorporation in the soil, and also 20, 40 and 60 days later, soil samples from every treatment were placed into polystyrene trays and tomato seeds were sown. Three weeks later, we recorded the number and height of emerging seedlings. In most cases, *M. spicata* significantly increased tomato germination and elongation, whereas *L. stoechas* and *O. vulgare* ssp. *hirtum* had significant inhibitory effects. Given these results, we chose *M. spicata* and *S. fruticosa* for further investigation. The experiment was repeated as above but prolonged to 90 days. In addition to the parameters described above, we recorded the size of the largest leaf, the dry weight of each tomato individual, and the microbial population size and activity. Decomposing leaves of *M. spicata* significantly increased germination, shoot height, leaf size and dry weight of tomato individuals at all concentrations and all time intervals tested, except at the beginning of the experiment. Incorporation of *S. fruticosa* leaves did not have any inhibitory effect on germination, but inhibited seedling elongation, in several cases; nevertheless, the length of treated seedlings was never less than 75% of the control ones. Both *M. spicata* and *S. fruticosa* treatments increased soil microbial population sizes; this increase was most pronounced in *M. spicata* treatments. Stimulation of soil microbes was reflected in decomposition rates, which were remarkably higher than those in the untreated soils. These results provide substantial evidence that soil incorporation of *M. spicata* leaves is a very promising soil amendment practice in tomato organic farming. *S. fruticosa* leaves improve soil properties and could also be used for soil amendment; nevertheless, their negative effects on tomato growth suggest that they should be examined on other crops, where their use would be more appropriate.

**ΔΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΑΡΙΘΜΗΤΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ ΣΤΗ ΧΡΟΝΙΑ ΜΥΕΛΟΓΕΝΗ
ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ ΜΕΣΩ ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΟΥ ΓΕΝΩΜΑΤΙΚΟΥ ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΥ ΣΕ
ΣΕΙΡΑ (aCGH)**

Χαναλάρης Α.¹, Brazma D., Valgañón M., Virgili A., Grace C., Nacheva E.P.²

*Royal Free and University College London Medical School, Academic Haematology,
Rowland Hill Street, NW3 2PF, UK.*

E-mail: 1a.chanalaris@medsch.ucl.ac.uk ; ² e.nacheva@ucl.ac.uk

Χρησιμοποιήσαμε συγκριτικό γενωματικό υβριδισμό εν σειρά (aCGH) στη χρόνια μυελογενή λευχαιμία (ΧΜΛ) για να ανακαλύψουμε κοινά χαρακτηριστικά σε ασθενείς με ΧΜΛ, έτσι ώστε να διαπιστώσουμε, πέρα από την παρουσία του χρωμοσώματος Φιλαδέλφειας, τη συμμετοχή του γενετικού υλικού στην εξέλιξη της ασθένειας. Χρησιμοποιώντας 1Mb BAC array (SGI) σε ασθενείς με ΧΜΛ και ΧΜΛ κυτταρικές σειρές, ανιχνεύσαμε τα εξής: α) δομικές και αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες, που προσβάλλουν όχι μόνο εκτεταμένες αριθμητικές ανωμαλίες (ανιχνεύσιμες στο χρωμοσωμικό επίπεδο) αλλά και κρυφές (μέχρι και 100kb) ανωμαλίες. β) Πολλαπλά αντίγραφα περιοχής μεγέθους 800kb περίπου, μετά την περιοχή θραύσης του γονιδίου ABL1 τελομερικά (9q34.12) στις κυτταρικές σειρές MEG-01, MC3, EM-2 και CML-T1. Μέσω φθορίζοντα υβριδισμό *in situ* (FISH) δείχνουμε ότι τα πολλαπλά αντίγραφα είναι αποτέλεσμα δομικών ανωμαλιών, κυρίως διπλασιασμών εν σειρά (tandem) ενός μόνο μέρους του γενωματικού υλικού (αμπλικόνιο). Το κομμάτι αυτό έχει σταθερά σημεία θραύσης με το εγγύτερο σημείο στο γονίδιο ABL1, ενώ το απώτερο σημείο θραύσης είναι σε γειτνίαση με το γονίδιο RAPGEF1. Το αμπλικόνιο αυτό περιέχει αρκετά γονίδια, μεταξύ των οποίων είναι NUP214 και LAMC3. Επίσης παρόμοιοι διπλασιασμοί εξακριβώθηκαν με FISH σε υποκλώνο της κυτταρικής σειράς KYO-1 και σε 5 από 12 ασθενείς με διπλό χρωμόσωμα Φιλαδέλφειας. γ) Αντιφατικές αριθμητικές ανωμαλίες αντιγράφων: έλλειψη ενός κλώνου BAC σε περιοχή διπλασιασμού και αντιστρόφως. Τέτοιες αλλαγές παρατηρήθηκαν σε ασθενείς και κυτταρικές σειρές και FISH και PCR έδειξαν ότι δεν αποτελούν μεθοδολογικά τεχνήματα. Τα πιο συχνά βρέθηκαν στις εξής περιοχές: 1q22-qter, 6q23-27 και 9p21. δ) Περισσότερες από 100 διακυμάνσεις αριθμού αντιγράφων (CNV) που δεν έχουν περιγραφεί προηγούμενα.

UNUSUAL SINGLE BAC COPY NUMBER CHANGES IN CHRONIC MYELOID LEUKEMIA: EXAMPLES FROM CELL LINES AND PATIENTS

Chanalaris A., Brazma D., Valgañón M., Virgili A., Grace C., and E.P. Nacheva

Royal Free and University College London Medical School, Academic Haematology, Rowland Hill Street, NW3 2PF, UK

The advent of aCGH has enabled us compare two or more genomes and led to impressive discoveries in the variation of our genetic material. The plethora of cryptic numerical aberrations in diseases are discovered with relative ease, the discovery of copy number variations and the discovery of disease associated genomic loci by single nucleotide polymorphisms are the contributions of this technology. Previous studies have used aCGH in CML to discover common features among CML patients in order to elucidate the relevance of the genetic background in CML disease progression. By employing aCGH in CML patients and CML cell lines we came across consistent numerical changes of large areas adjacent to the BCR/ABL1 fusion and also single BAC numerical changes interspersed throughout the genome that are not compliant with the numerical changes of the neighbouring region. Patient and cell line material was analysed by 1Mb BAC array (SGI). The unusual numerical aberrations were confirmed by FISH and quantitative real time PCR. In addition to detection of genome imbalances, affecting regions both large (detectable at chromosome level) and cryptic (as small as 100Kb) array CGH was instrumental in revealing complex structural rearrangements. (i) Amplification of the region downstream of ABL1 gene: A several fold copy number gain of an 800 kb region downstream of the ABL1 breakpoint at 9q34.12 region was identified by high resolution array CGH in the cell lines MEG-01, MC3, EM2 and CML-T1. FISH mapping revealed that this genomic gain is a result of a structural change, namely a tandem duplication of the same amplicon. The latter shows a consistent proximal breakpoint at the ABL1, while its distal boundaries fall within the RAPGEF1 gene. This amplicon contains several genes, including NUP214, LAMC3 and RAPGEF1. Similar gains/ amplifications were also identified by FISH in a subclone in the cell line KYO-1 and were seen in 5 out of 12 cases with double Ph. (ii) Discordant copy number changes: loss of single BAC locus within a gained region and visa versa. This phenomenon, clearly detectable at the graphic presentation of the array data, has been detected in several patients and cell line genome profiles alike. The most frequently seen are the ones at the regions of 9p21, 6q23-27 and 1q22-qter were further investigated and confirmed by FISH and qPCR. We are presenting some cases of unusual copy number aberrations, unusual in that they go against the numerical changes of the surrounding genomic area. These changes are not artefacts and we are currently investigating the possibility of a mechanistic reason behind their appearance.

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΦΥΛΟΥ ΜΕ ΔΙΑΧΩΡΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕΤΡΙΚΩΝ
ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΤΩΝ ΜΑΚΡΩΝ ΟΣΤΩΝ ΤΟΥ ΑΝΩ ΑΚΡΟΥ ΑΠΟ ΤΗΝ
«ATHENS COLLECTION»**

Χαρίση Δ.¹, Ηλιόπουλος Κ.¹, Κοίλιας Χ.² & Σ.Κ. Μανώλης¹

¹Ερευνητική Ομάδα Βιολογικής Ανθρωπολογίας, Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου,
Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη
15784 Αθήνα. E-mail: anthropologos@yahoo.com ; smanol@biol.uoa.gr

²Τμήμα Πληροφορικής, ΤΕΙ Αθήνας, Οδός Αγ. Σπυρίδωνος Αιγάλεω Αττικής 12210
E-mail: koilias@teiath.gr

Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι οι μετρικές μέθοδοι προσδιορισμού φύλου από το σκελετό είναι συγκεκριμένες για κάθε πληθυσμό. Ο προσδιορισμός του φύλου από τα ανθρώπινα μακρά οστά έχει μελετηθεί από αρκετούς ερευνητές. Έχουν αναφερθεί επίσης ότι οι μετρήσεις των μακρών οστών του άνω άκρου προσδιορίζουν το φύλο. Αυτή η μελέτη είχε ως σκοπό να καθορίσει εάν τα τρία μακρά οστά του άνω άκρου μπορούν να παρέχουν αξιόπιστο προσδιορισμό φύλου, όπως κάνουν τα μακρά οστά του κ. άκρου. Το υλικό αποτελείται από τα μακρά οστά του ά. άκρου 106 αρρένων και 86 θηλέων, που προέρχονται από τη Σύγχρονη Ανθρώπινη Σκελετική Συλλογή του Τομέα Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου (ΕΚΠΑ). Συλλέξαμε τα μετρικά δεδομένα των μακρών οστών του άνω άκρου (βραχιόνιο, κερκίδα και ωλένη) (ΧΔ, ΗΚ). Η διαχωριστική ανάλυση των βιομετρικών δεδομένων κάθε μακρού οστού έδωσε πολύ υψηλή διάκριση. Το ποσοστό των σωστών ταξινομήσεων ανά φύλο των διαφορετικών μακρών οστών κυμαίνεται από 90,30% (για ωλένη) μέχρι 95,70% (για βραχιόνιο). Διαμορφώσαμε τους συντελεστές των εξισώσεων διαχωρισμού σε ένα εργαλείο προσδιορισμού του φύλου από το άνω άκρο (και για τις δύο πλευρές) χρησιμοποιώντας ένα λογιστικό φύλλο του Excel.

| | Upper arm Sexing tool | | | | Left | |
|----------------|-----------------------|---------|--------|------|----------|------|
| | ML | VHD/MPW | EW/MDW | Υ | M/F | Suc. |
| Humerus | 306 | 47,41 | 66 | 7,56 | M | 94% |
| Radius | 229 | 21,94 | 32 | 3,59 | M | 94% |
| Ulna | 245 | 27,82 | 17,91 | 4,06 | M | 90% |

Αυτό το εργαλείο μπορεί να εφαρμοστεί περαιτέρω μετά τον προσδιορισμό του φύλου ενός σκελετικού δείγματος από τους πυελικούς και κρανιακούς μορφολογικούς χαρακτήρες και ειδικά σε αποσπασματικό αρχαιολογικό σκελετικό υλικό.

**SEX DETERMINATION BY DISCRIMINANT ANALYSIS OF THE
BIOMETRIC DATA OF ARM LONG BONES FROM THE "ATHENS
COLLECTION"**

Charisi D.¹, Eliopoulos C.¹, Koilias Chr.² & S.K. Manolis¹

¹*Dept of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis 15784 Athens, Greece*

E-mail: anthropologos@yahoo.com ; smanol@biol.uoa.gr

²*Department of Informatics, Technological Institute of Athens, Ag. Spyridonos Str, 12 210 Aegaleo Attica, Greece. E-mail: ckoilias@teiath.gr*

Several studies have shown that metric sex determination methods of the skeleton are population-specific. Sex identification of human long bones has been studied by several investigators. Measurements of the long bones of the upper arm have also been reported as indicators of sex. This study was designed to determine whether the three long bones of the upper arm can provide reliable sex determination, as can the lower leg bones. The material is consisted of dried upper arm long bones of 106 Greek males and 86 females coming from the Modern Human Skeletal Collection of the Department of Animal & Human Physiology (NKUA). We collect metrical data of the long bones of the upper arm (humerus, radius and ulna). The Discriminant Analysis of the metrical data of each long bone gave very high discrimination. The rate of correct sex discrimination based on different long bone is ranging from 90.30% (for ulna) to 95.70% (for humerus). We elaborate the discriminant classification factors to an upper extremity sexing tool (for both sides) using a spreadsheet of Excel.

| Upper arm Sexing tool | | | | | Left | |
|-----------------------|-----|---------|--------|------|----------|------|
| | ML | VHD/MPW | EW/MDW | Y | M/F | Suc. |
| Humerus | 306 | 47,41 | 66 | 7,56 | M | 94% |
| Radius | 229 | 21,94 | 32 | 3,59 | M | 94% |
| Ulna | 245 | 27,82 | 17,91 | 4,06 | M | 90% |

This tool can be applied additionally to the assessment of sex in a large skeletal sample from pelvic and cranial morphological features, especially in segmental archaeological skeletons.

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΝΟΣΟΤΡΟΠΟΠΟΙΗΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ
ΓΑΛΑΚΤΟΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΣΤΟΝ ΕΝΤΕΡΙΚΟ ΒΛΕΝΝΟΓΟΝΟ****Χρηστίδου Α.¹, Χρίστογλου Ν.¹, Κουρελής Α.¹, Τζανετάκης Ν.², Λιτοπούλου-
Τζανετάκη Ε.², Γιαγκου Μ.¹**¹Τομέας Γενετ., Ανάπτ. και Μορ. Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ²Εργαστ. Μικροβιολ. και Υγιειν. Τροφ., Τμήμα Γεωπονίας, Α.Π.Θ.

Σε προηγούμενα πειράματα προσδιορίστηκε η ανοσοτροποποιητική δράση (παραγωγή κυτοκινών) συγκεκριμένων στελεχών γαλακτοβακτηρίων στο λεπτό έντερο ποντικών. Στην εργασία αυτή προσδιορίστηκε η παραγωγή των ίδιων κυτοκινών (TNF, IFN, IL-10) καθώς και αντισωμάτων τάξης IgA στο παχύ έντερο. Ανοσοφθορισμός σε τομές από το παχύ έντερο ποντικών που τους χορηγήθηκε στοματικά τα γαλακτοβακτήρια [*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* (DC412) και *Lactobacillus paracasei* (G15.11) *Lactobacillus acidophilus* (NCFB1748)] έδειξαν αυξημένο αριθμό κυττάρων που παράγουν τις παραπάνω κυτοκίνες καθώς και IgA. Υψηλότερη απόκριση παρατηρήθηκε με τα στελέχη DC412 και NCFB1748 (γνωστό προβιοτικό). Τα αποτελέσματα αυτά είναι παρόμοια με αυτά που παρατηρήθηκαν στο λεπτό έντερο. Προσδιορίστηκαν επίσης με ανοσοφθορισμό συγκεκριμένοι Toll Like Receptors (TLRs) σε κύτταρα του εντερικού βλεννογόνου έπειτα από τη χορήγηση των παραπάνω στελεχών βακτηρίων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το NCFB1748 και DC412 επηρεάζουν τον αριθμό των κυττάρων που παράγουν TLR2, TLR6 και TLR9 ενώ το στέλεχος G15.11 επηρεάζει τους TLR4. Το γεγονός αυτό δείχνει την παρόμοια ανοσοτροποποιητική δράση των στελεχών NCFB1748 και DC412 αποτέλεσμα που ενισχύει τον χαρακτηρισμό του DC412 ως προβιοτικού μικροοργανισμού.

**DETERMINATION OF IMMUNOMODULATING ACTIVITY OF
LACTOBACILLUS ON INTESTINE MUCOSA**

**Christidou A.¹, Christoglou N.¹, Kourelis A.¹, Tzanetakis N.², Litopoulou-
Tzanetaki E.², Yiangou M.¹**

¹*Dept. Genet., Dev. & Mol.Bio.* ²*Lab. of Food Microbiol. & Hygiene, Faculty of Agric, AUTH.*

In previous studies on mice, the immunomodulating activity (cytokine production) of specific strains of the genus *Lactobacillus* on small intestine sections was determined. In this study, the production of the same cytokines (TNF, IFN, IL-10) as well as IgA antibody production by large intestine cells has been determined. Immunofluorescence on sections of large intestine of mice which has been orally given lactobacilli has shown increased number of cells that produce the above cytokines and IgA antibody. The strains DC412 and NCFB 1748 (known as probiotic) have shown the higher response. These results are similar to the ones found on the small intestine. Moreover, specific TLRs were determined by immunofluorescence on intestine mucosal after treatment with the above strains. Our results show that NCFB 1748 and DC412 affect the number of cells that produce TLR2, TLR6 and TLR9 while the G15.11 influences only TLR4 production. The similar immunomodulatory activity between the NCFB 1748 and DC412 strains, contributes to the characterisation of DC412 as probiotic potential.

**ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΒΙΟΓΕΝΕΣΗΣ ΤΩΝ ΛΙΠΟΠΡΩ-ΤΕΪΝΩΝ
ΥΨΗΛΗΣ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑΣ (HDL): ΓΝΩΣΗ ΠΟΥ ΑΠΟΚΤΗ-ΘΗΚΕ ΑΠΟ
ΜΕΛΕΤΕΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΣΕ ΠΟΝΤΙΚΙΑ****Χρόνη Α. ***

*Ινστιτούτο Βιολογίας, Εθνικό Κέντρο Έρευνας Φυσικών Επιστημών «Δημόκριτος»,
Αγία Παρασκευή, 15310 Αθήνα, Email: achroni@bio.demokritos.gr*

Επιδημιολογικές και κλινικές μελέτες έδειξαν ότι η αθηροπροστατευτική δράση των HDL καθορίζεται από τη συγκέντρωση και την ποιότητα τους. Στα πρώτα βήματα της βιογένεσης των HDL, η απολιποπρωτεΐνη A-I (αποA-I), που είναι η κύρια πρωτεΐνη των HDL, δεσμεύει φωσφολιπίδια και χοληστερόλη μέσω των αλληλεπιδράσεων της με τον μεταφορέα λιπιδίων ABCA1 και λιπιδιώνεται βαθμιαία σχηματίζοντας δυσκοειδείς HDL. Στη συνέχεια, η αποA-I ενεργοποιεί το ένζυμο εστεροποίησης της χοληστερόλης LCAT οδηγώντας στη μετατροπή των δυσκοειδών HDL σε σφαιρικές. Κατόπιν, οι HDL αλληλεπιδρούν με τον υποδοχέα των HDL, το μεταφορέα χοληστερόλης ABCG1 και με διάφορες λιπάσες και πρωτεΐνες μεταφοράς λιπιδίων με αποτέλεσμα την αναδιοργάνωση των HDL. Προβληματικές αλληλεπιδράσεις της αποA-I με άλλες πρωτεΐνες του μονοπατιού των HDL μπορούν να αναστείλουν τη βιογένεση των HDL ή να οδηγήσουν στο σχηματισμό HDL με διαταραγμένη σύσταση, σχήμα, μέγεθος και ιδιότητες. Για να κατανοήσουμε το μονοπάτι μεταβολισμού των HDL εκφράσαμε με γονιδιακή μεταφορά μέσω αδενοϊών ένα μεγάλο αριθμό μεταλλαγμένων μορφών της ανθρώπινης αποA-I σε ποντίκια που στερούνται αποA-I και παρατηρήσαμε ότι μεταλλάξεις στην αποA-I: α) που εμποδίζουν την αλληλεπίδραση της με τον ABCA1 εμποδίζουν τη βιογένεση των HDL, β) που αναστέλλουν την ενεργοποίηση της LCAT οδηγούν στο σχηματισμό δυσκοειδών HDL, γ) που αναστέλλουν την πρωτεΐνη μεταφοράς φωσφολιπιδίων PLTP προκαλούν δυσλιπιδαιμία, δ) μπορούν να οδηγήσουν σε σοβαρή υπερχοληστερολαιμία. Οι φαινότυποι που παρατηρούνται στα ποντίκια λόγω μεταλλάξεων στην αποA-I, όπως και σε άλλες πρωτεΐνες του μονοπατιού των HDL, μπορούν να βοηθήσουν στην αναγνώριση παρόμοιων φαινοτύπων στους ανθρώπους, να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες διάγνωσης και πρόγνωσης της δυσλιπιδαιμίας ή της αθηροσκλήρωσης και να καθοδηγήσουν στην κατάλληλη θεραπεία.

* Προσκεκλημένη ομιλήτρια

**MOLECULAR MECHANISMS OF HIGH DENSITY LIPOPROTEIN (HDL)
BIOGENESIS: LESSONS LEARNED FROM GENE TRANSFER STUDIES IN
MOUSE MODELS**

Chroni A. *

*Institute of Biology, National Center for Scientific Research "Demokritos",
Agia Paraskevi, 15310 Athens, Email: achroni@bio.demokritos.gr*

Epidemiological and clinical studies have shown that the atheroprotective functions of HDL are determined by their quantity and quality. In the early steps of the pathway of HDL biogenesis, apolipoprotein A-I (apoA-I), which is the main protein of HDL, acquires phospholipid and cholesterol via its interactions with the ABCA1 lipid transporter. Following additional steps of lipidation, apoA-I proceeds to form discoidal HDL particles. ApoA-I in discoidal HDL activates the cholesterol esterifying enzyme LCAT, leading to conversion of discoidal to spherical HDL. HDL is remodelled following interactions with the HDL receptor and the ABCG1 cholesterol transporter as well by the action of various lipases and lipid transfer proteins. Defective interactions of apoA-I with other proteins of the HDL pathway may either inhibit the biogenesis of HDL or generate HDL particles with abnormal composition, shape, size and functions. To obtain insights on the pathway of HDL metabolism we have introduced a series of mutations in human apoA-I. Expression of these mutants in apoA-I-deficient mice by adenovirus-mediated gene transfer resulted in distinct phenotypes as follows: a) mutations that inhibit the apoA-I/ABCA1 interactions prevented the formation of HDL, b) mutations that inhibit LCAT resulted in the production of discoidal HDL, c) mutations that inhibit the phospholipid transfer protein PLTP resulted in dyslipidemia, d) mutations that resulted in severe hypertriglyceridemia. The phenotypes observed in mice by apoA-I mutations, as well as in other proteins of the HDL pathway, may facilitate early diagnosis of similar phenotypes in humans, can serve as diagnostic and prognostic markers of dyslipidemia or atherosclerosis and provide guidance for proper treatment.

* *Invited speaker*

**ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΗ ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΠΟΤΑΜΙΩΝ ΕΝΔΙΑΙΤΗΜΑΤΩΝ ΣΤΟ
ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΤΜΗΜΑ ΤΗΣ ΛΕΚΑΝΗΣ ΑΠΟΡΡΟΗΣ ΤΟΥ ΠΟΤΑΜΟΥ
ΣΤΡΥΜΟΝΑ**

Χρόνης Ι., Πατσιά Α., Sander St., Λαζαρίδου Μ.

Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ.

Σκοπός της εργασίας ήταν η καταγραφή των ποτάμιων ενδιαιτημάτων στο Ελληνικό τμήμα της λεκάνης απορροής του ποταμού Στρυμόνα. Για την εκτίμηση της δομής των ποτάμιων ενδιαιτημάτων εφαρμόστηκε η μέθοδος του River Habitat Survey (RHS) το Νοέμβριο και το Δεκέμβριο του 2007. Το υπό μελέτη ποτάμι χωρίστηκε σε τυπολογικά διαφορετικά τμήματα, στα οποία έγιναν τυχαίες δειγματοληψίες που κάλυπταν περίπου το 25% της συνολικής έκτασης του ελληνικού τμήματος της λεκάνης απορροής του ποταμού. Υπολογίστηκαν η δομική ποικιλότητα των ενδιαιτημάτων (HQA-Habitat Quality Assessment) και ο δείκτης εκτίμησης των τεχνητών τροποποιήσεων του ποταμού (HMS-Habitat Modification Score). Οι μετρούμενοι δείκτες και η ανάλυση των δεδομένων στοιχειοθετεί την εφαρμογή της οδηγίας Πλαίσιο 2000/60/ΕΚ. Τα καταγραμμένα στοιχεία βοήθησαν την επιλογή κατάλληλων σταθμών παρακολούθησης στα ποτάμια υδάτινα σώματα της λεκάνης απορροής όπου λαμβάνονται και βιολογικά ποιοτικά στοιχεία.

**PRELIMINARY RECORD OF RIVER HABITATS OF THE GREEK PART OF
THE CATCHMENT AREA OF THE STRYMON RIVER**

Chronis I., Patsia A., Sander St., Lazaridou M.

Laboratory of Zoology, Department of Biology, AUTH

This project aimed to the preliminary record of river habitats in the Greek part of Strymon/Struma river basin. The River Habitat Survey (RHS) was applied in November and December 2007 for the evaluation of the structure of the river habitats. The river was separated in typologically different parts and sampling sites were randomly selected that covered the 25 % of the Greek part of the Strymon river catchment area. Additionally, the HQA (Habitat Quality Assessment) and HMS (Habitat Modification Score) score were estimated. The above estimation concerns a part of general study concerning the implementation of the Water Frame Directive (2000/60/EC). The above data helped the selection of suitable monitoring stations where biological parameters for the river water bodies are also followed.

**ΚΑΤΑΝΟΗΣΗ ΤΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΤΩΝ ΝΕΥΡΩΝΙΚΩΝ ΔΙΚΤΥΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ
ΝΕΩΝ ΜΙΚΡΟΡΕΥΣΤΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΔΙΑΤΑΞΕΩΝ ΣΤΟ ΝΗΜΑΤΩΔΗ *C. ELEGANS*****Χρόνης Ν. ***

Department of Mechanical Engineering, The University of Michigan 3112 G.G. Brown, 2350 Hayward Street, Ann Arbor, MI 48109-2125, Email: hronis@umich.edu

Ο τρόπος με τον οποίο τα νευρικά δίκτυα επεξεργάζονται τις διάφορες πληροφορίες για να καταλήξουν σε συγκεκριμένη συμπεριφορική απόκριση είναι μια θεμελιώδης ερώτηση στις νευροεπιστήμες. Πώς, για παράδειγμα, μια επιβλαβής χημική ουσία ενεργοποιεί το νευρικό δίκτυο της όσφρησης ώστε να ξεκινήσει μια συμπεριφορά αποφυγής; Ή πώς γίνονται αντιληπτές οι μηχανικές δυνάμεις από τα νευρικά κυκλώματα των μηχανοϋποδοχέων προκειμένου να καταφύγουν σε ορισμένα πρότυπα κίνησης; Ανάμεσα στα διάφορα ζωικά μοντέλα των οποίων το νευρικό σύστημα έχει μελετηθεί μέχρι τώρα, ο νηματώδης *C. elegans* έχει αποδειχθεί το πλέον κατάλληλο για το γεφύρωμα ανάμεσα στην συμπεριφορά και τα νευρικά κυκλώματα χάρη αφενός στο διαφανές και συμπαγές νευρικό του σύστημα και αφετέρου στο φάσμα τυποποιημένων συμπεριφορών του. Στην παρούσα ομιλία περιγράφονται καινοτόμες μικρομηχανικές διατάξεις (μικρορευστομηχανικά τσιπς) που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για το χειρισμό *C. elegans* και την *in vivo* απεικόνιση των νευρωνικών τους αποκρίσεων σε επίπεδο ενός μόνο νευρώνα. Με τη βοήθεια γενετικά κωδικοποιημένων δεικτών ασβεστίου επιδεικνύεται η δυνατότητα παρακολούθησης της δραστηριότητας αισθητήριων, ενδιάμεσων και κινητικών νευρώνων και συσχέτισης της παροδικής νευρωνικής εκπόλωσης με τη συμπεριφορά. Συγκεκριμένα παρουσιάζονται δύο μικρο-μηχανικές διατάξεις (το τσιπ 'συμπεριφοράς' και το τσιπ 'όσφρησης') με διαφορετικό σκοπό η κάθε μια: (i) τη συσχέτιση της συμπεριφοράς και της δραστηριότητας μεταξύ νευρώνων και (ii) τον εντοπισμό σχέσεων ερεθίσματος και απόκρισης σε χημειο-αισθητήριους νευρώνες. Το τσιπ συμπεριφοράς χρησιμοποιήθηκε για να επιδειχθεί ότι η δραστηριότητα του ενδιάμεσων νευρώνων AVA συσχετίζεται άμεσα με το πρότυπο κίνησης του πειραματοζώου. Συμπληρωματικά, το τσιπ όσφρησης χρησίμευσε στην απόδειξη ότι οι ASH αισθητήριοι νευρώνες έχουν μια σύνθετη πολυφασική απόκριση σε οσμωτική διέγερση. Τέλος θα εξεταστεί η χρήση τέτοιων μικρορευστομηχανικών διατάξεων στις μελέτες νευρωνικής αναγέννησης και γήρανσης. Θα παρουσιαστούν προκαταρκτικά αποτελέσματα από μελέτες αναγέννησης στις οποίες πραγματοποιήθηκαν τομές με laser για την νανο-αποκοπή μεμονωμένων νευρωνικών αξόνων στο *C. elegans* καθώς και δεδομένα απεικόνισης από γηρασμένους ASH νευρώνες όπου φαίνεται καθαρά η νευρική αποσύνθεση λόγω γήρανσης. Αυτές οι μικρορευστομηχανικές διατάξεις μπορούν επιπλέον να αυτοματοποιηθούν και να χρησιμοποιηθούν για εφαρμογές ανίχνευσης φαρμάκων νευρωνικής αναγέννησης και φαρμάκων αντιγήρανσης. Η μικρορευστο-μηχανική τεχνολογία συνδυαζόμενη με οπτικές τεχνικές ανίχνευσης ασβεστίου θα οδηγήσει στην *in vivo* κατανόηση της δυναμικής νευρωνικών δικτύων στο επίπεδο μεμονωμένων νευρώνων.

(*) Προσκεκλημένος ομιλητής

DECIPHERING NEURONAL NETWORKS USING NOVEL MICROFLUIDIC DEVICES IN THE NEMATODE *C. ELEGANS*

Chronis N.*

*Department of Mechanical Engineering, The University of Michigan 3112 G.G.
Brown, 2350 Hayward Street, Ann Arbor, MI 48109-2125, E-mail: hronis@umich.edu*

How information is processed in neural networks to generate behavior is a fundamental question in neuroscience. How, for example, does a noxious chemical activate the olfactory nervous circuitry so that an avoidance behavior is initiated? Or how mechanical forces are perceived by the mechanosensory neural circuit to create locomotion patterns? Among the various animal models that have had their nervous system studied so far, the nematode *C. elegans* has been proven to be an excellent model for bridging the gap between behavior and neural circuits due to its optically transparent and compact nervous system as well as due to its stereotyped repertoire of behaviors. In this talk, I will describe novel micro-engineered devices (microfluidic chips) that can be used to manipulate individual nematodes and image *in vivo* their neuronal responses at the single neuron level. With the aid of genetically encoded calcium indicators, I show that it is possible to monitor activity from sensory, inter and motor neurons and correlate neuronal depolarization transients with behavior. In particular, I will present two microfluidic chips (the 'behavior' and the 'olfactory chip'), each one having a distinct purpose: (i) to correlate behavior and interneuron activity and (ii) to reveal stimulus-response relationships in chemosensory neurons. I used the 'behavior' chip to show that the activity of the AVA command interneurons is directly correlated to the worm's locomotion pattern. We used the 'olfactory' chip to also show that the ASH sensory neurons have a complex multiphasic response to osmotic stimuli. I will finally discuss the use of such microfluidic devices for neural regeneration and aging studies. I will present preliminary results from laser nano-axotomy studies in single axons in *C. elegans* as well as imaging data from aged-ASH neurons that clearly show neuronal degradation due to aging. These microfluidic devices can be furthermore automated for use in high-throughput regeneration and anti-aging drug screening applications. I envision that the microfluidic technology combined with calcium imaging approaches to open up a new era in understanding *in vivo* the dynamics of neural networks at the single-neuron level.

* *Invited speaker*

**ΔΟΜΙΚΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΧΙΤΙΝΑΣΗΣ Α ΑΠΟ ΤΟ
ΒΑΚΤΗΡΙΟ *SERRATIA MARCESCENS***

**Αθανάσιος Χ. Ζης¹, Δημήτρης Γ. Χατζηνικολάου², Σεραπίων
Πυρπασσόπουλος³, Νικόλαος Χ. Παπανδρέου⁴, Γιώργος Νούνεσης³,
Κωνσταντίνος Ε. Βοργιάς¹**

¹Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ,
Πανεπιστημιόπολις Ζωγράφου, 157 84 Αθήνα.

E-Mail: azees@biol.uoa.gr, cvorgias@biol.uoa.gr

²Τομέας Βοτανικής / Μικροβιολογία, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιόπολις
Ζωγράφου, 157 84 Αθήνα.

³Εργαστήριο Βιομοριακής Φυσικής, I/R-RP, Εθνικό Κέντρο Επιστημονικής Έρευνας
«Δημόκριτος» 15310 Αγία Παρασκευή.

⁴Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ,
Πανεπιστημιόπολις Ζωγράφου, 157 84 Αθήνα.

Η χιτίνη είναι ένας αδιάλυτος, γραμμικός και άφθονος στη φύση πολυσακχαρίτης, ο οποίος αποτελείται από κατάποια N-ακέτυλ-β-D-γλυκοζαμίνης (NAG) συνδεδεμένα μεταξύ τους με β(1,4) γλυκοσιδικούς δεσμούς και του οποίου η βελτιστοποιημένη εκμετάλλευση θα μπορούσε να δώσει σημαντικά βιοσυμβατά προϊόντα. Οι χιτινάσες είναι ένζυμα που υδρολύουν τη χιτίνη και απαντούν στην πλειονότητα των ζώντων οργανισμών από τα βακτήρια μέχρι τον άνθρωπο, εκπληρώνοντας κάθε φορά διαφορετικές, αλλά εξίσου σημαντικές λειτουργίες. Ειδικότερα, η Χιτινάση Α (ChiA) από το εδαφόβιο, αρνητικό κατά Gram βακτήριο *Serratia marcescens* έχει μελετηθεί επισταμένα και η δομή της έχει λυθεί κρυσταλλογραφικά στα 1,55Å. Αποτελεί, επομένως, ένα πρότυπο σύστημα μελέτης δομικών και λειτουργικών χαρακτηριστικών των χιτινολυτικών ενζύμων. Στο εργαστήριό μας, αφαιρέσαμε με μεθόδους γενετικής μηχανικής επιλεγμένα δομικά στοιχεία του ενζύμου και μελετούμε, με σύγχρονες βιοφυσικές και βιοχημικές μεθόδους, τη θερμο-σταθερότητα, την ενεργότητα και την εξειδίκευση, των τροποποιημένων μορφών της πρωτεΐνης.

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL ANALYSIS OF CHITINASE A FROM BACTERIUM *SERRATIA MARCESCENS*

**Athanassios C. Zees¹, Dimitris G. Hatzinikolaou², Serapion Pyrpassopoulos³,
Nikolaos C. Papandreou⁴, George Nounesis³, Constantinos E. Vorgias¹**

¹National and Kapodistrian University of Athens, Faculty of Biology, Department of Biochemistry
and Molecular Biology, Panepistimiopolis-Zographou, 15784 Athens.

E-Mail: azees@biol.uoa.gr, cvorgias@biol.uoa.gr

²National and Kapodistrian University of Athens, Faculty of Biology, Department of Botany /
Microbiology, Panepistimiopolis-Zographou, 15784 Athens.

³Biomolecular Physics Laboratory, I/R-RP, National Centre for Scientific Research "Demokritos"
15310 Aghia Paraskevi.

⁴National and Kapodistrian University of Athens, Faculty of Biology, Department of Cell Biology
and Biophysics, Panepistimiopolis-Zographou, 15784 Athens.

Chitin is a linear insoluble and abundant polysaccharide, which consists of N-acetyl- β -D-glucosamine residues, connected via $\beta(1,4)$ linkages. Its many physiological activities are being constantly explored in order for new biocompatible products to be evolved. Chitinases are enzymes that hydrolyze chitin and can be found in the majority of the living organisms, from bacteria to humans with different, but equally important, functions. *Serratia marcescens* is an intensively studied Gram-negative soil bacterium, which mobilizes a very effective chitinolytic weaponry. Chitinase A (ChiA) is a well studied part of this enzymatic machinery, whose overall structure has been crystallographically resolved by X-rays and has been refined up to 1.55 Å resolution. Therefore, it can be a model molecule in order for us to study the structural and functional characteristics of the chitinolytic enzymes. In our laboratory, we have managed to delete specific structural elements of the enzyme, by utilizing genetic engineering methodologies. This resulted to us being able to study the thermostability, the catalytic activity and the substrate specificity of the modified forms of the protein, by applying state of the art biophysical and biochemical methods.

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ

INDEX

A

Aki Cuneyt, 12, 222.
Al-Abed Y., 186,
Alakhras R., 18,
Al-Abed Y., 346,

B

Brazma D., 518,
Brown N., 396,

C

Corduk Nursen, 12, 222,
Courty J., 344,

D

Diedrich K., 308,

F

Flavell R., 342,

G

Gachon C., 198,
Giet R., 158,
Gillet A., 438,
Grace C., 518,

H

Horn H., 396,

J

Jensen L.J., 396,

K

Karin M, 342,
Kuhn M., 396,
Küpper F., 198,

N

Nacheva E.P., 518,

O

O'Donoghue S.I., 396,
Oruci S., 410,

P

Paine M.J.I., 314,
Paspali G., 410,
Planas J.V., 150, 152,
Probert L., 292, 342,

Q

Quader H., 30,
Rodriguez P., 324,

S

Sander St., 526,
Schneider R., 396,
Stuerzbecher H.-W., 352,

T

Tucker P.A., 314,

V

Valgañón M., 518,
Vermeesch J., 108,
Virgili A., 518,
Vodicka R., 40,
Vrtel R., 40,

W

Wang D., 454,
Witsch-Baumgartner M., 106,

Α

Αγγελάκη Σ., 2,
 Αγγελή Ι.Κ., 4, 306,
 Αγγέλου Λ.-Ξ.Δ., 410,
 Αγιανιάν Π. (Μπογός), 314,
 Αγιαννιτόπουλος Κ., 6,
 Αδαμάκης Σ.Ι.-Δ., 8,
 Αθανασίου Ε., 380,
 Αϊβαζίδης Κ., 10,
 Ακρίδας Γ., 14,
 Ακριτοπούλου Ε., 16,
 Αλεξανδρή Π., 20,
 Αλεξάνδρου Μ., 22,
 Αλεπόρου-Μαρίνου Β., 78,
 Αμίλλης Σ., 24,
 Αμπακούμκιν Γ., 212,
 Αμπατζόπουλος Θ.Ι., 20, 72, 272,
 274,
 Αναγνώστης Α., 84, 354, 508,
 Αναγνωστόπουλος Α., 380, 422,
 Ανασοντζής Γ.Ε., 24, 446, 468,
 Αναστασιάκης Δ., 294,
 Αναστασιάδου Ε., 40,
 Αναστασίου Δ., 40,
 Αναστασίου Ι., 416,
 Ανδρέου Α., 26,
 Ανδρούτσος Γ., 260, 262,
 Αντωνέλου Μ., 14, 28, 248, 310,
 Αντωνιάδου Χ., 46, 48,
 Αντωνόπουλος Σ., 28,
 Αντωνοπούλου Ε., 150, 152, 336,
 340, 480, 486,
 Αντωνοπούλου Χ., 326,
 Αποστολάκος Π., 30, 276,
 Αποστολίδης Α.Π., 82,
 Αποστολίδου Β., 288,
 Αρακλιώτη Ε.Γ., 410,
 Αρβανίτης Λ.Δ., 76,
 Αργύρη Ε., 200, 234,

Αργυρόπουλος Α.Φ., 32,
 Αργυρού Χ., 34,
 Αρδαβάνης Α., 408,
 Αριανούτσου Μ., 94,
 Αρμάου Φ., 284,
 Αρναούτης Α.Β., 264,
 Αρτεμιάδου Β., 364,
 Αρώνη Κ., 58,
 Ασημακόπουλος Β., 36, 308,
 Ατλαμάζογλου Β., 38 388,
 Αυγέρης Σ., 40,

Β

Βαβουλίδου Δ., 42,
 Βάλακος Ε.Δ., 224, 362, 416, 430,
 Βάννα Β.Γ., 44, 384, 434,
 Βαρβαρήγος Β., 198,
 Βαρδάκα Ε., 202,
 Βαρσάκη Α., 112,
 Βασιλόπουλος Γ., 56,
 Βατόπουλος Α.Κ., 498,
 Βαφειάδου Α.-Μ., 46, 48,
 Βαφειδής Δ., 258,
 Βελεγράκη Α., 50,
 Βελέντζας Α.Δ., 52, 504,
 Βελέντζας Π.Δ., 52,
 Βερροϊόπουλος Γ., 50, 398,
 Βήττας Σ., 390,
 Βλάση Μ., 54,
 Βλαστός Δ., 130,
 Βλαχάκης Δ., 54,
 Βλαχοδήμος Κ., 56,
 Βλαχονάσιος Κ.Ε., 266, 324, 492,
 Βλάχου Α.-Κ., 272,
 Βλάχου Χ., 58,
 Βόντας Γ., 60, 314,
 Βοργιάς Κ., 116, 352, 440, 530,
 Βοττέας Β., 6,
 Βουλτσιάδου Ε., 34, 46, 174, 258,

Βουρλή Σ., 498,
 Βουτσάς Ι., 120,
 Βουτσινάς Γ.Ε., 40, 454,
 Βράιλα Β.-Μ., 452,
 Βράσκου Γ., 150,
 Βυθούλκα Μ.Ι., 62,
 Βώκου Δ., 64, 212, 512, 516,

Γ

Γαϊτανάκη Αικ., 4, 128, 134, 306,
 430,
 Γαλανοπούλου Κ., 30,
 Γαλάρης Δ., 66, 460,
 Γαλάτης Β., 30, 276,
 Γαλάτου Ε., 68,
 Γαργάνη Σ., 70,
 Γαρεφαλάκη Μ.-Ε., 72,
 Γενίτσαρης Σ., 204,
 Γεννηματά Β., 92,
 Γερμενής Α., 70,
 Γεροβασιλείου Β., 16,
 Γεωμελά Π.Α., 394,
 Γεωργιάδης Α., 82,
 Γεωργιάδου Π., 280,
 Γεωργιακάκη Μ., 260, 262,
 Γεωργίου Γ., 392,
 Γεωργίου Σ., 74,
 Γεωργίου Χ.Δ., 86,
 Γεωργοπούλου Α., 76,
 Γεωργούλης Α., 78,
 Γιαγιά-Αθανασοπούλου Ε.Β., 410,
 Γιαγκου Μ., 42, 220, 380, 422, 436,
 470, 522,
 Γιακκούπη Π., 498,
 Γιανισλής Γ., 36,
 Γιαννάκη Ε., 380,
 Γιαννιός Π., 80,
 Γιαννόπουλος Γ., 80,
 Γιάντσης Ι., 82,

Γιομπρές Π., 268,
 Γιουλάτος Δ., 184,
 Γιωτάκης Ι., 394,
 Γιώτη Ι., 408,
 Γκάνιας Κ., 404, 406,
 Γκιαουρίδου Α., 84,
 Γκικόκα Θ., 36,
 Γκιώκας Σ., 224,
 Γκμπάντι Ε., 478,
 Γκολετσοπούλου Ε., 58,
 Γκόνος Ε.Σ., 168, 330, 432,
 Γκότζης Σ., 164,
 Γκρίντζαλης Κ., 86,
 Γούλα Κ., 88,
 Γούναρης Σ., 90,
 Γουργιώτης Δ., 452,
 Γουργού Ε., 430,
 Γουρνά Ε., 92,
 Γούτας Ν., 78,
 Γραμματικόπουλος Γ., 464,
 Γραμμένου Μ., 94,
 Γρηγορίου Μ., 178, 456,
 Γρίβας Δ., 96,

Δ

Δάβανος Ν., 376,
 Δακουράς Χ., 98,
 Δάμιαλης Α., 512,
 Δαμιανίδης Π., 100, 102,
 Δάφνης Ι., 104,
 Δεληγιώργη Ε.-Σ., 340,
 Δελιδάκης Χρ., 80,
 Δημητριάδης Β.Κ., 230,
 Δημητριάδου Ε., 106, 108,
 Δημόπουλος Ν.Α., 18, 122, 370, 484,
 Δήμου Ν.Α., 110,
 Διαλλινάς Γ., 24,
 Διαμαντόπουλος Ι., 56,
 Δινέρη Θ., 96,

Δραϊνας Κ., 112,
 Δρετάκη Ο., 114, 360,
 Δρετάκης Κ., 114,
 Δρετάκη-Στάμου Γ., 428,
 Δρίκος Ι., 116,
 Δροσοπούλου Ε., 390, 436,
 Δρόσος Γ., 78,

Ε

Ελευθερίου Π.Ε., 8,
 Ελευθερίου Φ., 118, 282, 288,
 Ελ-Χαμπέρ Η., 144,
 Εμμανουήλ Μ., 342,
 Ευαγγελίδου Μ., 292,
 Ευαγγελινός Ν., 120, 298,
 Ευθυμιόπουλος Σ., 426, 476, 490,
 Ευθυμίου Μ., 18, 122, 484,
 Ευσταθίου Χ., 124,
 Ευστρατίου Μ.Α., 256, 428,

Ζ

Ζάγκρης Ν., 126, 172,
 Ζαννίκου Μ., 142,
 Ζαντέ Δ., 128,
 Ζαρκάδης Ι., 312,
 Ζαχαράκη Τ., 130,
 Ζδράγκας Α., 42, 220,
 Ζεμπελτζή Μ., 132,
 Ζέρβας Χ., 52,
 Ζερβουδάκης Γ., 86,
 Ζηκάκη Κ., 134,
 Ζήνωνος Ζ., 502,
 Ζης Α.Χ., 530,
 Ζησιμοπούλου Α., 136, 254,
 Ζιούτα Α., 42,
 Ζίφα Α., 160,
 Ζορμπά Ε., 138,
 Ζωγραφίδης Α., 140, 170,

Η

Ηλιάδης Π., 142,
 Ηλίας Α., 60,
 Ηλιόπουλος Η., 26, 38, 388,
 Ηλιόπουλος Κ., 520,

Θ

Θανάσσουλας Α., 116,
 Θάνος, Κ.Α., 240,
 Θειακός Α., 96,
 Θεοδωροπούλου Κ., 108,
 Θεοδώρου Μ., 144,
 Θεοτόκης Π., 160,
 Θεοφιλίδης Γ., 132, 148, 486,
 Θεριός Ι., 326,
 Θηραίου Τ., 38, 388,
 Θυφρονίτης Γ., 346,
 Θωμαδάκη Ε., 450,
 Θωμόπουλος Γ.Ν., 218,

Ι

Ιακωβίδου-Κρίτση Ζ., 328,
 Ιμισιρίδου Α., 146,
 Ιωαννίδης Α., 368, 482,
 Ιωάννου Κ., 120, 186, 346, 408,

Κ

Καγιαβά Α., 148,
 Καδογλίδου Κ., 516,
 Καζανίδου Α., 390,
 Καϊτετζίδου Ε., 150, 152, 336,
 Κακλαμάνη Δ., 38,
 Κακούρα Π.Ε., 154,
 Καλαθάκη Μ., 156,
 Καλαμπόκη Α., 502,
 Καλαμπούκας Σ., 218,
 Καλανταρίδου Σ., 106,

- Καλαφατάκης Σ., 480,
 Καλδής Α., 266, 492,
 Καλιάφας Α., 136,
 Καλλιανιώτης Α., 16,
 Καλογεροπούλου Ε., 158,
 Καλογιάννη Ε., 82,
 Καλογιάννη Μ., 472,
 Καλογρίδη Α., 160,
 Καλομοίρης Σ., 272,
 Καλτσής Α., 240,
 Καμζέλας Κ., 162,
 Καμινάρη Α., 160,
 Καμπουρομύτη Γ., 36,
 Καναβάκη Ο., 60,
 Καναβάρος Π., 460,
 Κανινή Γ., 164,
 Κάνιστρας Ι., 142,
 Καντσά Α., 166,
 Καπέτα Σ., 168,
 Καπνουλάς Ν., 286,
 Καποδίστρια Κ., 176,
 Καπόλας Γ., 170,
 Καπόλου Ε., 172,
 Καραγεώργου Μ., 162, 374,
 Καραγιάννη Π., 174,
 Καραγιάννης Φ., 176,
 Καραγιαννιού Η., 132,
 Καραγκούνη Α.Δ., 24, 62, 164, 264,
 284, 446, 468,
 Καραγκούνη Ε., 246, 250, 296,
 Καραγωγέως Δ., 456,
 Καραδήμου Ε., 324,
 Καραθάνος Ε., 254,
 Καραϊσκού Ν., 272,
 Καρακάντζα Μ., 270,
 Καρακατσάνη Α., 178,
 Καραλή Δ.-Α., 180,
 Καραλή Κ., 96,
 Καραμάνος Θ.Κ., 182,
 Καραμανώλη Κ., 516,
 Καραμπελα Α., 384,
 Καραντάνης Ν.-Ε., 184,
 Καραχάλιου Χ.Ε., 186, 346,
 Καραχλέ Π.Κ., 100, 102, 188,
 Καρβέλα Α., 392,
 Κάργας Β., 482,
 Καρλετίδη Κ.Σ., 190,
 Κάρλου Μ., 144,
 Καρναούρη Α.Χ., 192,
 Καρούσου Ρ., 124, 496,
 Καρύδας Θ., 194,
 Κασπαριάν Χ., 6,
 Καστρίτης Π.Λ., 196,
 Κατινάκης Π., 510,
 Κατσανεβάκης Σ., 398,
 Κατσαρέλη Ε., 170,
 Κατσαρός Χ., 198,
 Κατσαρού Α., 200, 234,
 Κατσιάπη Μ., 202, 204,
 Κατσίγιαννη Α., 206,
 Κατσιλά Θ., 298,
 Κατσίφας Ε., 164, 446,
 Κατσώρης Π., 344,
 Κατσώρχης Θ., 418,
 Κεκλίκογλου Ι., 304,
 Κεσίδου Σ., 282,
 Κέφαλος Π., 200, 234,
 Κιοσσέ Θ., 208,
 Κιριμιτζόγλου Ι., 356,
 Κίτσος Μ.-Σ., 218,
 Κίττας Χ., 78,
 Κλαδίσσιος Ν., 210,
 Κλεφτογιάννη Β., 212,
 Κοζάου Ζ., 502,
 Κοίλιας Χ., 2, 520,
 Κόκκαλης Α., 214,
 Κοκκαλιάρης Κ.Δ., 200, 216, 234,
 462,

Κοκκίνη Σ., 166,
 Κολιαμήτρα Χ., 478,
 Κολλιός Γ., 208,
 Κολοβός Π., 218,
 Κόμης Γ., 30,
 Κομιώτης Δ., 294,
 Κοντάνα Α., 42, 220,
 Κοντογιάννη Γ., 200, 234, 236,
 Κορκολοπούλου Π., 144,
 Κορμάς Κ., 202, 284,
 Κορρέ Π., 200, 234,
 Κοτούλα Α., 254,
 Κοτσάκιοζη Π., 224,
 Κοτσιλά Π.Ι., 200, 226, 234,
 Κούβαρη Ε., 96,
 Κουβάτση Α., 70,
 Κουβέλης Β.Ν., 228,
 Κουκουζίκα Ν., 230,
 Κούκουρας Α., 218,
 Κουλούκουσα Μ., 78,
 Κουμπενά Β.Ε., 232,
 Κούμπου Α., 200, 234,
 Κούνα Θ., 326,
 Κουρελής Α., 522,
 Κουρεπίνη Μ., 46,
 Κουρουζίδου Α., 200, 234, 236,
 Κούρτη Μ., 238,
 Κουρτίδης Α., 436,
 Κούρτογλου Ε., 24,
 Κουσουλάκος Σ., 504, 506,
 Κουτράκης Μ., 420,
 Κούτσικος Ν., 82,
 Κουτσοβούλου Κ., 240,
 Κουτσογιαννούλη Ε., 214, 242, 244,
 Κουτσούμπας Δ., 16,
 Κουτσώνη Ο., 246,
 Κόφφα Μ., 178,
 Κριεμπάρδης Α., 14, 28, 248, 310,
 Κυραργύρη Β., 490,

Κυριαζής Ι.Δ., 250,
 Κυριακίδης Δ.Α. 252,
 Κυριακοπούλου-Σκλαβούνου Π.,
 210, 316,
 Κυριατζής Γ., 254,
 Κυριλής Φ., 170,
 Κυρμανίδου Α., 256,
 Κυροδήμου Μ., 258,
 Κωλέττας Ε., 338, 460,
 Κωνσταντινίδου Ε.-Γ.Α., 516,
 Κωστελλέτου Μ., 130,
 Κωστόπουλος Ι., 260, 262,
 Κωτσάκης Σ.Α., 264,

Λ

Λαδόπουλος Β., 266,
 Λαζαρίδου Μ., 364, 526,
 Λάζου Α., 68, 334,
 Λάλου Η., 106, 108,
 Λάμνησου Κ., 6, 286,
 Λαμπαδά Α., 218,
 Λάμπας Ε., 268,
 Λαμπροπούλου Μ., 176, 270,
 Λάμπρου Ε., 176, 270,
 Λαντζούνη Ν., 140,
 Λάππα Μ., 272,
 Λεβέντη Δ., 294,
 Λεβίδου Γ., 144,
 Λεζέ Ε., 160,
 Λενέτη Ε., 338,
 Λεονάρδος Ι.Δ., 274, 280,
 Λιάκου Χ., 298,
 Λιάσκο Ρ., 274,
 Λιβανός Π., 276,
 Λιμήτσιου Ο.Κ., 278,
 Λιούσια Β., 274, 280,
 Λιτοπούλου-Τζανετάκη Ε., 522,
 Λίτου Ζ.Ι., 154, 500,
 Λούης Χ., 322,

Λυμπεράκη Ε., 118, 282, 288,
 Λυμπέρη Π., 142,
 Λυμπεροπούλου Δ.Σ., 62, 264, 284,
 Λυτρίδης Ι., 286,

Μ

Μαβίδης Μ., 218,
 Μακρή Σ., 118, 282, 288,
 Μαλλιαράκη Ν., 114,
 Μάμαλη Ε., 270,
 Μαμαρέλη Π., 290,
 Μαμμά Δ., 24,
 Μαμούρης Ζ., 74, 160, 214, 242, 244,
 Μαναρόλια Μ., 288,
 Μάνος Γ., 338,
 Μαντά Α.Κ., 292,
 Μαντά Σ., 294,
 Μανώλης Σ.Κ., 2, 44, 92, 138, 360,
 384, 402, 434, 520,
 Μαραγκοζίδης Π., 294,
 Μαργαρίτης Λ.Χ., 14, 28, 52, 200,
 216, 226, 234, 236, 248, 292,
 310, 450, 454, 458, 462, 504,
 506, 514,
 Μαργαρώνη Μ., 296,
 Μαργιωρή Α., 114,
 Μαρινοπούλου Ε., 304,
 Μαρίνος Ε., 78,
 Μάρκου Θ., 334,
 Μάρκου Κ., 480,
 Μαρμάρας Β.Ι., 176, 270,
 Μαυροθαλασσίτη Η., 120, 298,
 Μαυρομαρά Π., 350,
 Μαυροματίδου Π., 390,
 Μαυροπούλου Γ., 282,
 Μαυρούλη Μ., 300,
 Μγκελάτζε-Μαρμαρινού Β., 302,
 Μεγαλοφώνου Π., 332,
 Μέγας Χ., 304,

Μελαχροινού Κ., 490,
 Μελετίου Μ., 306,
 Μελετίου-Χρήστου Μ.-Σ., 206,
 Μερμελέκας Γ., 76,
 Μεταλλινού Χ., 308,
 Μέτση Φ., 310,
 Μήτσαινας Γ.Π., 410,
 Μικρού Α., 312,
 Μιλτιάδους Π., 506,
 Μίνος Γ., 22, 194,
 Μιρλή Α., 208,
 Μιτακίδης Ν., 314,
 Μιχαηλίδης Β., 316,
 Μιχαηλίδης Σ., 316,
 Μιχαλόπουλος Ε., 96,
 Μιχαλόπουλος Ν., 144,
 Μιχαλούδη Ε., 204,
 Μοντεσάντου Β., 494,
 Μόσιαλος Γ., 304, 318,
 Μοσχονάς Ν.Κ., 320,
 Μουστάκα Μ., 322,
 Μουστάκα-Γούνη Μ., 202,
 Μουστάκα-Γούνη Μ., 204,
 Μουστάκας Μ., 324, 326, 442,
 Μούτου Κ., 74, 214, 242, 244,
 Μπάγκος Π.Γ., 110, 154, 192, 278,
 368, 482, 488, 500,
 Μπάκα Σ., 328
 Μπάκου Β.Ε., 52,
 Μπαλανίκα Α., 92,
 Μπαλαντίνου Ε., 330,
 Μπαλατσός Ν.Α.Α., 294,
 Μπάμιας Α., 120, 298,
 Μπαρδαμάσκος Γ., 332,
 Μπαρλάκα Ε., 334,
 Μπαστάκης Ε.Γ., 336,
 Μπάτση Χ., 338, 460,
 Μπαχαρίδης Π., 152, 340,
 Μπέης Ι., 4, 128, 134, 306,

Μπεινά Σ., 342,
 Μπιλίνης Χ., 214,
 Μπίρμπας Χ., 344,
 Μπιρμπίλης Α., 186, 346,
 Μπλιώνης Γ.Ι., 348,
 Μπολέτη Χ., 350,
 Μπόμπορη Δ., 478,
 Μπούτου Ε., 352, 400,
 Μυτηληνάκης Μ.Χ., 354,
 Μυτιληναίου Ε., 356,
 Μώρου Ε., 60,

Ν

Νάκου Α., 56,
 Νεοφύτου Χρ., 358,
 Νικηφόρου Μ., 360,
 Νικολάου Ε., 44,
 Νικολαρόπουλος Σ.Σ., 18, 122,
 Νικολλέτος Ν., 308,
 Νικολόπουλος Γ.Κ., 54, 110,
 Νικολούδη Α., 324,
 Νικολούζου Ε., 362,
 Νίκου Δ., 60,
 Νούνεσης Γ., 116, 530,
 Νταϊλιάνης Σ., 472,
 Ντάκου-Ζαμπάρα Κ., 96,
 Ντισλίδου Χ., 364,
 Ντότσικα Ε., 246, 250, 296,

Ξ

Ξαγοράρη Α., 380, 422,
 Ξανθάκη Α., 498,
 Ξηρουχάκης Σ., 366,

Ο

Οικονόμη Ε., 368,
 Οικονομίδης Γ., 272,
 Οικονομίδου Β.Α., 182, 190, 400,

Οικονομοπούλου Μ.Θ., 328,
 Οικονόμου Ι., 54,
 Οικονόμου-Petersen Ε., 248,
 Ορφανίδης Σ., 90,
 Ουρανού Δ., 370,

Π

Παλιακάσης Κ., 352,
 Παναγίδης Α., 370,
 Παναγιωτάκη Π., 74,
 Παναγιωτίδης Π., 494,
 Παναγόπουλος Δ.Ι., 200, 226, 234,
 514,
 Πανούσης Ν.Ι., 372,
 Παντελιδάκης Κ., 204,
 Παντερής Ε., 180,
 Παντζαρτζή Χ., 42, 436,
 Παντής Ι.Δ., 348,
 Παπαγεωργίου Δ.Γ., 474,
 Παπαγεωργίου Ν., 20,
 Παπαγεωργίου Π., 374,
 Παπαδάκη Ε., 408,
 Παπαδάκης Μ., 390,
 Παπαδημητρίου Κ., 56, 352,
 Παπαδημητρίου Σ., 376,
 Παπαδημητρίου Σ.Ι., 260, 262,
 Παπαδημητρίου Χ., 42, 220,
 Παπαδόπουλος Α.Ι., 84, 354, 378,
 508,
 Παπαδοπούλου Α., 380,
 Παπαδοπούλου Μ., 382,
 Παπαδοπούλου Μ.Π., 384,
 Παπαδοπούλου Π., 40,
 Παπαευθυμίου Χ., 132,
 Παπαευθυμίου Χρ., 486,
 Παπαζαφείρη Π., 238, 342, 358,
 Παπαϊωάννου Α.Ι., 386,
 Παπαματθαϊάκης Ι., 448,

Παπανδρέου Ν.Α., 38, 388,
 Παπανδρέου Ν.Χ., 182, 190, 192,
 196, 530,
 Παπαποστόλου Ι., 86,
 Παπασάββας Α., 96,
 Παπασιδέρη Ι.Σ., 14, 28, 52, 58, 144,
 248, 310, 454,
 Παπαχριστοφόρου Χ., 360,
 Παπουλίδης Ι., 390,
 Παππά Α., 392,
 Παππά Β., 352,
 Παππά Κ.Μ., 232,
 Παρμακέλης Α., 322,
 Παρμενοπούλου Β., 254,
 Πατεράκης Γ.Σ., 260, 262,
 Πατετσίνη Ε., 472,
 Πατσαλάς Ι., 118,
 Πάτσης Χ.Γ., 394,
 Πατσιά Α., 526,
 Πατσούρης Ε., 58, 144,
 Παντελίδου Π., 2,
 Παυλίδης Δ., 260, 262,
 Παύλου Μ., 106,
 Παφίλης Ε., 396,
 Παφίλης Π., 224, 362, 416, 430,
 Πάφος Κ., 92,
 Περιμένης Π., 376,
 Περσίδου Ε., 288,
 Πέτζα Δ., 398,
 Πετρονικολού Ν., 400,
 Πέτρου Χ., 118, 282, 288,
 Πετρουτσά Ε., 402,
 Πετσιάβα Ε., 160,
 Πισταμαλτζιάν Ν., 298,
 Πριναράκης Ε., 444,
 Πρίτσα Α., 288,
 Προμπονάς Β., 356,
 Προύσαλη Α., 504,
 Πυροβέτση Μ.Δ., 348,

Πυρπασσόπουλος Σ., 530,
 Πώρρα Μ., 404, 406,

Ρ

Ραδέα Κ., 94,
 Ράπτη Μ., 444,
 Ριζοπούλου Ζ., 408,
 Ριζοπούλου Σ., 32, 290, 302, 418,
 Ροβάτσος Μ.Θ., 410,
 Ροδιτάκης Ε., 60,
 Ρούσκας Κ., 70,
 Ρουσσίδης Ν., 412,
 Ρούτσιας Ι., 300,
 Ρόχας Χιλ, Α.-Π., 162, 374, 392,

Σ

Σαββάκη Μ., 200, 234,
 Σαββίδης Θ., 414,
 Σαγώνας Κ., 416,
 Σαέττα Α., 58, 144,
 Σακκά Ε., 418,
 Σαλβαρίνα Ι., 420,
 Σαλή Α., 142,
 Σαλωμίδη Μ., 494,
 Σαμαλίδου Μ., 422,
 Σαμαρά Π., 408,
 Σαμαράς Π., 42, 220,
 Σαμκινίδου Ε., 392,
 Σαραφίδου Θ., 214, 242, 244,
 Σαχαρίδου Μ., 424,
 Σελβιαρίδης Π., 118,
 Σελλής Δ., 54,
 Σερασίδου Α., 118, 288,
 Σερλιδάκη Δ., 426,
 Σιβροπούλου Α., 382,
 Σιδεράς Γ., 256, 428,
 Σίμου Χ., 430,
 Σισούλα Χ., 432,

Σιώτου Ε., 422,
 Σκαλτσούνης Λ., 250,
 Σκεπετάρη Μ., 56,
 Σκιαδά Β., 434,
 Σκοπελίτη Μ., 120, 186, 346, 408,
 Σκορίλας Α., 394, 450, 452,
 Σκούρα-Βαρνάβα Τζ., 302,
 Σκούρας Γ.Ζ., 42, 390, 436,
 Σκούφας Γ., 98, 412, 438,
 Σμυρλή Δ., 350,
 Σουσσούνης Κ., 440,
 Σπαγοπούλου Φ., 416,
 Σπάθας Δ.Χ., 376,
 Σπανάκης Ν., 300,
 Σπερδούλη Η., 326, 442,
 Σπηλιώτη Β.Ε., 162, 374, 392,
 Σπύρου Γ., 444,
 Σταθόπουλος Κ., 160, 294,
 Σταθοπούλου Κ., 134, 430,
 Σταθοπούλου Π.Μ., 446, 468,
 Στάικου Α., 72, 424,
 Σταλημέρου Μ., 416,
 Σταματάκης Α., 506,
 Σταματέλλη Α., 58,
 Σταμάτης Κ., 160, 214, 242, 244,
 Σταμούλης Κ., 248,
 Στασινοπούλου Μ., 504,
 Σταυρίδη Φ., 448,
 Σταυροπούλου Ε., 200, 234, 450,
 Σταυροπούλου-Γκιόκα Α., 96,
 Σταύρου Μ., 160,
 Στεργιόπουλος Κ., 114,
 Στεργίου Κ.Ι., 188,
 Στεφάνου Γ., 18, 122, 370, 484,
 Στέφου Φ., 452,
 Στουμπούδη Μ., 82,
 Στραβοπόδης Δ.Ι., 40, 52, 454,
 Στρατικός Ε., 104,
 Στυλιανοπούλου Η., 456,

Στυλιανοπούλου Φ., 506,
 Συκιώτη Β., 200, 234, 458,
 Συρίγου Α., 422,
 Σύρρου Μ., 108, 106,
 Σφήκας Α., 460,
 Σχίζα Δ., 200, 216, 234, 462,
 Σώσειλου Γ., 464,
 Σωτηριάδου Κ., 250, 296,
 Σωτηρόπουλος Δ., 422,

Τ

Ταβερναράκης Ν., 466,
 Ταλαμάγκας Α.Ε., 468,
 Ταμπάκη Ε., 96,
 Ταουφίκ Έ., 342,
 Τάρα Κ., 68,
 Τάρτας Α., 54,
 Τερζοπούλου Σ., 416,
 Τέστα Θ., 470,
 Τζανετάκης Ν., 522,
 Τζέλου Α., 472,
 Τζιάτζος Γ.Κ., 474,
 Τζίνια Α., 104,
 Τόλη Ν., 476,
 Τούτουζα Μ., 498,
 Τριανταφυλλίδης Α., 20, 72, 146,
 272, 316, 478, 480,
 Τριανταφυλλίδης Κ., 20, 72, 146,
 272,
 Τριβήλου Ε., 482,
 Τριμανδήλη Μ., 96,
 Τρουγκάκος Ι.Π., 330,
 Τροχούτσου Α., 484,
 Τρυφωνίδη Ι., 92,
 Τρύφωνος Μ., 486,
 Τσαγκαράκου Α., 60,
 Τσακρής Α., 300,
 Τσαλκίδης Α., 254,
 Τσαούσης Γ.Ν., 488,

Τσατσάνης Χ., 114,
 Τσαχάκη Μ., 426, 476, 490,
 Τσελίκας Ν., 38,
 Τσελίκου Ε., 460,
 Τσέλιος Θ., 342,
 Τσεμεντζή Δ., 492,
 Τσιάμης Κ., 494,
 Τσιάνου Μ., 496,
 Τσιατάς Μ., 120, 298,
 Τσίκληρας Α., 340,
 Τσίκου Δ., 510,
 Τσιλιμπάρη Ε., 104,
 Τσιορβά Π., 144,
 Τσιρίγος Κ.Δ., 278,
 Τσιρικά Α., 98,
 Τσιριπίδης Ι., 56,
 Τσιτήλου Σ., 80,
 Τσιτσιλώνη Ο., 120, 186, 260, 262,
 298, 346, 362, 408,
 Τύπας Μ.Α., 228, 386,

Φ

Φάσσας Α., 380,
 Φερούση Χ., 498,
 Φιμερέλη Δ.Κ., 500,
 Φλεμετάκης Ε., 510,
 Φλορεντίν-Αραρ Λ., 286,
 Φλυτζάνης Κ.Ν., 502,
 Φουκαράκης Ι., 38,
 Φουντουλάκη Ε., 336,
 Φουφόπουλος J., 362,
 Φραγκοπούλου Α.Φ., 200, 234, 504,
 506,
 Φρέσκου Ε., 414,
 Φριλίγγος Ε., 76,
 Φρυγανιώτης Κ., 174,
 Φωτεινού Β.-Ε., 508,
 Φωτέλλη Μ., 510,

Φωτίου Χ., 512,

Χ

Χαβάκη Σ., 78,
 Χαβδούλα Ε.Δ., 200, 226, 234, 236,
 458, 514,
 Χάλκος Δ., 516,
 Χαμόδρακας Σ.Ι., 110, 154, 182, 190,
 192, 196, 278, 372, 400, 488,
 500,
 Χαναλάρης Α., 518,
 Χανλίδου Ε., 88,
 Χαντζούρα Ε., 444,
 Χαραλαμπίδης Κ., 232, 140, 170,
 Χαρίση Δ., 520,
 Χατζηϊωάννου Κ., 142,
 Χατζηνικολάου Δ.Γ., 24, 446, 468,
 498, 530,
 Χατζηνίκος Ε., 20,
 Χατζησταματίου Θ., 96,
 Χιντήρογλου Χ., 34, 46, 48, 100, 102,
 174, 404, 406,
 Χονδρογιάννη Ν.Ν., 168, 330,
 Χρησιτίδου Α., 522,
 Χριστακόπουλος Π., 24,
 Χρίστογλου Ν., 522,
 Χριστοφορίδης Σ., 350,
 Χρόνη Α., 104, 524,
 Χρόνης Ι., 526,
 Χρόνης Ν., 528,

Ψ

Ψαλτοπούλου Χ., 272,
 Ψαρρά Α.-Μ., 444,
 Ψαρρού Ε., 142,
 Ψόχιου Ε., 74,

