

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
(HELLENIC SOCIETY FOR BIOLOGICAL SCIENCES)

31<sup>ο</sup> ΕΤΗΣΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ  
31<sup>st</sup> ANNUAL CONFERENCE

ΠΡΑΚΤΙΚΑ  
PROCEEDINGS

14–16 Μαΐου 2009

May 14–16, 2009

---

ΠΑΤΡΑ  
PATRAS

## 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

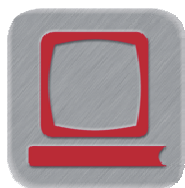
Πρόεδρος: Α. Λάζου ([lazou@bio.auth.gr](mailto:lazou@bio.auth.gr))  
Αντιπρόεδρος: Λ.Χ. Μαργαρίτης ([lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr))  
Γεν. Γραμματέας: Σ.Κ. Μανώλης ([smanol@biol.uoa.gr](mailto:smanol@biol.uoa.gr))  
Ειδ. Γραμματέας: Ι.Δ. Λεονάρδος ([ileonard@cc.uoi.gr](mailto:ileonard@cc.uoi.gr))  
Ταμίας: Σ. Τσάκας ([stsakas@upatras.gr](mailto:stsakas@upatras.gr))  
Πληροφορίες: [eebe-2008@biol.uoa.gr](mailto:eebe-2008@biol.uoa.gr) , [smanol@biol.uoa.gr](mailto:smanol@biol.uoa.gr)

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

© Ελληνική Εταιρεία Βιολογικών Επιστημών, 2009

ISBN: 978-960-87324-7-6

ISSN: 1109-4885



Επιμέλεια έκδοσης  
ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΝΕΩΝ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ  
Στουρνάρη 49Α, 106 82, Αθήνα  
Τηλ. 210-38.45.594 - Fax: 210-38.08.009  
email: [contact@newtech-publications.gr](mailto:contact@newtech-publications.gr)  
URL: [www.newtech-publications.gr](http://www.newtech-publications.gr)

## ΧΟΡΗΓΟΙ - SPONSORS

ΕΘΝΙΚΟ & ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΑΤΡΩΝ

ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΕΘΝΙΚΗΣ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ

ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΥΓΕΙΑΣ & ΚΟΙΝΩΝΙΚΗΣ ΑΛΛΗΛΕΓΓΥΗΣ

ROCHE

DIOPHAR A.E.

BIOSURE R & T Cell Co.

LABSUPPLIES S.A.

Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιάνου Α.Ε.

BEST BOOK HUNTERS



**COM•PHONE** - Ι. Μαρούδας

**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**  
**(Organizing Committee)**

Ισίδωρος Μπέης  
Λουκάς Μαργαρίτης  
Αντιγόνη Λάζου  
Σωτήρης Μανώλης  
Σύλβια Παπαβασιλείου

**Τοπική Οργανωτική Επιτροπή**

Βασίλης Μαρμάρας  
Σωτήρης Τσάκας

- 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

## **ΧΑΙΡΕΤΙΣΜΟΣ** **ΤΟΥ ΠΡΟΕΔΡΟΥ ΤΗΣ Ο.Ε. Καθηγητή Ι.Α. Μπέη**

*Αγαπητοί Συνάδελφοι,*

*Το 31<sup>ο</sup> ετήσιο Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστήμων διοργανώνεται φέτος στην Πάτρα, έδρα της ΕΕΒΕ από 14 μέχρι 16 Μαΐου 2009.*

*Η επιλογή της Πάτρας, ως τόπου διεξαγωγής του Συνεδρίου, έγινε με κριτήριο ότι η Πάτρα ως έδρα της έπρεπε να διοργανώσει μετά από 14 χρόνια το 31<sup>ο</sup> Συνεδρίου στα 33 χρόνια παρουσίας και προσφοράς της Ε.Ε.Β.Ε. στα βιολογικά δρώμενα της χώρας.*

*Το συνέδριο αποτελεί χώρο συνάντησης φοιτητών (προ- και μεταπτυχιακών) από όλα τα Τμήματα Βιολογίας, αλλά κι από Τμήματα συναφών γνωστικών αντικειμένων. Και φαίνεται ότι πραγματικά υπάρχει ένα αυξανόμενο ενδιαφέρον των φοιτητών γιατί κάθε χρόνο ο αριθμός των συμμετεχόντων (με ερευνητική δουλειά ή όχι) αυξάνεται.*

*Οι φετινές συμμετοχές με προφορικές ομιλίες και αναρτημένες ανακοινώσεις έφτασαν τον αριθμό 204, (σχετικά λιγότερες σε σχέση με το περυσινό συνέδριο που ξεπεράστηκε κάθε προηγούμενο). Γι' αυτό κατά την άποψή μας ευθύνεται σε σημαντικό βαθμό η νέα μορφή που έχει πάρει το συνέδριο και η ανάγκη βήματος παρουσίασης των εργασιών που πραγματοποιούνται στα διάφορα συναφή με την Βιολογία, πανεπιστημιακά Τμήματα αλλά και Ερευνητικά Κέντρα.*

*Αν κάποιος παρακολουθήσει τη σχετική θεματολογία και τις συμμετοχές των 30 συνεδρίων που έχει διοργανώσει μέχρι σήμερα η Ε.Ε.Β.Ε. θα διαπιστώσει την αλματώδη πρόοδο των Βιολογικών Επιστήμων στη χώρα μας και τη δημιουργία πολλών ερευνητικών ομάδων, γεγονός που δεν μπορεί να περάσει απαρατήρητο.*

*Όπως αναφέρθηκε πιο πάνω το 1979, πραγματοποιήθηκε στο Τμήμα Βιολογίας του Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης το 1<sup>ο</sup> Συνέδριο στο οποίο παρουσιάστηκαν μόλις 41 εργασίες. Στην επόμενη δεκαετία (1980-1989) ο αριθμός των εργασιών που παρουσιάστηκαν ήταν περίπου 630, με ένα μέσο όρο 70 εργασίες/έτος. Τη δεκαετία του '90 (1990-1999) στα δέκα συνέδρια παρουσιάστηκαν 1400 εργασίες, δηλαδή ο μέσος όρος διπλασιάστηκε και έφτασε τις 140 εργασίες/έτος. Στα 10 συνέδρια που έχουν διοργανωθεί στη δεκαετία που διανύουμε (2000-2009), παρουσιάστηκαν 1954 εργασίες (συμπεριλαμβανομένων και των 204 φετινών), ήτοι ο μέσος όρος έφτασε τις 195 εργασίες /έτος.*

*Επειδή έχει υπάρξει ένας τεράστιος όγκος παρουσιάσεων είτε προφορικών είτε αναρτώμενων ανακοινώσεων, περυσι το Δ.Σ. σε συνεργασία με την Ο.Ε. του 30<sup>ου</sup> Συνεδρίου αποφάσισε να διανείμει μαζί με τα ΠΡΑΚΤΙΚΑ και ένα DVD το οποίο περιέχει σε ηλεκτρονική μορφή (σε αρχεία pdf) τα Πρακτικά και των 30*

Συνεδρίων. Τα ψηφιοποιημένα Πρακτικά μπορεί να τα βρει κάποιος στην ιστοσελίδα της Ε.Ε.Β.Ε. (<http://www.eebe.gr>)

Από αυτά που έχουμε μέχρι σήμερα επιτύχει, είμαστε υποχρεωμένοι να διατηρήσουμε αμείωτο το ενδιαφέρον συμμετοχής και είναι σίγουρο πως το νέο Δ.Σ. της Ε.Ε.Β.Ε. θα προσπαθήσει με όλες του τις δυνάμεις για το καλλίτερο δυνατό.

Θα πρέπει επίσης να σημειωθεί ότι από το 1998 με πρωτοβουλία του τότε Προέδρου της Ε.Ε.Β.Ε. (και νυν Αντιπροέδρου) Καθηγητή Λ.Χ. Μαργαρίτη άρχισε (και συνεχίζεται κάθε χρόνο) η ηλεκτρονική καταγραφή των συνεδρίων και το υλικό των παρουσιάσεων υπάρχει στις ιστοσελίδες της Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών (<http://www.eebe.gr> και <http://kyttariki.biol.uoa.gr>) καθώς και σε DVD.

Ακόμη μια καινοτομία αποτελεί η προφορική (5λεπτη) παρουσίαση των posters, έτσι ώστε να δίνεται η πρόπουσα προσοχή σε σημαντικές δουλειές. Οι προφορικές ομιλίες έχουν περιοριστεί και εφέτος έχουμε 14 προσκεκλημένους ερευνητές και μέλη ΔΕΠ που θα μας παρουσιάσουν ανασκοπήσεις της ερευνητικής τους δουλειάς, σε θέματα αιχμής και γενικότερου ενδιαφέροντος, που ελπίζουμε ότι θα αποτελέσουν το δέλεαρ για τους προπτυχιακούς φοιτητές και φοιτήτριες που παρακολουθούν κάθε χρόνο το συνέδριο αυτό.

Το Συνέδριο αρχίζει την Πέμπτη 14 Μαΐου στις 17.00 μ.μ. το απόγευμα και ολοκληρώνεται το Σάββατο 16 Μαΐου στις 21.30 το βράδυ. Δυστυχώς δεν κατορθώσαμε να μην υπάρχουν παράλληλες Συνεδρίες.

Το συνέδριο θα πραγματοποιηθεί στις αίθουσες του Πολυχώρου «ΠΟΛΙΤΕΙΑ, στην Πάτρα.

Εκ μέρους της Οργανωτικής Επιτροπής σε αυτό το σημείο θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Υπουργό Εθνικής Παιδείας & Θρησκευμάτων, Τον Υπουργό Υγείας & Κοινωνικής Αλληλεγγύης, τις Επιτροπές Ερευνών ΕΚΠΑ και ΠΠ για την οικονομική στήριξη αυτής της προσπάθειας αλλά και την τοπική Οργανωτική Επιτροπή για την αμέριστη βοήθεια στην διοργάνωση του 31<sup>ου</sup> ετήσιου Συνεδρίου. Τέλος θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στο μέλος της Ο.Ε. Δρ. Σύλβια Παπαβασιλείου, η οποία με ιδιαίτερη αφοσίωση έφερε σε πέρας ένα τεράστιο φόρτο εργασίας.

Σας ευχόμαστε καλή διαμονή στην όμορφη Πάτρα και καλή επιτυχία σε όλους όσοι παρουσιάσουν τη δουλειά τους.

Πάτρα, Μάιος 2009

Καθηγητής Ισίδωρος Δ. Μπέης  
Πρόεδρος Οργανωτικής Επιτροπής





**ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ**

**(ABSTRACTS)**

**ΟΙ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΚΟΙ ΜΙΚΡΟΣΩΛΗΝΙΣΚΟΙ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΗΣ ΡΙΖΑΣ  
ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *Pisum sativum* ΑΠΟΤΕΛΟΥΝ ΣΤΟΧΟ ΤΗΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ  
ΤΟΥ ΒΟΛΦΡΑΜΙΟΥ**

Αδαμάκης Σ. Ι. – Δ., Παντελής Εμ., Ελευθερίου Π.Ε.

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,  
541 24 Θεσσαλονίκη, E-mail: [iadamaki@bio.auth.gr](mailto:iadamaki@bio.auth.gr)

Το βολφράμιο (W) διαταράσσει τους περιφερειακούς μικροσωληνίσκους στο ακροορίζιο του φυτού *Pisum sativum* (μπιζέλι). Μετά από επίδραση 24 h με διάλυμα 1  $\mu\text{M}$  βολφραμικού νατρίου ( $\text{Na}_2\text{WO}_4$ ), οι περιφερειακοί μικροσωληνίσκοι εμφανίζονται ολιγάριθμοι, κατακερματισμένοι και συνήθως άτακτα διευθετημένοι. Προκειμένου να διαλευκανθεί ο τρόπος δράσης του W στους μικροσωληνίσκους, πραγματοποιήθηκαν επιδράσεις με δηλητήρια τα οποία επηρεάζουν τη δυναμική των μικροσωληνίσκων (κολχικίνη, ορυζαλίνη, ταξόλη) σε συνδυασμό με W. Κύτταρα στα οποία έγινε επίδραση 5  $\mu\text{M}$  ορυζαλίνης εμφάνιζαν υπολείμματα μικροσωληνίσκων, ενώ μετά από επίδραση 2 mM κολχικίνης παρατηρήθηκε ένα εκτεταμένο δίκτυο παρακρυστάλλων σωληνίνης/ κολχικίνης. Αντίθετα, κύτταρα τα οποία είχαν δεχθεί πρώτα επίδραση W και στη συνέχεια επίδραση W σε συνδυασμό με ορυζαλίνη ή με κολχικίνη παρουσίαζαν μικροσωληνίσκους οι οποίοι ήταν παρόμοιοι με αυτούς που προκύπτουν παρουσία μόνο W. Ανάλογα αποτελέσματα προέκυψαν και σε κύτταρα τα οποία αφέθηκαν να ανακάμψουν μετά από επίδραση ορυζαλίνης ή κολχικίνης παρουσία W. Κύτταρα τα οποία υποβλήθηκαν πρώτα επίδραση 1  $\mu\text{M}$  W και στη συνέχεια σε συνδυασμό 20  $\mu\text{M}$  ταξόλης και 1  $\mu\text{M}$  W, εμφάνιζαν μικροσωληνίσκους παρόμοιους με αυτούς που προκύπτουν μετά από επίδραση μόνο W. Αντίθετα, το W δεν επηρέασε τους περιφερειακούς μικροσωληνίσκους σε κύτταρα στα οποία αυτοί είχαν ήδη σταθεροποιηθεί με επίδραση ταξόλης και στη συνέχεια δέχθηκαν συνδυασμένη επίδραση ταξόλης και W. Τα πειραματικά δεδομένα δείχνουν ότι το βολφράμιο επηρεάζει αρνητικά τη δυναμική των μικροσωληνίσκων, εφόσον αυτοί που προκύπτουν μετά από επίδραση W εμφανίζονται ανθεκτικοί στον αποπολυμερισμό από ορυζαλίνη ή κολχικίνη. Το γεγονός ότι το W δεν επηρεάζει μικροσωληνίσκους σταθεροποιημένους από ταξόλη, υποδηλώνει ότι η δυναμική των μικροσωληνίσκων είναι απαραίτητη για να εκδηλωθεί η δράση του W.

**THE CORTICAL MICROTUBULES OF *Pisum sativum* ROOT CELLS ARE A  
TARGET OF TUNGSTEN TOXICITY**

*Adamakis S.I.-D., Panteris Em., Eleftheriou P.E.*

*Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki  
GR-541 24, E-mail: [iadamaki@bio.auth.gr](mailto:iadamaki@bio.auth.gr)*

Tungsten (W) disrupts the cortical microtubules of pea (*Pisum sativum*) root cells. In the presence of 1  $\mu\text{M}$  tungstate solution ( $\text{Na}_2\text{WO}_4$ ) the transverse cortical microtubule network is replaced by few fragmented and usually poorly oriented microtubules. Treatment with drugs that interfere with microtubule dynamics (oryzalin, colchicine, taxol) in combination with tungstate, indicates how W might impose the above effect. Cells treated with 5  $\mu\text{M}$  oryzalin displayed microtubule remnants, while those treated with 2 mM colchicine displayed an extensive reticulum of tubulin/colchicine paracrystals. On the other hand, cells pretreated with W and then treated with oryzalin or colchicine in combination with W exhibited microtubules similar to those found in cells treated with W alone. Similar results were observed in cells pre-treated with oryzalin or colchicine and then left to recover in the presence of W. Cells treated with 1  $\mu\text{M}$  W and then subject to a combination of 20  $\mu\text{M}$  taxol and 1  $\mu\text{M}$  W, displayed microtubules similar to those treated with W alone. In cells pre-treated with taxol and then treated with a combination of taxol and W, the cortical microtubules were unaffected by W. These experimental data indicate that W may affect microtubule dynamics, as the microtubules formed after W treatment are resistant to disassembly by oryzalin or colchicine. Besides, the fact that W cannot affect microtubules stabilized by taxol implies that microtubule dynamics are necessary for the occurrence of W effect.

**Η ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΒΟΤΑΝΙΚΩΝ ΚΗΠΩΝ ΣΤΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΕΡΓΟ ΠΕΡΙ  
ΤΗΝ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ: ΟΡΙΣΜΕΝΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΓΙΑ  
ΤΗΝ ΠΕΡΙΗΓΗΣΗ ΣΧΟΛΕΙΩΝ ΣΤΟ ΒΟΤΑΝΙΚΟ ΚΗΠΟ ΙΟΥΛΙΑΣ &  
ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΥ Ν. ΔΙΟΜΗΔΟΥΣ**

*Αθανασόπουλος Α.<sup>1</sup>, Κατσώρχης Θ.<sup>2</sup>, Ριζοπούλου Σ.<sup>3</sup>*

*<sup>1</sup>Μεταπτυχιακός Φοιτητής, ΜΔΕ «Σύγχρονες Τάσεις στη Διδακτική της Βιολογίας και Νέες Τεχνολογίες», Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, <sup>2</sup>Τομέας Βιολογίας Κυττάρων και Βιοφυσικής, <sup>3</sup>Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 157 84  
E-mail: [andratha@biol.uoa](mailto:andratha@biol.uoa), [grsrhizop@biol.uoa.gr](mailto:grsrhizop@biol.uoa.gr)*

Η ίδρυση Βοτανικών κήπων, σε αντιδιαστολή με τα πάρκα και εκτάσεις αστικού ή περιαστικού πρασίνου, έχει ως σκοπό όχι κατ' ανάγκην την ψυχαγωγία των επισκεπτών –παρότι συμπεριλαμβάνεται–, αλλά την προώθηση της επιστημονικής έρευνας στη Βιολογία Φυτών, την προστασία του περιβάλλοντος, τη διατήρηση απειλούμενων και σπάνιων ειδών, την ενημέρωση για τη χλωρίδα άλλων περιοχών, τη βελτίωση του αστικού μικροκλίματος, την προώθηση εκπαιδευτικών διαδικασιών (π.χ. μαθήματα Βιολογικών επιστημών στο ύπαιθρο όπως συχνά συμβαίνει στο εξωτερικό), σε όλες τις βαθμίδες της Εκπαίδευσης, κ.ά. Η δραστηριότητα αυτή αναπτύσσεται προσφάτως στην Ελλάδα συνδυάζοντας την επιστημονική άποψη με την αναψυχή, προσελκύοντας ανθρώπους ευαισθητοποιημένους ως προς τα περιβαλλοντικά θέματα, στους οποίους αποβλέπουν όλα τα σύγχρονα συστήματα εκπαίδευσης και προγραμμάτων σπουδών. Η έρευνα βασίζεται σε ερωτηματολόγια, απευθύνεται σε μαθητές της δευτεροβάθμιας και πρωτοβάθμιας Εκπαίδευσης που επισκέπτονται τον Βοτανικό Κήπο Ι. & Α.Ν. Διομήδους (Χαϊδάρι) και τους συνοδούς τους εκπαιδευτικούς, και αποσκοπεί σε α) ανάλυση κινήτρων που οδηγούν στην περιήγηση στον Βοτανικό Κήπο, β) διερεύνηση των απόψεων για τον Βοτανικό κήπο πριν και μετά την επίσκεψη. Η έρευνα είναι σε εξέλιξη. Ωστόσο, η μέχρι στιγμής μελέτη συγκλίνει στην πρόταση ότι η πλειοψηφία των σχολικών τμημάτων επισκέπτεται τον βοτανικό κήπο στα πλαίσια προβλεπομένων σχολικών εκδρομών αναψυχής και δευτερευόντως για κάποιους εκπαιδευτικούς σκοπούς. Τα πορίσματα της έρευνας προβλέπεται να αξιοποιηθούν για ενημέρωση των σχολείων (σχετικά με τις εκπαιδευτικές δυνατότητες του εν λόγω Βοτανικού Κήπου), κυρίως με χρήση της ιστοσελίδας του Βοτανικού Κήπου Ιουλίας & Αλεξάνδρου Ν. Διομήδους.

**THE IMPORTANCE OF THE BOTANICAL GARDENS IN BIOLOGICAL AND  
ENVIRONMENTAL EDUCATION: RESULTS OF A SURVEY OF SCHOOLS  
VISITING THE BOTANICAL GARDEN OF JULIA & ALEXANDER N.  
DIOMEDES**

*Athanassopoulos A.<sup>1</sup>, Katsorhis Th.<sup>2</sup>, Rhizopoulou S.<sup>3</sup>*

<sup>1</sup> *Postgraduate student, NKUA, Faculty of Biology Department of Cellular Biology*

<sup>2</sup> *NKUA, Faculty of Biology Department of Cellular Biology and Biophysics*

<sup>3</sup> *NKUA, Faculty of Biology Department of Botany, Athens 15784*

*E-mail: [andratha@biol.uoa.gr](mailto:andratha@biol.uoa.gr), [srhizop@biol.uoa.gr](mailto:srhizop@biol.uoa.gr)*

Among the purposes of creating botanical gardens, as opposed to parks and urban or suburban gardens, was not necessarily (albeit not excluded) the recreation of the visitors. Nevertheless, the main scientific purpose of the designing and the development of a Botanical Garden is: a) to facilitate botanical research, b) to contribute to the protection of endemic, endangered and rare species and c) the amelioration of the urban landscape. Also, a Botanical Garden can be used for education that is related with lectures of Biology in the field, concerning primary, secondary and higher education. This last, and most recent use, enjoys global acceptance, because it can be combined with all the previously mentioned issues (recreation, conservation of the biodiversity of plants and scientific research); in addition it attracts several groups of population, whose sensitization about the environmental problems supports modern educational systems and curricula. The present work focuses in a questionnaire-based survey that includes students of primary and secondary schools who are visiting the Botanical Garden of Julia & Alexander N. Diomedes in Haidari (Iera Odos 401) Attiki, and their accompanying teachers, in order to investigate the motives that led them to the visit, the fulfillment of the aims and purposes stated before the visit, and the impression the participants had before and after the visit. The study is in progress; however, the data collected so far seem to support the hypothesis that most pupils are visiting the Botanical Garden mainly in the context of the mandatory school excursions. The results may be used to inform the public about educational aspects and possibilities in the Botanical Garden, via the website of the Botanical Garden of Julia & Alexander N. Diomedes.

**ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΠΕΡΦΟΡΙΝΗΣ ΣΤΗΝ  
ΙΡΙΔΙΖΟΥΣΑ ΠΕΣΤΡΟΦΑ\***

*Αθανασοπούλου Σ.Γ., Μαριόλη Δ., Μικρού Α., Παπαναστασίου Α.Δ.  
και Ι.Κ. Ζαρκάδης*

*Εργαστήριο Γεν. Βιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πάτρας, 26500 Ρίον,  
Πάτρα*

Οι τοξίνες που δημιουργούν πόρους (PFTs) είναι πρωτεΐνες ικανές να μεταπίπτουν από υδατοδιαλυτή μορφή σε μορφή μεμβρανικά εισερχομένου πόρου. Παρότι οι PFTs θεωρούνταν μολυσματικοί παράγοντες που συνεισφέρουν στη βακτηριακή εισβολή και μόλυνση, εντούτοις κατέχουν ρόλους-κλειδιά και στους ευκαρυώτες (πχ ιϊκές μολύνσεις, επιτήρηση όγκων). Οι PFTs ταξινομούνται σε δύο υποομάδες ανάλογα με το αν η διάρρηξη της μεμβράνης επιτυγχάνεται με δομή α-έλικας ή β-φύλλου. Μία από τις μεγαλύτερες οικογένειες της τάξης των PFTs είναι η υπεροικογένεια MACPF. Η περφορίνη έχει χαρακτηριστεί σαν λυτική PFT παραγόμενη από κύτταρα φυσικούς δολοφόνους (NK) και T-κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα (CTL). Τα μονομερή της περφορίνης εισέρχονται στη μεμβράνη, πολυμερίζονται παρουσία ασβεστίου και δημιουργούν διαμεμβρανικά κανάλια, προκαλώντας κυτταρικό θάνατο είτε με ωσμωτική λύση, είτε μέσω μεταφοράς προ-αποπτωτικών πρωτεασών (γκρανενζύ-μων) στο κύτταρο-στόχο. Το πλήρες cDNA του γονιδίου της περφορίνης στην ιριδίζουσα πέστροφα, μεγέθους 2,070 bp, μεταφράζεται σε πολυπεπτίδιο 589 αα και παρουσιάζει 64, 58 και 40% ταυτοσημία με τις περφορίνες των οργανισμών Japanese flounder, zebrafish και ανθρώπου, αντίστοιχα. Παρόλο που η δομική περιοχή MACPF είναι συντηρημένη, η περφορίνη της πέστροφας εμφανίζει μικρή ομολογία με τις πρωτεΐνες του συμπλόκου MAC του συμπληρώματος (C6, C7, C8α, C8β και C9) τόσο στον άνθρωπο όσο και στην πέστροφα (19 -24%). Η «αρχιτεκτονική δομή» της περφορίνης στην πέστροφα ομοιάζει με εκείνη των ορθολόγων της. Ανάλυση της ιστικής έκφρασης δείχνει ότι το γονίδιο της περφορίνης εκφράζεται στο αίμα, τον εγκέφαλο, την καρδιά, το έντερο και την σπλήνα. Φυλογενετική ανάλυση των πρωτεϊνών που ανήκουν στην υπεροικογένεια MACPF τοποθετεί την περφορίνη στην ίδια ομάδα με άλλες γνωστές περφορίνες.

\* Η παρούσα εργασία υποστηρίχθηκε από το Εμπειρικό Ίδρυμα.

## CLONING AND CHARACTERIZATION OF THE RAINBOW TROUT PERFORIN\*

*Athanasopoulou S.G, Marioli D., Mikrou A., Papanastasiou A.D.  
and I.K. Zarkadis*

*Department of Biology, School of Medicine, University of Patras, Rion 26 500 Patras*

Pore-forming toxins (PFTs) are proteins that possess the ability to switch from a water-soluble form to a membrane-inserted pore form. Although PFTs have been considered traditionally as virulence factors contributing to bacterial invasion and infection, these molecules also play key roles in eukaryotes (e.g. viral infection, tumour surveillance). Pore-forming toxins are broadly classified into two groups depending upon whether membrane spanning is achieved using  $\alpha$ -helices or  $\beta$ -strands. One of the largest families of the  $\beta$ -PFTs is the MACPF superfamily; so named because of a domain common to proteins of the mammalian membrane attack complex (MAC) and perforin (PF). Perforin was characterized as a lytic PFT produced by natural killer cells (NK) and cytotoxic T lymphocytes (CTL). Perforin monomers insert themselves into the plasma membrane of target cells, polymerize into pore-forming aggregates in the presence of calcium, and form transmembrane channels. Perforin itself is able to lyse and kill cells by necrosis; however it also permits delivery of pro-apoptotic proteases (granzymes) into the target cell. A perforin cDNA clone was isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after screening of a spleen cDNA library. The full-length cDNA is 2,070 bp in size, encoding for a polypeptide of 589 amino acids. The predicted amino acid sequence of the trout perforin is 64, 58 and 40% identical to those of Japanese flounder, zebrafish and human perforins, respectively. Although its membrane attack complex/perforin domain is conserved, trout perforin shows low homology to human and trout terminal complement components (C6, C7, C8 and C9), ranging from 19 to 24% identity. The architecture 'domain' of the trout perforin resembles that of its orthologs. Expression analysis reveals that the trout perforin gene is expressed in the blood, brain, heart, kidney, intestine and spleen. Phylogenetic analysis of proteins which belong to the Membrane Attack Complex/Perforin (MACPF) superfamily clusters the trout perforin in the same group with other known perforins.

\* *Supported by Empeirikeio Foundation*

**ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΟΞΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΛΛΑΞΙΓΟΝΟΥ ΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ  
ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΟΥ ΟΥΣΙΑΣ DELTAMETHRIN**

**Ακμούτσου Π., Μαδεμτζόγλου Δ., Κουννατίδης Η., Φραντζιός Γ.  
και Π. Μαυραγάνη-Τσιπίδου**

Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή  
Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 541 24 Θεσσαλονίκη

Η παρούσα μελέτη εντάσσεται σε ένα γενικότερο πλαίσιο ελέγχου της ανασυνδυαστικής και μεταλλαξιγόνου δράσης διαφόρων ευρέως χρησιμοποιούμενων ουσιών. Η εντομοκτόνος ουσία deltamethrin ανήκει στα συνθετικά πυρεθροειδή και χρησιμοποιείται για τον έλεγχο πολλών εντόμων μεγάλης οικονομικής σημασίας. Για τον καθορισμό της εντομοκτόνου δράσης του deltamethrin, χρησιμοποιήθηκε το έντομο *Drosophila melanogaster*, που θεωρείται ένας από τους ιδανικότερους ευκαρυωτικούς οργανισμούς-μοντέλα για τον καθορισμό της τοξικότητας διαφόρων ουσιών. Πραγματοποιήθηκαν χρόνιες επιδράσεις με διάφορες συγκεντρώσεις της εντομοκτόνου ουσίας (από 1 ppm έως 20 ppm) τόσο σε προνύμφες όσο και ενήλικα άτομα και προσδιορίστηκε η τιμή LD<sub>50</sub> (Lethal Dose 50%), η οποία αποτελεί την κρίσιμη συγκέντρωση κάθε ουσίας, που προκαλεί το θάνατο στο 50% των ατόμων. Για τον έλεγχο της γενετοξικής δράσης του deltamethrin εφαρμόστηκε η δοκιμή SMART (Somatic Mutation And Recombination Test). Η μέθοδος αυτή είναι μια ευρέως χρησιμοποιούμενη και γενικά αποδεκτή *in vivo* μέθοδος, που προσδιορίζει όχι μόνο την μεταλλαξιγόνο αλλά και την ανασυνδυαστική δράση διαφόρων απλών και σύμπλοκων ουσιών. Στην παρούσα μελέτη, έγινε χρόνια επίδραση με διάφορες συγκεντρώσεις του εντομοκτόνου deltamethrin σε προνύμφες από την διασταύρωση θηλυκών ατόμων *D. melanogaster* του στελέχους flr με αρσενικά άτομα του στελέχους mwh. Ο ποσοτικός προσδιορισμός της μεταλλαξιγόνου και ανασυνδυαστικής δράσης της ουσίας έγινε με την καταγραφή του αριθμού των κηλίδων στα φτερά των εντόμων. Απλές κηλίδες είναι αποτέλεσμα μετάλλαξης σημείου, ελλείμματος κι άλλων χρωμοσωματικών ανακατατάξεων ή/και μιτωτικού ανασυνδυασμού, ενώ η ύπαρξη διδύμων κηλίδων είναι αποκλειστικά αποτέλεσμα μιτωτικού ανασυνδυασμού. Έγινε σύγκριση του αριθμού των κηλίδων με τον αντίστοιχο θετικό και αρνητικό μάρτυρα και στατιστική ανάλυση των δεδομένων.



## TOXIC AND GENOTOXIC EFFECTS OF THE INSECTICIDE DELTAMETHRIN

*Akmoutsou P., Mademtoglou D., Kounatidis I., Franzios G.,  
and Mavragani-Tsipidou P.*

*Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Faculty of  
Sciences, Aristotle University, 541 24 Thessaloniki*

The present study is a part of a general project screening the toxic and genotoxic activity of substances widely used as insecticides. Deltamethrin is among the most popular and widely used insecticides in the world used for the control of a great number of insects of great economical impact. This material is a member of one of the safest classes of pesticides: synthetic pyrethroids. In order to test both the toxic and the genotoxic activities of deltamethrin, *Drosophila melanogaster*, one of the best model-organisms was used. Its toxicity was estimated by calculating the LD<sub>50</sub> value (Lethal Dose 50%), which is the crucial dose of each individual compound that causes death to 50% of the tested larvae or adults. In the present study we used concentrations from 1ppm to 20ppm of deltamethrin. For screening the genotoxic activity of the tested compound, the wing Somatic Mutation and Recombination Test (SMART) was applied. The wing spot test is a well known eukaryotic *in vivo* essay, which detects not only the different kinds of mutational events but also allows the detection of mitotic recombination. It makes use of the two recessive markers *mwh* and *flr* of *D. melanogaster*. The relative frequencies of events such as the induction of mitotic recombination, point mutations, deletions, and others, depend on the nature of the primary damage on DNA. They give rise to clones of mutant cells showing up as mosaic spots on the wings of the adult flies. Single spots are produced by somatic point mutation, deletion etc, and mitotic recombination while twin spots are produced exclusively by mitotic recombination. The statistical analysis of the mosaic spots gives the answer about the mutagenic and/or recombinogenic effects of the tested agent.

**ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΗΣ ΠΕΠΤΙΚΟ-  
ΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ *IN VITRO* ΣΤΟ ΛΑΒΡΑΚΙ  
(*DICENTRARCHUS LABRAX L.*)**

*Abusdeg Farag*<sup>1</sup>, *Αλέξη Μ.*<sup>2</sup>, *Μαμούρης Ζ.*<sup>1</sup>, *Μούτου Κ.*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πλούτωνος 26,  
41221 Λάρισα, <sup>2</sup>Ινστιτούτο Υδατοκαλλιεργειών, Ελληνικό Κέντρο Θαλασσίων  
Ερευνών, Αγ. Κοσμάς 16604 Ελληνικό, Αθήνα

Οι ιχθυοτροφές αντιστοιχούν σε σημαντικό ποσοστό του συνολικού κόστους ιχθυοπαραγωγής και για την παραγωγή τους απαιτούνται πρώτες ύλες με υψηλό πρωτεϊνικό περιεχόμενο αφού περιέχουν πρωτεΐνες σε ποσοστό περίπου 50%. Στη συνεχή αναζήτηση πρωτεϊνικών πηγών για την παραγωγή ιχθυοτροφών, ο προσδιορισμός της πεπτικότητας των πρωτεϊνών μιας πρώτης ύλης ή τροφής είναι εξαιρετικής σημασίας για την επιλογή της στην καλλιέργεια ενός είδους ψαριού. Γι' αυτό το λόγο, η ανάπτυξη αξιόπιστων, γρήγορων και οικονομικών μεθόδων για τον προσδιορισμό της πεπτικότητας των πρωτεϊνών *in vitro*, σε σύγκριση με τις μεθόδους *in vivo*, έχει προσελκύσει μεγάλο ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η ανάπτυξη μιας μεθόδου για τον προσδιορισμό της πεπτικότητας των πρωτεϊνών *in vitro*, για την αξιολόγηση πρώτων υλών και τροφών για την καλλιέργεια λαβρακιού. Η μέθοδος που αναπτύχθηκε βασίζεται στο σύστημα pH-stat και επιτρέπει τη συνεχή καταγραφή των πεπτιδικών δεσμών των διατροφικών πρωτεϊνών που διασπώνται, παρουσία ενζυμικού εκχυλίσματος που απομονώνεται από το έντερο του λαβρακιού, κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες. Η επίδραση διαφορετικών περιβαλλοντικών και βιολογικών παραγόντων σε επίπεδο αυτοϋδρόλυσης και ενζυμικής υδρόλυσης πρωτεϊνών αξιολογήθηκε συγκριτικά για μια πειραματικής ιχθυοτροφή που περιείχε μόνο ιχθυάλευρο ως πρωτεϊνική πηγή. Όλοι οι παράγοντες μελετήθηκαν σε ένα εύρος αναλογιών διατροφικής πρωτεΐνης/ενζύμου (0.5-50.0 μg diet protein/U) προσομοιάζοντας τις συνθήκες που επικρατούν *in vivo*. Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες που μελετήθηκαν ήταν το pH (6-8), η θερμοκρασία (15-25°C) και η αλατότητα (0-35‰). Οι βιολογικοί παράγοντες που μελετήθηκαν επιδρούν στο προφίλ του ενζυμικού εκχυλίσματος που χρησιμοποιείται *in vitro* και περιλαμβάνουν το εντερικό τμήμα και το διατροφικό καθεστώς του ψαριού από όπου απομονώνεται το εκχύλισμα, καθώς και την επίδραση της όξινης προ-πέψης, που προσομοιάζει τη δράση του στομάχου.

**DEVELOPMENT OF METHODOLOGY FOR THE DETERMINATION OF  
DIETARY PROTEIN DIGESTIBILITY *IN VITRO* IN SEABASS  
(*DICENTRARCHUS LABRAX* L.)**

*Abusdeg Farag*<sup>1</sup>, *Alexis M.*<sup>2</sup>, *Mamuris Z.*<sup>1</sup>, *Moutou K.A.*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Biochemistry & Biotechnology, University Thessaly, Ploutonos 26, 41221 Larissa, <sup>2</sup>Institute of Aquaculture, Hellenic Centre of Marine Research, Ag. Kosmas, 16604 Elliniko, Athens

Fish feeds represent a significant share of total fish farming cost and feed formulation is based on the extensive use of different protein sources. Protein consists approximately 50% of the fish feeds and the search for new protein sources is of high priority for the aquaculture industry. The determination of digestibility of dietary proteins of a certain raw material/ feed is key to the formulation of adequate feeds for any species. Thus, the development of digestibility tests *in vitro*, that can offer reliable, cost- and time-effective results compared with the measurement of digestibility *in vivo*, is of great interest. The aim of the present study was the development of a protein digestibility test *in vitro* for the evaluation of raw materials and feeds for sea bass.

The method developed in based on the pH-stat system that allows the continuous recording of peptide bond cleavage of the dietary proteins in the presence of crude enzyme extracts, isolated from the intestine of sea bass, under controlled conditions. The effect of environmental and biological factors on the rate of autohydrolysis and hydrolysis of an experimental diet containing only fish meal as protein source was studied. All measurements employed a range of dietary protein/enzyme ratios (0.5-50.0 µg diet protein/U) to simulate the conditions *in vivo*. Environmental factors studied were: pH (6-8), temperature (15-25°C) and salinity (0-35‰). Biological factors focused on those affecting the profile of crude enzyme extract isolated for use *in vitro*, namely the intestinal segment and the feeding regime of the fish from which crude enzyme extract is isolated as well as the effect of acid pre-digestion to simulate the action of stomach on protein digestibility.

**ΣΥΜΒΟΛΗ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΑΝΑΠΤΥΞΙΑΚΩΝ ΣΤΑΔΙΩΝ ΤΟΥ  
ΠΟΛΥΧΑΙΤΟΥ *Diopatra neapolitana* (POLYCHAETA: ONURHIDAE) ΣΕ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ**

***Αναστασιάδου Χ., Μπεζάς Α., Λιούσια Β., Γκένας Χ., Παπαδημητρίου Θ.  
και Ι.Δ. Λεονάρδος***

*Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών,  
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110, E-mail: [ileonard@cc.uoi.gr](mailto:ileonard@cc.uoi.gr)*

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η πλήρης σειρά των αναπτυξιακών σταδίων του είδους *Diopatra neapolitana* (Polychaeta: Onurhidae). Φυσικοί πληθυσμοί του είδους συλλέχθηκαν από το Θερμαϊκό κόλπο της Θεσσαλονίκης, στα τέλη Μαΐου του έτους 2005, μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο μαζί με ιλυο-αμμώδες υπόστρωμα και τοποθετήθηκαν σε ενυδρεία, χωρητικότητας 45 lt. Το υπόστρωμα πριν την τοποθέτησή του αποστειρώθηκε. Στο κάθε ενυδρείο τοποθετήθηκε ίζημα όγκου 10 lt και νερό αλατότητας 19 psu. Η θερμοκρασία διατήρηθηκε σταθερή στους 20°C με τη χρήση θερμοστάτη. Η διήθηση του νερού πραγματοποιούνταν με ειδικό βιολογικό φίλτρο ενεργού άνθρακα. Δύο φορές ημερησίως, ελεγχόταν η θερμοκρασία και η αλατότητα και λαμβάνονταν δείγμα νερού για τη μέτρηση των θρεπτικών. Μετά τη γονιμοποίηση των ωαρίων, τα δείγματα φωτογραφίζονταν με στόχο την πλήρη μορφολογική περιγραφή των σταδίων. Παράλληλα ελέγχονταν οι παράγοντες κινητικότητας, και άλλες ηθολογικές παρατηρήσεις των αναπτυσσόμενων ατόμων. Συνολικά, αναγνωρίστηκαν και περιγράφηκαν εννιά αναπτυξιακά στάδια, εκ των οποίων τα τέσσερα πρώτα στάδια περιλαμβάνουν νηκτοχαίτες ενώ τα υπόλοιπα, ερποχαίτες. Το χρονικό διάστημα από τη στιγμή της εκκόλαψης μέχρι το αναπτυξιακό στάδιο των ερποχαιτών των είκοσι μεταμερών, υπολογίστηκε στις είκοσι ημέρες.

**STUDY OF THE EARLY LARVAL STAGES OF *Diopatra neapolitana*  
(POLYCHAETA: ONUPHIDAE) UNDER LABORATORY CONDITIONS**

*Anastasiadou Chr., Bezas a., Liousia v., Gkenas Chr., Papadimitriou Th.,  
and I.D. Leonardos*

*Laboratory of Zoology, Department of Biological Applications and Technology, University  
of Ioannina, 45110, Ioannina, E-mail: [ileonard@cc.uoi.gr](mailto:ileonard@cc.uoi.gr)*

In the present study, the complete series of larval stages of *Diopatra neapolitana* (Polychaeta: Onuphidae) was studied. The species were collected from Thermaikos Bay of Thessaloniki, in May 2005. Polychaeta individuals and clay-sandy substratum were transported to the laboratory from their natural habitat and housed in suitable aquaria (capacity 45 lt.). The sediments were sterilized before the placement in the aquaria. In each aquarium 10 lt of sediment and water (19 psu salinity) were added. During the experiment, water temperature was maintained stable at 20°C using a thermostat. Water was filtrated with a biological carbon filter. Water temperature and salinity were measured twice a day and nutrients were measured daily. After fertilization, pictures of samples were taken in order to describe the morphology of the early ontogenetic larval stages. Levels of motility and other behavioral traits of the individuals were recorded. In total, nine larval stages of *Diopatra neapolitana* were identified and described. The first four stages have been characterised by niktochaetes. The other stages have been characterised by erpochaetes. Erpochaetes reached the stage of the "20 segments" in twenty days after hatching.

**ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΜΕΘΥΛΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΩΝ DNA ΚΑΙ ΑΠΟ-ΑΚΕΤΥΛΑΣΩΝ  
ΙΣΤΟΝΩΝ ΣΥΝΕΡΓΟΥΝ ΣΤΗΝ ΕΠΑΓΩΓΗ ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΟΥ ΘΑΝΑΤΟΥ ΣΕ  
ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΗΣ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΗΣ**

*Αναστασίου Δ.Κ.<sup>1</sup>, Στραβοπόδης Δ.Ι.<sup>2</sup> και Γ.Ε. Βουτσινάς<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Εργαστήριο Περιβαλλοντικής Μεταλλαξιγένεσης και Καρκινογένεσης,  
Ινστιτούτο Βιολογίας, Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος», Αγ. Παρασκευή 15310, Αθήνα;*

*<sup>2</sup>Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και  
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784, Αθήνα*

Η τροποποίηση του σχεδίου μεθυλίωσης του DNA και της δομής της χρωματίνης είναι δύο συμπληρωματικές μέθοδοι επιγενετικού ελέγχου της λειτουργίας του γονιδιώματος. Στο πλαίσιο αυτό, ένας σημαντικός αριθμός ογκοκατασταλτικών γονιδίων έχει δείχτει πως αδρανοποιείται λόγω επιγενετικής αλλαγής. Σε αντίθεση με τις γονιδιακές μεταλλάξεις, στα καρκινικά κύτταρα, η επιγενετική αποσιώπηση γονιδίων είναι δυνατό να τροποποιηθεί ή και να αντιστραφεί μέσω μικρών μορίων, που δυνητικά έχουν σημαντικό αντίκτυπο στην τύχη του καρκινικού κυττάρου. Στη μελέτη αυτή, διερευνήσαμε την ατομική και συνδυασμένη επίδραση του αναστολέα μεθυλτρανσφερασών DNA 5-αζα-2-δεοξυκυτιδίνη (5-aza-CdR), καθώς και των αναστολέων απο-ακετυλίωσης ιστονών Βουτυρικού Νατρίου (SB) και Τριχοστατίνης Α (TSA), σε ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα ουροδόχου κύστης διαφορετικού βαθμού κακοήθειας, με τη χρήση τεχνικών τύπου MTT, Western και RT-PCR. Τα αποτελέσματά μας αποδεικνύουν σαφώς ότι, σε σύγκριση με τις ατομικές επεμβάσεις με τα φάρμακα, οι συνδυασμένες επεμβάσεις (5-aza-CdR συν SB ή TSA) προκάλεσαν επαγωγή σημαντικής αύξησης ποσοστών θανάτου στα καρκινικά κύτταρα της ουροδόχου κύστης. Επιπροσθέτως, δείξαμε ότι ο κυτταρικός θάνατος οφείλεται σε απόπτωση, όπως πιστοποιείται από την παρατηρούμενη ενεργοποίηση κασπάσης-3 και την επακόλουθη πρωτεολυτική κατάτμηση καθοδικών υποστρωμάτων. Επίσης, πρέπει να σημειωθεί ότι ο αποπτωτικός θάνατος των ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων ουροδόχου κύστης ήταν βαθμο-εξαρτώμενος, με τα κύτταρα υψηλότερου βαθμού κακοήθειας να αποδεικνύονται περισσότερο ευάλωτα στη συνεργιστική δράση των συνδυασμένων φαρμάκων, σε σύγκριση με τα κύτταρα χαμηλότερου βαθμού κακοήθειας. Συμπερασματικά, στην εργασία αυτή αποδείξαμε σαφώς την συνεργιστική δράση αναστολέων μεθυλτρανσφερασών DNA και απο-ακετυλασών ιστονών, η οποία έχει ως συνέπεια την σημαντικά αυξημένη επαγωγή απόπτωσης σε καρκινικά κύτταρα της ουροδόχου κύστης.

**DNA METHYLTRANSFERASE AND HISTONE DEACETYLASE INHIBITORS  
SYNERGIZE TO INDUCE APOPTOTIC DEATH IN HUMAN URINARY  
BLADDER CANCER CELLS**

*Anastasiou D.K.<sup>1</sup>, Stravopodis D.J.<sup>2</sup>, and G.E. Voutsinas<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Laboratory of Environmental Mutagenesis and Carcinogenesis, Institute of Biology,  
N.C.S.R. "Demokritos", Ag. Paraskevi 15310, Athens; <sup>2</sup>Department of Cell Biology and  
Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens Panepistimiopolis, 15784, Athens*

Modifications in the patterns of DNA methylation and chromatin structure are two modes of epigenetic control of genome function. In this frame, a significant number of tumor suppressor genes were shown to be inactivated due to epigenetic change. Contrarily to gene mutation in cancer cells, epigenetic silencing of genes can be modulated or reversed by small molecules, potentially having a considerable impact on cancer cell fate. In this study, we have investigated the individual and combined effects of DNA methyltransferase inhibitor 5-aza-2-deoxycytidine (5-aza-CdR), as well as histone deacetylase inhibitors Sodium Butyrate (SB) and Trichostatin A (TSA) on human urinary bladder cancer cells of different malignancy grade, using MTT assays, Western blots and semi-quantitative RT-PCR reactions. Our results have clearly demonstrated that, in comparison to treatments with individual drugs, combination treatments (5-aza-CdR plus SB or TSA) induced a significant increase in bladder cancer cell death. Furthermore, we have shown that cell death was caused by apoptosis, as attested by the observed caspase-3 activation and subsequent proteolytic cleavage of downstream substrates. Remarkably, apoptotic death of human urinary bladder cancer cells was grade-dependent, with high malignancy grade cells proving to be more vulnerable to the synergistic action of drugs in combination, than the low grade cancer cells. In conclusion, in this work we have clearly demonstrated the synergistic action of DNA methyltransferase and histone deacetylase inhibitors, resulting to increased induction of apoptosis in human urinary bladder cancer cells.

**ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥ ΑΝΑΕΡΟΒΙΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟΥ ΠΡΟΤΥΠΟΥ ΜΕ ΤΗΝ  
ΕΠΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΘΕΡΜΙΚΟΥ ΠΛΗΓΜΑΤΟΣ  
(HSPS) ΣΤΟ ΔΙΘΥΡΟ MYTILUS GALLOPROVINCIALIS**

Ανέστης Α.<sup>1</sup>, Pörtner H.-O.<sup>2</sup> και Β. Μιχαηλίδης<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή  
Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

<sup>2</sup>Alfred-Wegener-Institut für Polar-und Meeresforschung, Ökophysiologie mariner Tiere,  
Bremerhaven, Germany

Τα μύδια στο φυσικό τους περιβάλλον εκτίθενται για χρονικά διαστήματα ωρών σε συνθήκες μειωμένης διαθεσιμότητας οξυγόνου κατά την άμπωτη. Η επιβίωσή τους κάτω από τις συνθήκες υποξίας που δημιουργούνται εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος. Είναι γνωστό ότι οι υψηλές θερμοκρασίες επάγουν την έκφραση των κυτταροπροστατευτικών πρωτεϊνών θερμικού πλήγματος (Hsps) στους ιστούς των μυδιών. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν τα θερμικά όρια ανοχής των μυδιών κατά την εφαρμογή συνθηκών παρατεταμένης υποξίας και ταυτόχρονα υψηλής θερμοκρασίας σε άτομα του είδους *M. galloprovincialis*. Οι μεταβολικές αποκρίσεις μελετήθηκαν μέσω του προσδιορισμού της δραστηριότητας ενός κύριου ρυθμιστικού ενζύμου της γλυκόλυσης, της κινάσης του πυροσταφυλικού οξέος (PK). Για τον προσδιορισμό της έναρξης του θερμικού στρες στους ιστούς των μυδιών, μετρήθηκαν τα επίπεδα των Hsp70 και Hsp90. Ωριμα άτομα που είχαν προηγουμένως εγκλιματιστεί σε θερμοκρασίες νερού 18°C (ομάδα Α) και 26°C (ομάδα Β), εκτέθηκαν στη συνέχεια σε θερμοκρασίες αέρα 18°C ή 32°C (της ομάδας Α) και 32°C (της ομάδας Β). Σε τακτά χρονικά διαστήματα, συλλέγονταν ζώα και γινόταν λήψη του μανδύα και του προσαγωγού μύδου. Οι ιστοί καταψύχονταν αμέσως σε υγρό άζωτο και στη συνέχεια αποθηκεύονταν στους -80°C μέχρι να χρησιμοποιηθούν. Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας, το είδος *M. galloprovincialis* δε μπορεί να επιβιώσει σε θερμοκρασίες αέρα πάνω από τους 32°C για περισσότερες από 20-25 ώρες. Επιπλέον, η επαγωγή της έκφρασης και των δύο Hsps που μελετήθηκαν κάτω από όλες τις συνθήκες έκθεσης στον αέρα υποδεικνύει πως όχι μόνο η θερμοκρασία, αλλά και η υποξία αποτελεί παράγοντα ικανό από μόνο του να προκαλέσει την αυξημένη έκφραση αυτών των μορίων. Λαμβάνοντας υπόψιν το πρότυπο του αναερόβιου μεταβολισμού των μυδιών κάτω από συνθήκες παρατεταμένης υποξίας, φαίνεται ότι η ενδοκυτταρική οξέωση που προκαλείται από τη συσσώρευση αναερόβιων τελικών προϊόντων καθώς και η μείωση του ενεργειακού ισοζυγίου εγείρουν την επαγωγή των Hsps στους ιστούς των μυδιών.



**EVIDENCE FOR CLOSE RELATIONSHIP BETWEEN ANAEROBIC  
METABOLISM PATTERN OF *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* AND HEAT  
SHOCK RESPONSE (HSR)**

*Anestis A.*<sup>1</sup>, *Pörtner H.-O.*<sup>2</sup>, and *B. Michaelidis*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, Faculty of Biology, School of  
Science, Aristotle University of Thessaloniki

<sup>2</sup>Alfred-Wegener-Institut für Polar-und Meeresforschung, Ökophysiologie mariner Tiere,  
Bremerhaven, Germany

Mussels are naturally subjected to an environment of low oxygen availability, since during low tide they are exposed to the air for hours. Survival time during anoxia is strongly influenced by several factors such as temperature. Elevated temperature is known to induce the expression of heat shock proteins (Hsps) in mussels' tissues. In this study, we investigated thermal tolerance during hypoxia and prolonged periods of associated thermal stress in *M. galloprovincialis*. Metabolic responses were analyzed by studying the activity of key glycolytic enzyme pyruvate kinase (PK). To determine when thermal stress is initiated in the tissues of exposed to air mussels the expression levels of Hsp70 and Hsp90 were measured. Adult mussels that had been acclimated at different water temperatures of 18°C (group A) and 26°C (group B), were exposed at air temperatures of 18°C or 32°C (those from group A) and 32°C (those from group B). Mussels from all groups were sampled at regular periods, mantle and posterior adductor muscle (PAM) were dissected, frozen and stored at -80°C before used for the measurement of PK activity and Hsp70 and Hsp90 levels according to known methods. According to our results, exposed *M. galloprovincialis* can not tolerate air temperatures higher than 32°C for more than 20-25 hours. Furthermore, the expression of both Hsps under all conditions of exposure indicates that, except of temperature, hypoxia by itself activates the HSR of mussels. Taking into account mussels' pattern of metabolic adaptation to long-term anoxia, it seems that intracellular acidosis caused by the accumulation of anaerobic end products, as well as the reduction of energy supplies trigger HSR in mussel tissues.

**ΔΕΙΚΤΕΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΓΗΡΑΝΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ  
ΣΥΜΠΥΚΝΩΜΕΝΩΝ ΕΡΥΘΡΩΝ ΣΕ CPD-SAGM**

**Αντωνέλου Μ.<sup>1</sup>, Κριεμπάρδης Α.<sup>2</sup>, Σταμούλης Κ.<sup>3</sup>, Οικονόμου-Petersen Ε.<sup>2</sup>,  
Μαργαρίτης Λ.Χ.<sup>1</sup>, Παπασιδέρη Ι.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Παν/μιο Αθηνών,  
Πανεπιστημιόπολις, Αθήνα, <sup>2</sup>Εθνικό Κέντρο Αιμοδοσίας, Αχαρνές, Αττική,  
<sup>3</sup>Κέντρο Αιμοδοσίας, Γενικό Κρατικό Νοσοκομείο Νίκαιας, Πειραιάς.

Υποστηρίζεται ότι η γήρανση των ερυθροκυττάρων επιταχύνεται σε συνθήκες αποθήκευσης αίματος προς μετάγγιση, παρότι δεν έχει μελετηθεί λεπτομερώς το πρότυπο των πρωτεϊνικών αλλαγών και η επίδραση των πρόσθετων διαλυμάτων όπως είναι το SAGM. Για το σκοπό αυτό, απομονώθηκαν ερυθροκύτταρα και κυστίδια από ασκούς συμπυκνωμένων ερυθρών σε διαλύματα CPD-SAGM και CPDA σε συνθήκες αποθήκευσης που χρησιμοποιούνται για μετάγγιση και μελετήθηκαν οι τροποποιήσεις πρωτεϊνικών δεικτών κυτταρικής γήρανσης σε τακτά χρονικά διαστήματα με μεθόδους ανοσοαποτυπώματος και μικροσκοπίας. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μία ομάδα πρωτεϊνών κυτταρικού στρες εμφανίζουν αλλαγές στην πρόσδεσή τους στη μεμβράνη και στην εξωκυστιδιο-ποίησή τους οι οποίες εξαρτώνται από το χρόνο και το μέσο της αποθήκευσης. Η έκταση της πρωτεϊνικής οξειδωσης, του ολιγομερισμού του Fas, της ενεργο-ποίησης των κασπασών και τροποποιήσεων στη ζώνη 3, αιμοσφαιρίνη και IgGs ήταν λιγότερο έντονα και εμφανίζονται αργότερα κατά την αποθήκευση σε CPD-SAGM σε σχέση με αυτήν στο CPDA. Προέκυψαν επίσης ενδείξεις για εντοπισμό ενεργοποιημένων κασπασών στη μεμβρανική περιοχή κυττάρων και κυστιδίων. Η μελέτη παρέχει ενδείξεις για συγκριτικά λιγότερες πρωτεϊνικές οξειδωτικές βλάβες στα ερυθροκύτταρα που αποθηκεύονται σε CPD-SAGM. Η διακύμανση της έκφρασης των δεικτών γήρανσης φαίνεται να συσχετίζεται με τη διαχείριση του οξειδωτικού στρες από τα ερυθροκύτταρα. Προτείνεται ότι η αποθήκευση ερυθροκυττάρων σε CPD-SAGM βρίσκεται εγγύτερα στην *in vivo* γήρανση σε σχέση με το CPDA, καθώς χαρακτηρίζεται από βραδύτερη ενεργοποίηση των σηματοδοτικών μονοπατιών κυτταρικής αναγνώρισης τα οποία πυροδοτούν την ερυθρο-φαγοκυττάρωση των γηρασμένων ερυθρών.

Η μελέτη αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς την Ι. Παπασιδέρη.

## ERYTHROCYTE AGING MARKERS DURING STORAGE IN CPD-SAGM

Antonelou M.<sup>1</sup>, Kriebardis A.<sup>1,2</sup>, Stamoulis K.<sup>3</sup>, Economou-Petersen E.<sup>2</sup>, Margaritis L.H.<sup>1</sup>, Papassideri I.S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens,  
Panepistimiopolis, Athens <sup>2</sup>National Blood Center, Athens

<sup>3</sup>Blood Transfusion Center, Nikea, Piraeus

It has been suggested that red blood cell (RBC) senescence is accelerated under blood bank conditions although neither protein profile of RBC aging nor the impact of additive solutions on it have been studied in detail. For that purpose, RBCs and vesicles derived from erythrocyte concentrates in CPD-SAGM and CPDA were evaluated for the expression of cell senescence markers (vesiculation, protein aggregation, degradation, activation, oxidation and topology) by means of immunoblotting and immuno- fluorescence or -electron microscopy. According to the results, a group of cellular stress proteins exhibited storage time- and storage medium-related changes in their membrane association and exocytosis. The extent, the rate and the expression of protein oxidation, Fas oligomerization, caspase activation and protein modifications of band 3, haemoglobin and IgGs, were less conspicuous or exhibited significant time retardation under storage in CPD-SAGM compared to the CPDA. There was evidence for the localization of activated caspases near to the membrane of both cells and vesicles. Our study provides circumstantial evidence for a lower protein oxidative damage in CPD-SAGM-stored RBCs compared to the CPDA-stored cells. The variation in the expression of senescence markers seemed to be accordingly related to the oxidative stress management of the cells. We suggest that the storage of RBCs in CPD-SAGM may be closer to the *in vivo* RBC aging over the storage in CPDA, because it is characterized by a slower stimulation of the recognition signaling pathways that trigger the erythrophagocytosis of senescent RBCs.

*This study was supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to I. S. Papassideri.*

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΦΩΣΦΟΛΙΠΑΣΩΝ ΣΤΗΝ ΕΓΚΑΘΙΔΡΥΣΗ ΠΟΛΙΚΟΤΗΤΑΣ-  
ΕΠΑΓΩΓΗ ΑΣΥΜΜΕΤΡΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΔΙΑΙΡΕΣΕΩΝ ΣΤΟ ΠΡΩΤΟΔΕΡΜΑ  
ΦΥΛΛΩΝ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *Zea mays***

Αποστολάκος Π.<sup>1</sup>, Παντερής Ε.<sup>2</sup>, Γαλάτης Β.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, <sup>2</sup>Τομέας Βοτανικής, Τμήμα  
Βιολογίας, ΑΠΘ

Τα στοματικά σύμπλοκα των αγροστωδών αποτελούν πρότυπο σύστημα για τη διερεύνηση των μηχανισμών που ελέγχουν τη διαμόρφωση κυτταρικών συμπλεγμάτων. Το μητρικό κύτταρο των καταφρακτικών (ΜΚ) επάγει πολικότητα και ασύμμετρη κυτταροδιαίρεση στα γειτονικά του κύτταρα (μητρικά κύτταρα των παραστοματικών, ΜΠ). Η πολικότητα των ΜΠ εκδηλώνεται με την οργάνωση στο πολικό τους άκρο μιας πλάκας μικρονηματίων ακτίνης (ΜΑ), μιας ιδιόμορφης προπροφασικής ζώνης μικροσωληνίσκων (ΠΠΖΜ) και με την πολική τοποθέτηση του πυρήνα. Στην εργασία αυτή διερευνάται κατά πόσο οι φωσφολιπάσες C και D (PLC και PLD) συμμετέχουν στον μηχανισμό μεταγωγής του ερεθίσματος, που επάγει πολικότητα-ασύμμετρη κυτταροδιαίρεση στα ΜΠ. Τα ένζυμα αυτά υδρολύουν δομικά φωσφολιπίδια του πλασμαλήμματος, παράγοντας ενώσεις που λειτουργούν ως μόρια μεταγωγής σήματος. Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν οι επιπτώσεις της ανάσχεσης ή τροποποίησης της δραστηριότητας των PLC και PLD στην οντογένεση των στοματικών συμπλόκων του φυτού *Zea mays*. Βρέθηκε ότι: (α) Η τροποποίηση της δραστηριότητας των PLD αναστέλλει την οργάνωση της πλάκας ΜΑ και την ασύμμετρη διαίρεση στα ΜΠ, ενώ δεν επηρεάζει την οργάνωση της ΠΠΖΜ, αλλά και τη σύμμετρη διαίρεση του ΜΚ. (β) Η ανασχεση της δραστηριότητας των PLC αναστέλλει την ασύμμετρη διαίρεση στα ΜΠ, ενώ δεν επηρεάζει την οργάνωση της πλάκας ΜΑ και της ΠΠΖΜ. Συνάγεται ότι τα προϊόντα της καταλυτικής δραστηριότητας των PLC και PLD συμμετέχουν στη μεταγωγή του επαγωγικού ερεθίσματος, το οποίο προκαλεί την πολική οργάνωση των μικρονηματίων ακτίνης και την ασύμμετρη διαίρεση στα ΜΠ, ενώ δεν σχετίζονται με τους μηχανισμούς που ελέγχουν την πολική οργάνωση των μικροσωληνίσκων στα ΜΠ.

Η εργασία αυτή ενισχύθηκε οικονομικά από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων και Έρευνας του ΕΚΠΑ (πρόγραμμα Καποδίστριας).

**THE INVOLVEMENT OF PHOSPHOLIPASES C AND D IN POLARIZATION  
AND ASYMMETRIC DIVISION OF PROTODERMAL CELLS OF *Zea mays***

*Apostolakos P.<sup>1</sup>, Panteris E.<sup>2</sup>, Galatis B.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens*

<sup>2</sup>*Department of Botany, Faculty of Biology, Aristotle University of Thessaloniki*

The developing stomatal complexes of gramineae is an ideal system to investigate the mechanisms that control the development of cell complexes. The guard cell mother cell (GCM) induces polarity and asymmetric division in its lateral neighboring cells, the subsidiary cell mother cells (SMCs), which produce the subsidiary cells. The SMC's polarity is structurally expressed by the formation of a specific actin filament system (AF-patch), a particular microtubule preprophase band (MT-PPB) and the migration of the nucleus to the polar end of the SMC, close to the inducing GMC. In the present study, the involvement of phospholipase C and D (PLC and PLD) signaling in the induction of the asymmetric division of SMC was investigated. These enzymes cleave structural phospholipids, producing signaling molecules. In particular, the effects of inhibition or modulation of PLCs and PLDs in *Zea mays* stomatal complex ontogenesis were studied. It was found that: (a) the modulation of PLD activity results in the inhibition of AF-patch formation and the asymmetric division in SMCs, while the MT-PPB organization remains unaffected. The symmetrical division of the GMCs was not affected. (b) PLC inhibition disrupts the asymmetric SMC division but AF-patch and MT-PPB organized as in control SMCs. These data show that PLC and PLD signaling pathways are involved in the transduction of the inductive stimulus that induces AF-patch organization and SMC asymmetric division, while MT-PPB formation does not depend on PLC and PLD signaling pathways.

*This work was financed by grants from the University of Athens (Project "Kapodistrias")*

**ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΩΝ ΤΟΥ  
ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΣΚΕΛΕΤΟΥ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ PROFILE HMMs***Ασημάκης Η.Δ.<sup>1</sup>, Μπάγκος Π.Γ.<sup>2</sup>, Χαμόδρακας Σ.Ι.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, <sup>2</sup>Τμήμα Πληροφορικής με Εφαρμογές στη Βιοϊατρική, Πανεπιστήμιο Στερεάς Ελλάδας, Παπασιοπούλου 2-4, Λαμία*

Τα βακτηριακά κύτταρα περιέχουν ένα σύνθετο, δυναμικό δίκτυο κυτταροσκελετικών ινιδίων που συγκροτούνται από μια πλειάδα πολυμεριζόμενων πρωτεϊνών. Οι πρωτεΐνες που συνθέτουν το δίκτυο αυτό, κατατάσσονται σε τέσσερις κύριες ομάδες, από τις οποίες, οι τρεις περιέχουν αντιπροσώπους που εμφανίζουν ομολογία με τα γνωστά στοιχεία του ευκαρυωτικού κυτταροσκελετού, δηλαδή τις ακτίνες, τις σωληνίνες και τα ενδιάμεσα ινίδια, ενώ η τέταρτη ομάδα των βακτηριακών κυτταροσκελετικών πρωτεϊνών, που ονομάζεται MinD/ParA, δεν εμφανίζει ομόλογους αντιπροσώπους στα ευκαρυωτικά κύτταρα. Κάθε μία από τις ομάδες αυτές περιέχει αρκετές πρωτεϊνικές οικογένειες, οι οποίες συμμετέχουν σε μια πλειάδα λειτουργιών στο βακτηριακό κύτταρο, συμπεριλαμβανομένης της κυτταρικής διαίρεσης, του διαχωρισμού του γενετικού υλικού, της διατήρησης του κυτταρικού σχήματος, της συγκράτησης στη θέση τους αλλά και της διακίνησης των βακτηριακών οργανιδίων. Για την μελέτη των πρωτεϊνικών οικογενειών του κυτταροσκελετού των βακτηρίων αναπτύξαμε μοντέλα HMM για κάθε οικογένεια ξεχωριστά, με τη χρήση του προγράμματος hmmer v2.3.2. Αρχικά απομονώθηκαν γνωστές αλληλουχίες κάθε πρωτεϊνικής οικογένειας μέσω της βιβλιογραφίας και ακολούθως υποβλήθηκαν σε Psi-Blast. Οι αλληλουχίες που προέκυψαν από την αναζήτηση, χρησιμοποιήθηκαν για την δημιουργία πολλαπλών στοιχίσεων, οι οποίες αποτέλεσαν τη βάση για την τελική ανάπτυξη των μοντέλων. Επίσης, απομονώθηκαν μοντέλα HMM πρωτεϊνικών οικογενειών του βακτηριακού κυτταροσκελετού που υπήρχαν ήδη κατατεθειμένα στην Pfam 23.0. Τα μοντέλα που αναπτύξαμε σε συνδυασμό με αυτά που απομονώθηκαν από την Pfam, χρησιμοποιήθηκαν για την εύρεση ομόλογων αλληλουχιών σε γνωστά πρωτεώματα βακτηρίων.

**COMPUTATIONAL ANALYSIS OF THE PROTEIN FAMILIES OF  
BACTERIAL CYTOSKELETON USING PROFILE HMMs**

*Asimakis I.D.<sup>1</sup>, Bagos P.G.<sup>2</sup>, Hamodrakas S.J.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology,  
University of Athens, Athens 157 01, Greece.*

*<sup>2</sup>Department of Computer Science and Biomedical Informatics, University of Central  
Greece, Papasiopoulou 2-4, Lamia 35100, Greece.*

Bacterial cells contain a complex and dynamic network of cytoskeletal elements that are formed by a variety of polymerizing proteins. The proteins that compose the network of bacterial cytoskeletal elements can be divided into four main groups, three of which contain counterparts to known eukaryotic cytoskeletal elements, that is, actin, tubulin and intermediate filaments, while the fourth group, called MinD/ParA, does not have any counterparts in eukaryotes. Each of these groups contains a different number of protein families, which participate in a variety of functions within the bacterial cell, including cell division, DNA segregation, maintaining cell shape, positioning and transporting bacterial organelles. In order to study the protein families of the bacterial cytoskeleton we developed HMM models for every family using the program hmmer v2.3.2. At first, known sequences of each protein family were found and isolated through the literature and were afterwards submitted to Psi-Blast. The resultant sequences of the search were used to generate multiple alignments, which were the key element for the final construction of the models. Models of bacterial cytoskeletal protein families that were already registered in Pfam 23.0 were also used. Finally, the combination of the models we developed with the models from Pfam 23.0 was used to identify homologous sequences in known bacterial proteomes.

**ΠΡΟΚΛΗΣΗ ΥΠΕΡΑΛΓΗΣΙΑΣ ΑΠΟ ΟΠΙΟΕΙΔΗ – ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ  
ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥΣ ΣΕ ΝΕΥΡΩΝΕΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΑΜΠΟΥ***Ασπροδίνη Ε.\***Εργ. Φαρμακολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, 41 110 Λάρισα.*

Είναι πλέον αποδεκτό ότι η φθίνουσα αναλγητική αποτελεσματικότητα των οπιοειδών φαρμάκων στην αντιμετώπιση του πόνου δεν οφείλεται μόνο σε φαρμακολογική αντοχή αλλά και στην ανάπτυξη *υπεραλγησίας*. Το φαινόμενο αυτό αίρεται παρουσία αναστολέων των NMDA υποδοχέων υποδηλώνοντας την εμπλοκή τους στην πρόκληση της υπεραλγησίας. Στη διαδικασία αντίληψης του πόνου εμπλέκονται διάφορες περιοχές του εγκεφάλου μεταξύ των οποίων και ο ιππόκαμπος ο οποίος, εκτός από το γνωστό του ρόλο σε διαδικασίες μνήμης και μάθησης, συμμετέχει, ως μέρος του μεταιχμιακού συστήματος, στη συναισθηματική επεξεργασία αλλά και την αντίληψη του πόνου. Σε όλες τις στοιβάδες του ιπποκάμπου υπάρχουν διάμεσοι GABAεργικοί νευρώνες, οι οποίοι συνιστούν και τον αποκλειστικό τόπο έκφρασης οπιοειδικών υποδοχέων. Αντίθετα, οι υποδοχείς NMDA εντοπίζονται τόσο στους πυραμιδοειδείς όσο και στους διάμεσους νευρώνες και αποτελούν τα υψηλότερα επίπεδα έκφρασης σε όλο τον εγκέφαλο. Τα παραπάνω στοιχεία καθιστούν, επομένως, τη δομή αυτή του εγκεφάλου αξιόλογο μοντέλο για τη μελέτη της δράσης των οπιοειδών, της αλληλεπίδρασης των μ- και NMDA υποδοχέων και της διερεύνησης των μηχανισμών που πιθανόν να εμπλέκονται στην ανάπτυξη υπεραλγησίας. Λειτουργικά, στη CA1 περιοχή του ιπποκάμπου η *in vitro* ενεργοποίηση των οπιοειδικών υποδοχέων προκαλεί αύξηση της νευρωνικής δραστηριότητας ως συνέπεια της ανασταλτικής τους δράσης στους GABAεργικούς νευρώνες. Σε πρόσφατη μελέτη διαπιστώθηκε ότι η οξεία *in vivo* χορήγηση του οπιοειδούς φεντανύλη οδηγεί, 24 h αργότερα, σε παράλληλη μείωση της μετασυναπτικής αναστολής και της ανοσοδραστικότητας στο GABA υποδηλώνοντας την εγκατάσταση προσαρμοστικών αλλαγών στην περιοχή CA1 του ιπποκάμπου. Η έλλειψη γνώσης των κυτταρικών μηχανισμών που οδηγούν στην υπεραλγησία δεν επέτρεψε μέχρι σήμερα την αποτελεσματική αντιμετώπισή της στην κλινική πράξη. Η κατανόηση των πλαστικών αλλαγών κατά την ανάπτυξη και εγκαθίδρυση της υπεραλγησίας, αναμένεται να συμβάλει στην εξεύρεση νέων θεραπευτικών στρατηγικών για την αντιμετώπιση του πόνου.

*(\*) προσκεκλημένη ομιλήτρια*



## OPIOID-INDUCED HYPERALGESIA – EFFECTS ON HIPPOCAMPAL NEURONS

*Asproдини E.\**

*Lab. Pharmacology, Dept. of Medicine, University of Thessaly, 41 110 Larissa.*

Opioid treatment is the most effective therapy for alleviating moderate to severe pain. However, the analgesic effects of opioids subside due to the development of tolerance. Animal and clinical studies report abnormal and prolonged pain states following acute or chronic opioid treatment attributed to long-lasting opioid-mediated hyperalgesic responses that outlast opiate receptor activation. It has been recently shown that ketamine, an NMDA-receptor antagonist, prevents opioid-induced hyperalgesia, suggesting that NMDA-receptor activation is required for the long-lasting enhancement in pain sensitivity. The hippocampus has been implicated in the formation of pain memory, serving as an aversive event amplifier and the development of avoidance learning. In humans, hippocampallectomy has been shown to impair pain perception and relieve from intractable pain. The hippocampus consists the site with the highest NMDA-receptor density within the brain. Furthermore, GABAergic interneurons within the CA1 area of the hippocampus express high density of opioid receptors, thus, rendering this brain area an appropriate model for studying opioid-NMDA receptor interactions and exploring the possible mechanisms underlying opioid-induced hyperalgesia. Acute exposure to opioids has been shown to increase neural activity within the CA1 area of the hippocampus, due to a disinhibitory process attributed to hyperpolarization of GABAergic interneurons. We have recently shown that a single *in vivo* exposure to the opioid agonist fentanyl is sufficient to reduce GABA-mediated inhibition 24 hours after treatment suggesting the development of neuronal adaptation and plastic alterations within the CA1 area of the hippocampus. The mechanisms underlying these effects remain to be addressed. Future studies designed to elucidate the molecular, cellular and network alterations elicited following opioid treatment may lead to better understanding of the mechanisms and neuronal circuitries involved in the early stages of the development of tolerance towards the analgesic effects of opioids.

*(\*) Invited speaker*

**ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΕΙΣΒΟΛΗΣ ΤΟΥ ΔΑΚΟΥ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ, BACTROCERA  
OLEAE, ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ 10 ΜΙΚΡΟΔΟΥΡΥΦΟΡΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ****Αυγουστίνος Α.<sup>1,3\*</sup>, Ζυγουρίδης Ν.<sup>1\*</sup>, Ζαλόνι Ε.Γ.<sup>2</sup>, Ματθιόπουλος Κ.<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Παν/μιο Θεσσαλίας;<sup>2</sup>Department of Entomology, University of California, Davis, USA;<sup>3</sup>Τμήμα Βιολογίας, Παν/μιο Πατρών

\*equally contributing authors

Ο δάκος της ελιάς (*Bactrocera oleae*) είναι το κύριο παράσιτο του καρπού της ελιάς. Με δεδομένο ότι η προνύμφη του αναπτύσσεται και τρέφεται αποκλειστικά από το μεσοκάρπιο της ελιάς, η εξάπλωση του εντόμου περιορίζεται στη ζώνη καλλιέργειάς της. Παρότι η ελιά έχει μια ιστορία εκατό χρόνων στην Καλιφόρνια, ο δάκος της ελιάς ανιχνεύτηκε για πρώτη φορά το 1998, κοντά στην περιοχή του Los Angeles. Μέσα στα επόμενα πέντε χρόνια, το έντομο αυτό βρέθηκε σε όλες τις περιοχές καλλιέργειας της ελιάς στην πολιτεία αυτή. Σήμερα στην Καλιφόρνια η βιομηχανία παραγωγής ελαιολάδου και επιτραπέζιων ελιών εκτιμάται στα 80εκ \$. Προκειμένου να εντοπίσουμε την πιθανή περιοχή προέλευσης της εισβολής του δάκου στην περιοχή αυτή, συλλέχθηκαν άτομα δάκου από πέντε περιοχές της Καλιφόρνια και αναλύθηκαν με βάση τους πολυμορφισμούς σε δέκα μικροδορυφορικούς δείκτες. Ένα επιπλέον δείγμα από το Ισραήλ συμπεριλήφθηκε στην ανάλυση. Οι μικροδορυφορικοί δείκτες αποτελούν ιδανικά γενετικά εργαλεία για την ανάλυση προσφάτων φαινομένων εισβολής και τη μελέτη της πορείας προσφάτως ιδρυθέντων πληθυσμών, λόγω του υψηλού πολυμορφισμού τους. Τα αποτελέσματά μας ενσωματώθηκαν σε αυτά μιας προηγούμενης μελέτης των φυσικών πληθυσμών του δάκου στην ευρωπαϊκή πλευρά της λεκάνης της Μεσογείου. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων δείχνει την ανατολική πλευρά της λεκάνης της Μεσογείου ως πιο πιθανή πηγή της εισβολής του δάκου της ελιάς στην Καλιφόρνια. Τα δείγματα της Καλιφόρνια εμφανίστηκαν αρκετά διαφοροποιημένα από τα αντίστοιχα της Μεσογείου και δεν φάνηκε να αποτελούν ένα παμμικτικό πληθυσμό, δεδομένα που υποδεικνύουν τη συμμετοχή φαινομένων όπως στενωπού και τυχαίας γενετικής εκτροπής κατά την πορεία εξάπλωσης του δάκου της ελιάς στην Καλιφόρνια.

**ANALYSIS OF OLIVE FLY (*BACTROCERA OLEAE*) INVASION IN  
CALIFORNIA BASED ON 10 MICROSATELLITE MARKERS**

**Augustinos A.A.<sup>1,3</sup>\*, Zygouridis N.E.<sup>1\*</sup>, Zalom F.G.<sup>2</sup>, Mathiopoulos K.D.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Greece;

<sup>2</sup>Department of Entomology, University of California, Davis, USA;

<sup>3</sup>Department of Biology, University of Patras, Ploutonos 26, Greece;

\*equally contributing authors

The olive fruit fly, *Bactrocera oleae*, is the main pest of the olive fruit. Being a strictly monophagous species (at the developmental stage of larvae), its expansion is exclusively restricted to the cultivation zone of the olive tree. Even though olive cultivation has a century-old history in California, the olive fly was first observed in the Los Angeles area in 1998. Within five years, the insect expanded its range in all olive cultivating areas of the state. Today the California olive industry produces table and oil olives valued at about \$80 million. In order to identify the source of this invasion, field-collected flies from five locations in California were analyzed on the basis of microsatellite polymorphisms in ten distinct loci. In addition, a sample from Israel was included in the analysis. Microsatellite markers constitute very powerful genetic tools for the analysis of recent invasion phenomena and study of recently founded populations, due to their high polymorphism. Our results were integrated to those of a previous study of olive fly populations around the European part of the Mediterranean basin. The analysis pointed to the eastern part of the Mediterranean as the putative source of the observed invasion. Samples from California were quite differentiated from Mediterranean samples and they did not seem to represent a panmictic population, implying the participation of phenomena such as bottleneck and genetic drift during the expansion route of the olive fly in California.

**ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ *HSP83* ΤΟΥ  
ΕΝΤΟΜΟΥ *Bactrocera oleae***

**Βαρθολομαίου Ε., Παντζαρτζή Χ., Δροσοπούλου Ε. και Ζ.Γ. Σκούρας**

Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σ.Θ.Ε.,  
Α.Π.Θ., 54124 Θεσσαλονίκη

[evarthol@bio.auth.gr](mailto:evarthol@bio.auth.gr); [chrysap@bio.auth.gr](mailto:chrysap@bio.auth.gr); [edrosopo@bio.auth.gr](mailto:edrosopo@bio.auth.gr); [scouras@bio.auth.gr](mailto:scouras@bio.auth.gr)

Το έντομο *Bactrocera oleae*, ο κοινός “δάκος της ελιάς”, επειδή προκαλεί εκτεταμένες καταστροφές στην ελαιοπαραγωγή έχει ιδιαίτερη οικονομική σημασία για όλες τις μεσογειακές χώρες, Μέχρι σήμερα οι προσπάθειες για τον έλεγχο του δάκου περιορίζονται στη χρήση χημικών εντομοκτόνων με αρνητικές επιπτώσεις στο περιβάλλον. Η μελέτη του εντόμου σε γενετικό και μοριακό επίπεδο, μπορεί να συμβάλλει σημαντικά στην προσπάθεια καταπολέμησής του με βιολογικές μεθόδους. Το γονίδιο *hsp83*, μέλος της οικογένειας HSP90, παρουσιάζει ενδιαφέρον λόγω του σημαντικού του ρόλου κατά την κυτταρική απόκριση σε διάφορες περιβαλλοντικές συνθήκες. Τα γονίδια της οικογένειας HSP90 εμφανίζουν υψηλή συντήρηση, γεγονός που τα καθιστά χρήσιμα σε φυλογενετικές μελέτες. Στην παρούσα εργασία αναλύθηκε τμήμα του γονιδίου *hsp83* του είδους *B. oleae*. Σχεδιάστηκαν εκκινητές, με βάση γνωστές αλληλουχίες γονιδίων της οικογένειας HSP90 από συγγενικούς οργανισμούς, και εφαρμόστηκε η μέθοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR) σε γονιδιωματικό DNA. Η ανάλυση της πρωτοταγούς αλληλουχίας των τμημάτων που ενισχύθηκαν, σε συνδυασμό με χρήση εργαλείων βιοπληροφορικής έδειξε ότι αυτά καλύπτουν τμήμα του γονιδίου *hsp83* μήκους 1999 ζευγών βάσεων, ενώ η προβλεπόμενη πρωτεϊνική αλληλουχία, μήκους 666 αμινοξέων, φέρει τις χαρακτηριστικές υπογραφές της οικογένειας πρωτεϊνών HSP90. Επιπρόσθετα, από τα φυλογενετικά δέντρα που κατασκευάστηκαν, ενισχύεται η άποψη ότι από την υπό μελέτη αλληλουχία κωδικοποιείται κυτταροπλασματικό μέλος της οικογένειας HSP90.

**ISOLATION AND ANALYSIS OF HSP83 GENE SEQUENCES OF *Bactrocera oleae***

**Vartholomaiou E., Pantzartzi Chr., Drosopoulou E., and Z.G. Scouras**

Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, A.U.Th.,  
54124 Thessaloniki

[evarthol@bio.auth.gr](mailto:evarthol@bio.auth.gr); [chrysap@bio.auth.gr](mailto:chrysap@bio.auth.gr); [edrosopo@bio.auth.gr](mailto:edrosopo@bio.auth.gr); [scouras@bio.auth.gr](mailto:scouras@bio.auth.gr)

*Bactrocera oleae* is an insect pest of great economical importance, causing great losses to the olive fruit crops in the Mediterranean countries. The control of *B. oleae* is based on chemical insecticides with negative effects on the environment. Genetic and molecular studies of the insect could significantly contribute to the efforts for its biological control. The *hsp83* gene, a member of the HSP90 gene family, is of great interest due to its important role in cell response to different environmental conditions. The HSP90 family genes are highly conserved and are thus widely used for phylogenetic studies. In order to isolate the *hsp83* gene of *B. oleae*, primers were designed based on known *hsp90* gene sequences from related organisms and the polymerase chain reaction was applied on genomic DNA. Sequencing of the amplified fragments and bioinformatic analysis showed that they represent a 1999 bp long part of the *hsp83* gene. The predicted aminoacid sequence, 666 aa in length, bears the characteristic signatures of the HSP90 protein family. In addition, the phylogenetic trees constructed propose that the isolated sequence potentially encodes for the cytoplasmic member of the HSP90 family.

**ΑΠΟΚΩΔΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΟΥ ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΤΗΣ UVB  
ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΩΟΓΕΝΕΣΗ ΤΟΥ ΔΙΠΤΕΡΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ  
*Drosophila melanogaster***

**Βασιλάκη Ε.Γ.<sup>1</sup>, Βελέντζας Π.Δ.<sup>1</sup>, Βελέντζας Α.Δ.<sup>1</sup>, Μπάκου Β.Ε.<sup>1</sup>,  
Ζέρβας Χ.<sup>2</sup>, Περδικάρη Α.Σ.<sup>1</sup>, Πρέκα Κ.Π.<sup>1</sup>, Παπασιδέρη Ι.Σ.<sup>1</sup>,  
Μαργαρίτης Α.Χ.<sup>1</sup> και Δ.Ι. Στραβοπόδης <sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Τομέας Βιολογίας Κυττάρων και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και  
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 15784,  
Αθήνα; <sup>2</sup>Εργαστήριο Γενετικής, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας  
Αθηνών, Σωράνου Εφεισίου 4, 11527, Αθήνα

Η υπεριώδης ακτινοβολία (UV) ανήκει στο τμήμα εκείνο της ακτινοβολίας του Ηλίου που προσπίπτει συνεχώς στην επιφάνεια της Γης και διαχωρίζεται στις τρεις κύριες υποκατηγορίες των UVA, UVB και UVC, η καθεμία εκ των οποίων χαρακτηρίζεται από διαφορετική κυτταροτοξική δυναμική. Στόχο της συγκεκριμένης εργασίας αποτελεί η διερεύνηση των κυτταροβιολογικών επιπτώσεων της ακτινοδυναμικής παρέμβασης τύπου UVB (312 nm) κατά τη διάρκεια της ωογένεσης του Δίπτερου εντόμου *Drosophila melanogaster*, τόσο σε φυσικού τύπου (*Dmp53<sup>+/+</sup>*) όσο και σε *Dmp53* γονιδιακά στοχευμένου και γενετικά ανεπαρκούς τύπου (*Dmp53<sup>-/-</sup>*) στελέχη, καθώς και σε έντομα GFP διαγονιδιακού τύπου του θυλακοκυτταρικού διαμερίσματος αναπτυσσόμενων ωοθυλακίων. Ως εκ τούτου, και με την εφαρμογή στοχευμένων κυτταροβιολογικών χρώσεων, ανιχνεύθηκαν και αναλύθηκαν, τόσο ποιοτικά όσο και ποσοτικά, διακριτά μορφολογικά χαρακτηριστικά ενός UVB-επαγόμενου προγράμματος αποπτωτικού θανάτου, που φαίνεται να απορυθμίζει δραστικά τη φυσιολογική αναπτυξιακή πορεία της ωογένεσης στη *D. melanogaster*. Διαπιστώθηκε ότι τα UVB-ακτινοβολημένα έντομα είναι μικρότερα σε συνολικό μέγεθος και εμφανίζονται να παρουσιάζουν προβληματική κινητικότητα και συμπεριφορά, ενώ παρόμοια αποτελέσματα εκλαμβάνονται και από τη μελέτη του μεγέθους των αντίστοιχων ωοθηκών. Η UVB ακτινοβολία οδηγεί σε αύξηση της ισχύος του φαινομένου της απόπτωσης στις ωοθήκες του φυσικού τύπου εντόμων, σε αντίθεση με το *Dmp53<sup>-/-</sup>* μεταλλαγμένο στελέχος, όπου η επίδρασή της φαίνεται να διαφέρει ανάλογα με το αποπτωτικό χαρακτηριστικό που εξετάζεται, υποδεικνύοντας, ως εκ τούτου, τη συμμετοχή τόσο *Dmp53*-εξαρτώμενων όσο και *Dmp53*-ανεξάρτητων μονοπατιών στη ρύθμιση της πορείας της ωογένεσης, κάτω είτε από φυσιολογικές είτε από «στρεσογόνες» συνθήκες.

**DECODING OF THE UVB RADIATION APOPTOTIC POTENCY DURING  
*Drosophila melanogaster* (Diptera, Drosophilidae) OOGENESIS**

**Vasilaki E.G.<sup>1</sup>, Velentzas P.D.<sup>1</sup>, Velentzas A.D.<sup>1</sup>, Bakou V.E.<sup>1</sup>, Zervas C.<sup>2</sup>, Perdikari  
A.S.<sup>1</sup>, Preka K.P.<sup>1</sup>, Papassideri I.S.<sup>1</sup>, Margaritis L.H.<sup>1</sup>, and D.J. Stravopodis <sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens,  
Panepistimiopolis, Zografou 15784, Athens, Greece; <sup>2</sup>Genetics Lab., Biomedical Research  
Foundation Academy of Athens, 4 Soranou Ephessiou, 11527, Athens, Greece

The Ultraviolet (UV) radiation belongs to the fraction of sunlight radiation that constantly hits the earth and is classified in the three major sub-categories of UVA, UVB and UVC, with each one of them being characterized by different cytotoxic potential. The present study focuses on the examination of the cytobiological effects of the UVB-mediated radiodynamic intervention (312 nm) during oogenesis of wild type (*Dmp53<sup>+/+</sup>*) and *Dmp53* knockout (*Dmp53<sup>-/-</sup>*) *Drosophila melanogaster* insect strains, as well as of transgenic flies specifically overexpressing the GFP reporter protein in the follicle cell compartment of developing egg chambers. Therefore, and through the application of targeted biological staining approaches, such as acridine orange, propidium iodide, phalloidine-rhodamine and lysotracker red, distinct morphological features of a UVB-induced apoptotic cell death program was, qualitatively and quantitatively, detected and analyzed, unambiguously demonstrating its capacity to severely deregulate the physiological developmental process of oogenesis in *D. melanogaster*. It was, interestingly, revealed that the UVB-irradiated flies exhibit a generally smaller body size, along with problematic mobility and behaviour, while similar results were obtained from the study of the acquired sizes of the respective ovaries. UVB radiation induces a significant increase of the apoptotic potency and strength in the ovaries of the wild type strain, but not of the *Dmp53<sup>-/-</sup>* mutant one, where its cytotoxic effects seem to differ depending on the apoptotic characteristic examined, thus clearly indicating the critical involvement of *Dmp53*-dependent and *Dmp53*-independent signaling pathways in the regulation of oogenesis course, either under physiological or genotoxic stress growth conditions.

**ΜΕΛΕΤΗ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΣΤΑ ΓΟΝΙΔΙΑ Cer1 ΚΑΙ DKK1 ΣΕ  
ΓΥΝΑΙΚΕΣ ΜΕ ΟΣΤΕΟΠΩΡΩΣΗ**

*Βασιλοπούλου Μ., Κορομηλά Θ., Λούκα Μ., Παύλου Μ.-Α., Βασιλείου Σ.,  
Αλεπόρου-Μαρίνου Β., Κόλλια Π.*

*Εργαστήριο Γενετικής Ανθρώπου, Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα  
Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 81 Αθήνα*

Η οστεοπόρωση είναι μια πολυπαραγοντική ασθένεια με έντονο γενετικό υπόβαθρο, που χαρακτηρίζεται από μείωση της οστικής πυκνότητας (BMD) και αυξημένο κίνδυνο κατάγματος. Αν και η κληρονομικότητα της οστικής πυκνότητας είναι δεδομένη, μελέτες έδειξαν ότι υπάρχει συσχέτιση με μικρό αριθμό γονιδίων. Στη παρούσα εργασία μελετήθηκαν τα υποψήφια ως υπεύθυνα για οστεοπόρωση γονίδια Cerberus-1 (Cer1) και Dickkopf-1 (DKK1), που παίζουν σημαντικό ρόλο στην οστική αναδόμηση. Συγκεκριμένα, το Cer1 δρα ως ανταγωνιστής των οστεομορφογενετικών πρωτεϊνών (BMPs) και πιθανά προσδένεται απευθείας σε αυτές αναστέλλοντας τη δράση τους. Το DKK1 εμπλέκεται στο σηματοδοτικό μονοπάτι Wnt/beta-catenin, που είναι βασικό στην ανάπτυξη και ομοίωση των οστών, αναστέλλοντας τη σηματοδότησή του συγκεκριμένου μονοπατιού. Το υλικό της μελέτης μας αποτελείται από 30 οστεοπορωτικές γυναίκες και 20 φυσιολογικά άτομα (ομάδα ελέγχου). Απομόνωθηκε DNA (QIAamp DNA mini kit, QIAGEN) και στη συνέχεια ακολούθησε ενίσχυση με PCR των γονιδίων Cer1 και DKK1 με κατάλληλους εκκινητές έτσι ώστε να μελετηθεί ολόκληρη η DNA αλληλουχία τους. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης της αλληλουχίας (Sequencing) των γονιδίων ανέδειξαν την παρουσία πολυμορφισμών μιας θέσης (SNPs) και στα δύο γονίδια. Συγκεκριμένα, για το γονίδιο Cer1 στους οστεοπορωτικούς ασθενείς ανιχνεύθηκαν τα SNPs: C>G νουκλ. 239 (48%), G>T νουκλ. 1059 (58%), G>C νουκλ.1566 (65%), T>G νουκλ.2091 (50%), A>G νουκλ. 2141 (55%) και τέλος A>G νουκλ. 2356 (35%). Αντίστοιχα, στην ομάδα ελέγχου ανιχνεύθηκαν τα ακόλουθα SNPs: C>G νουκλ. 239 (14,3%), G>T νουκλ. 1059 (18,2%), G>C νουκλ. 1566 (0%), T>G νουκλ. 2091 (16,6%), A>G νουκλ. 2141 (16,6%) και τέλος A>G νουκλ. 2356 (16,6%). Επιπλέον τα αποτελέσματα για το DKK1, στους οστεοπορωτικούς ασθενείς, είναι: T>C νουκλ. 1088 (61%), T>C νουκλ. 1200 (30,7%) και T>C νουκλ. 2173 (66,6%) ενώ, για την ομάδα ελέγχου T>C νουκλ. 1088 (41,6%), T>C νουκλ. 1200 (41,6%) και T>C νουκλ. 2173 (36,3%). Τα παραπάνω αποτελέσματα υποδεικνύουν θετική συσχέτιση των SNPs G>T νουκλ. 1059 και A>G νουκλ. 2141 του γονιδίου Cer1 και των SNPs T>C νουκλ.2173 (36,6%) του γονιδίου DKK1 με την οστεοπόρωση.



## **SNPs ANALYSIS IN Cer1 AND DKK1 GENES IN OSTEOPOROTIC WOMEN**

*Vasilopoulou M., Theodora Koromila Th., Louka M., Pavlou M.-A., Vasileiou S.,  
Aleporou-Marinou V., Kollia P.*

*Department of Genetics and Biotechnology, Faculty of Biology, National & Kapodistrian  
University of Athens, Panepistimiopolis 157 81 Athens Greece*

Osteoporosis is a common disease with a strong genetic component characterized by reduced bone mass (BMD) and an increased risk of fragility fractures. Although the high heritability of BMD has long been established, few genes have been conclusively shown to affect its variation. For this study we have analyzed the novel candidate genes Cerberus-1 (Cer1) and Dickkopf-1 (DKK1), which play a significant role in bone remodelling. Specifically, Cer1 is a BMP antagonist which binds to and inhibits their activity. DKK1 is involved in the Wnt/beta-catenin signalling, a very important pathway for bone development and homeostasis, by binding to and inhibiting the signal transduction. In the present study, we examined peripheral blood from 30 osteoporotic-postmenopausal women and 20 control samples from the University Hospital of Larissa in the Greek population. DNA was isolated using QIAamp DNA mini kit (QIAGEN), and amplified using Polymerase Chain Reaction (PCR) technique with specific upstream and downstream primers that covered the whole sequence of both genes. According to the Sequencing analysis we found candidate osteoporotic SNPs for both Cer1 and DKK1. As far as Cer1 gene is concerned, C>G nucleotide 239 (48%), G>T nucl. 1059 (58%), G>C nucl. 1566 (65%), T>G nucl. 2091 (50%), A>G nucl. 2141 (55%) and A>G nucl. 2356 (35%) at the 5'UTR were found. On the other hand, the control's group SNPs were C>G nucl. 239 (14,3%), G>T nucl. 1059 (18,2%), G>C nucl. 1566 (0%), T>G nucl. 2091 (16,6%), A>G nucl. 2141 (16,6%) and A>G nucl. 2356 (16,6%). Moreover the results for DKK1 5'UTR were: T>C nucl. 1088 (61%)T>C nucl. 1200 (30,7%) and T>C nucl. 2173 (66,6%). In comparison to the control samples reported T>C nucl. 1088 (41,6%), T>C nucl. 1200 (41,6%) and T>C nucl. 2173 (36,3%). In summary, our analysis suggests that SNPs G>T nucl. 1059 and A>G νουκλ. 2141 for Cer1 gene and SNP T>C noucl. 2173 (36,6%) for DKK1gene could be associated to osteoporosis. Further research is necessary to certify the potential correlation between novel polymorphisms and osteoporosis.

**ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ Τ-ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕ ΜΗC  
ΤΑΞΗΣ Ι ΚΑΙ ΙΙ - ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΑ ΑΝΑΛΟΓΑ ΠΕΠΤΙΔΙΑ ΤΗΣ  
ΠΡΟΘΥΜΟΣΙΝΗΣ α**

**Βγενοπούλου Π.<sup>1</sup>, Ιωάννου Κ.<sup>1</sup>, Σαμαρά Π.<sup>1</sup>, Τσιατάς Μ.<sup>2</sup>, Μπάμιας Α.<sup>2</sup>,  
Τσιτσιλώνη Ο.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ,

<sup>2</sup>Θεραπευτική Κλινική, Νοσοκομείο «Αλεξάνδρα», Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Η προθυμοσίνη α (ProTα) είναι ένα πολυπεπτίδιο 109 αμινοξικών καταλοίπων με ευρεία κατανομή σε ιστούς θηλαστικών. Η λειτουργία της σχετίζεται με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την επαγωγή ανοσολογικών απαντήσεων. Έχει βρεθεί ότι οι ανοσορρυθμιστικές λειτουργίες της ασκούνται μέσω του καρβοξυτελικού της πεπτιδίου ProTα(100-109), που ενεργοποιεί καταρροϊκά υποδοχέων τύπου Toll κύτταρα της φυσικής ανοσίας (μονοκύτταρα, δενδριτικά). Η ProTα δεν ενεργοποιεί άμεσα τα Τ-κύτταρα, αφού στην αλληλουχία της δεν υπάρχει γνωστό μοτίβο πρόσδεσης στα ΜΗC μόρια. Στην παρούσα εργασία, χρησιμοποιήσαμε συνθετικά πεπτίδια, προερχόμενα από το ProTα(100-109) με αμινοξικές αντικαταστάσεις ώστε να εμπίπτουν στη συναινετική αλληλουχία πρόσδεσης για τα μόρια HLA-A2 και HLA-DRB1, με στόχο να επιτύχουμε άμεση ενεργοποίηση των Τ-κυττάρων. Μονοπύρηνια περιφερικού αίματος υγιών δοτών απομονώθηκαν σε κλίση FicolI-paque και καλλιιεργήθηκαν για 21 ημέρες με εβδομαδιαία ενεργοποίηση με τα πεπτίδια. Ο πολλαπλασιασμός των Τ-κυττάρων εκτιμήθηκε μέσω της ενσωμάτωσης <sup>3</sup>[H]TdR, ενώ η κυτταροτοξικότητα έναντι κυττάρων-στόχων T2 μέσω μέτρησης της έκφρασης του μορίου CD107 με FACS. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι η επαναλαμβανόμενη ενεργοποίηση των Τ-κυττάρων με τα πεπτίδια επάγει τον πολλαπλασιασμό τους και ότι το ποσοστό των CD3+CD107+ κυττάρων που επωάστηκαν με ένα από τα δύο πεπτίδια συνεργιστικά με IL-2 είναι διπλάσιο σε σχέση με αυτά που επωάστηκαν με το φυσικό πεπτίδιο ProTα(100-109). Συμπερασματικά, η ενεργοποίηση Τ-κυττάρων με τα πεπτίδια HLA-A2 και HLA-DRB1 επάγει *in vitro* κυτταροτοξικότητα και έκπτυξη, όταν αυτά έρθουν σε επαφή με κύτταρα-στόχους που εκθέτουν στην επιφάνειά τους το αντίστοιχο σύμπλεγμα ΜΗC-πεπτιδίου. Περαιτέρω έρευνα ίσως οδηγήσει μελλοντικά στην ένταξη των πεπτιδίων αυτών σε εξατομικευμένα πρωτόκολλα ανοσοθεραπείας του καρκίνου ή/και στη χρήση τους ως ανοσοενισχυτικά.

**T-LYMPHOCYTE ACTIVATION PROTOCOL WITH MHC CLASS I AND II -  
ASSOCIATED PROTHYMOSIN  $\alpha$  - DERIVED ANALOGOUS PEPTIDES**

**Vgenopoulou P.<sup>1</sup>, Ioannou K.<sup>1</sup>, Samara P.<sup>1</sup>, Tsiatas M.<sup>2</sup>, Bamias A.<sup>2</sup>, Tsitsilonis O.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens,

<sup>2</sup>Department of Clinical Therapeutics, «Alexandra» Hospital, School of Medicine,  
University of Athens

Prothymosin  $\alpha$  (ProT $\alpha$ ) is a polypeptide consisting of 109 amino acid residues, widely distributed within mammalian tissues. Regarding its biological function, ProT $\alpha$  is involved in cell proliferation and induction of immunological responses. Moreover, it has been reported that the immunologically active site of ProT $\alpha$  is localized at its carboxy-terminus, ProT $\alpha$ (100-109), which activates innate immunity cells (monocytes, dendritic cells) downstream Toll-like receptors. ProT $\alpha$  does not directly activate T-cells, as there is no known MHC-binding motif in its sequence. In the present study, we used synthetic peptides derived from ProT $\alpha$ (100-109) with amino acid substitutions in accordance with MHC anchor residue motifs for molecules HLA-A2 and HLA-DRB1, in order to achieve direct T-cell activation. Peripheral blood mononuclear cells derived from healthy donors were isolated over Ficoll gradient centrifugation, cultured for 21 days and stimulated with the peptides at weekly intervals. T-cell proliferation was estimated via <sup>3</sup>[H]TdR incorporation assay and cytotoxicity was determined against T2 targets via analyzing CD107 expression by FACS. Our results indicated that repetitive T-cell stimulation with HLA-A2 or HLA-DRB1 peptides induces proliferation and increases by two-fold the percentage of CD3+CD107+ cells incubated with either of the two peptides synergistically with IL-2, compared to the same cells incubated with the natural peptide ProT $\alpha$  (100-109). Taken altogether, T-cell stimulation with HLA-A2 or HLA-DRB1 peptides enhances *in vitro* cytotoxicity and expansion, when co-cultured with targets exposing the MHC-peptide complex on their surface. Further research may demonstrate that these findings are of clinical significance, suggesting the introduction of these peptides in personalized cancer immunotherapeutic protocols and/or as adjuvants.

**ΚΥΤΤΑΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΠΡΩΤΕΑΣΩΜΑΤΟΣ ΣΤΗ  
ΜΟΡΦΟΓΕΝΕΣΗ ΤΟΥ ΟΦΘΑΛΜΟΥ ΤΗΣ *Drosophila melanogaster***

**Βελέντζας Π.Δ.<sup>1</sup>, Βελέντζας Α.Δ.<sup>1</sup>, Μπάκου Β.Ε.<sup>1</sup>, Ζέρβας Χ.<sup>2</sup>,  
Παπασιδέρη Ι.Σ.<sup>1</sup>, Στραβοπόδης Δ.Ι.<sup>1</sup> και Λ.Χ. Μαργαρίτης<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και  
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 157 84, Αθήνα

<sup>2</sup>Εργαστήριο Γενετικής, Ίδρυμα ΙατροΒιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας  
Αθηνών, Σωρανού Εφεσίου 4, 11527, Αθήνα

Στα πλαίσια της μελέτης της συμμετοχής της λειτουργίας του πρωτεασώματος σε διακριτά αναπτυξιακά συστήματα του Δίπτερου εντόμου *Drosophila melanogaster*, αναλύθηκε ο μορφογενετικός ρόλος της δράσης επιλεγμένων υπομονάδων του πρωτεασώματος, καθώς και ορισμένων ρυθμιστικών συστατικών αυτού, στο φυσιολογικό σχηματισμό του σύνθετου οφθαλμού του εν λόγω εντόμου. Διαμέσου του συστήματος GAL4/UAS δημιουργήθηκαν διπλά διαγονιδιακά έντομα, ικανά να υπερεκφράζουν με ιστοειδικό τρόπο είτε πρωτεΐνες, είτε RNAi τμήματα της επιλογής μας, με τρόπο που στοχεύει στην καταλυτική παρέμβαση της πρωτεασωμικής λειτουργίας και συναφών μηχανισμών. Διαπιστώθηκε ότι στα διπλά διαγονιδιακά στελέχη με απενεργοποιημένες τις υπομονάδες α5, β2, β5 και β6 του 20S πρωτεασώματος, ο οφθαλμός χαρακτηρίζεται από έντονο φαινότυπο ανώμαλων ομματαδίων, ενώ η πλήρης απενεργοποίηση του πρωτεασώματος, μέσω της δράσης της πρωτεΐνης UBP-2, οδηγεί σε ολική απουσία ομματαδίων. Αντίθετα, η απενεργοποίηση των υπομονάδων Rpn1 και Rpn2 της ρυθμιστικής περιοχής 19S του πρωτεασώματος, καθώς και του UbcD6 ρυθμιστικού παράγοντα, παρουσιάζει ελαττωμένη επίδραση στη φυσιολογική ανάπτυξη του οφθαλμού. Τέλος, η απενεργοποίηση των ρυθμιστικών συστατικών του πρωτεασώματος UbcD1 και UbcD4 δεν φαίνεται να έχει επιπτώσεις στη μορφογένεση του οφθαλμού. Οι ανωτέρω πειραματικές προσεγγίσεις συσχετίζουν αναμφίβολα τη λειτουργική συμμετοχή του πρωτεασώματος στην φυσιολογική ανάπτυξη των ομματαδίων, και κατ' επέκταση του σύνθετου οφθαλμού, στο Δίπτερο έντομο *D. melanogaster*.

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 EYE  
MORPHOGENESIS IN *Drosophila melanogaster***

**Velentzas P.D.<sup>1</sup>, Velentzas A.D.<sup>1</sup>, Bakou V.E.<sup>1</sup>, Zervas C.<sup>2</sup>, Papassideri I.S.<sup>1</sup>,  
Stravopodis D.J.<sup>1</sup>, and L.H. Margaritis <sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens,  
Panepistimiopolis, 15784 Zografou, Athens, Greece

<sup>2</sup>Genetics Lab, Biomedical Research Foundation Academy of Athens, 4 Soranou Ephessiou,  
11527 Athens

In order to examine the proteasome function involvement in distinct developmental systems of the insect *Drosophila melanogaster* (Diptera), we analysed the morphogenetic role of distinct proteasome subunits, along with selected proteasome regulators, in the physiological developmental course of the compound eye. To this direction, double transgenic flies were generated through the GAL4/UAS system, bearing the capability of overexpressing selected proteins or RNAi moieties, thus targeting the proteasome activities. We reveal that transgenic flies with non-functional  $\alpha_5$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_5$  and  $\beta_6$  subunits of the 20S proteasome are characterized by severely abnormal eye phenotypes, while complete deactivation of the proteasome through overexpression of the ubiquitin-protease UBP-2 leads to a complete absence of ommatidia in the insect's eye. On the contrary, the deactivation of subunits Rpn1 and Rpn2 in the regulatory particle 19S of the 26S proteasome, as well as the deactivation of the UbcD6 regulatory factor, evince a reduced significance in the normal eye development. Moreover, transgenic insects with inactivated UbcD1 and UbcD4 proteasome regulatory components are characterised by normal eye morpho-genesis. All the above unambiguously indicate the extended role of proteasome activities in *D. melanogaster* normal eye development.

*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” – 3<sup>rd</sup> European Commission Reliance Framework.*

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΩΝ ΕΜΒΡΥΙΚΩΝ ΙΣΤΩΝ  
ΟΡΝΙΘΑΣ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΗΝ ΗΜΕΡΟΛΟΓΙΑΚΗ ΗΛΙΚΙΑ ΤΟΥΣ**

*Βερίλης Π., Σωτηρίου Σ.Χ., Αντωνακόπουλος Γ.Ν.*

*Τμήμα Εμβρυολογίας- Ιατρική Σχολή Λάρισας, Τομέας Μορφολογίας  
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.*

**ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ:** Η μελέτη της ανάπτυξης επί μέρους δομών εμβρύων όρνιθας σε σχέση με συγκεκριμένες ημέρες της ανάπτυξής τους.

**ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ:** Μικροσκοπική εξέταση του σχηματισμού συγκεκριμένων εμβρυϊκών δομών σε επωασθέντα έμβρυα όρνιθας, από την 2<sup>η</sup> έως και την 11<sup>η</sup> ημέρα της ανάπτυξής τους.

**ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ:** Έμβρυα όρνιθας επωαζόμενα σε κλίβανο κατά χρονικά διαστήματα από την 2<sup>η</sup> έως την 11<sup>η</sup> ημέρα επώασης αφαιρέθηκαν από το ωό και φωτογραφήθηκαν με τη βοήθεια οπτικού στερεοσκοπίου. Τα εν λόγω έμβρυα τεμαχίσθηκαν και προετοιμάσθηκαν για μελέτη με σαρωτικό ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Αρχικώς μονιμοποιήθηκαν σε υδατικό διάλυμα φορμόλης 4% και εν συνεχεία αφυδατώθηκαν με χρήση ανιούσης σειράς υδατικών διαλυμάτων αλκοόλης (από 50% έως και 100%). Περαιτέρω αφυδάτωση επιτεύχθηκε με χρήση ξηραντή κριτικού σημείου. Τέλος, τα δείγματα επιμεταλλώθηκαν με λεπτό στρώμα χρυσού.

**ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:** Κατεγράφησαν μέσω σαρωτικού ηλεκτρονικού μικροσκοπίου μονιμοποιημένα παρασκευάσματα τμημάτων εμβρύων όρνιθας. Παρουσιάζουμε τις φωτογραφίες-εικόνες των ακολούθων εμβρυϊκών δομών: Πνεύμονες- κατά την 6<sup>η</sup> ημέρα της ανάπτυξης. Μάτι- κατά την 10<sup>η</sup> ημέρα της ανάπτυξης. Εγκέφαλος - κατά την 11<sup>η</sup> ημέρα της ανάπτυξης. Στόμαχος- κατά την 11<sup>η</sup> ημέρα της ανάπτυξης. Τραχεία- κατά την 11<sup>η</sup> ημέρα της ανάπτυξης.

**ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ:** Η έρευνά μας είναι από τις λίγες που πραγματοποιούνται στον ελληνικό χώρο με σκοπό την απόκτηση εμπειρίας και εξοικείωσης με τις εμβρυϊκές δομές αλλά και την ιδιαίτερη μελέτη συγκεκριμένων ιστών με απώτερο στόχο τη κατανόηση της ανάπτυξης των εν λόγω ιστών σε σχέση με τις ημέρες της εμβρυϊκής ανάπτυξης. Είναι γνωστό ότι μέχρι και την 4<sup>η</sup> εβδομάδα της ανάπτυξης, η ανάπτυξη των εμβρύων των θηλαστικών αλλά και των πτηνών είναι παρόμοια, η δε συγκεκριμένη ομοιότητα αποβαίνει ιδιαίτερος χρήσιμη συν τις άλλους και στη διδασκαλία των φοιτητών της ιατρικής. Η ημετέρα εμπειρία από τη χρήση τους κατά τη διδασκαλία της εμβρυολογίας έδειξε ότι το εν λόγω υλικό συνέβαλε σημαντικά στην κατανόηση εκ μέρους των φοιτητών ιατρικής των αρχικών σταδίων της διαμορφώσεως του ανθρωπίνου εμβρύου.

## **A COMPARATIVE STUDY OF HEN EMBRYONIC TISSUES BASED ON THE GESTATIONAL AGE**

*Verilis P., Sotiriou S., Antonakopoulos G.*

*Department of Embryology-Larissa Medical School, University of Thessaly.*

**OBJECTIVE:** The comprehensive study of hen's specific tissues development in comparison with their gestational age.

**DESIGN:** Microscopic study of specific embryonic tissues formation of incubated hen embryos, from the 2<sup>nd</sup> to 11<sup>th</sup> day of development.

**MATERIALS AND METHODS:** Hen embryos were incubated in oven from the 2<sup>nd</sup> to the 11<sup>th</sup> day. Every specific day of incubation, embryos were subtracted from the egg and they were pictured with stereoscope. The specific embryos were cut to pieces and they were prepared for observation with the electronic microscope. Primarily they were stabilized in 4% formalin solution and afterwards they've been dehydrated with the use of alcoholic solutions ascent row (from 50% to 100%). Finally the specimens were metalized with a very thin gold layer.

**RESULTS:** With the use of electronic microscope specific prepared hen's embryonic tissues were imaged. We present the following images: Lungs- 6<sup>th</sup> developmental day. Eye-10<sup>th</sup> developmental day. Brain-11<sup>th</sup> developmental day. Stomach- 11<sup>th</sup> developmental day. Trachea- 11<sup>th</sup> developmental day.

**CONCLUSIONS:** Our study is one of the rare studies that they are held in the Greek region, with the purpose of experience acquisition and to become more familiar with the embryonic tissue development in comparison with the gestational age. It is well known that until the 4<sup>th</sup> week of embryonic development the mammalian and bird embryos are quite similar. This similarity is a great advantage for someone who wants to understand the embryo development and particular for medical students. Ours department experience has shown that this kind of material has a major contribution in the embryology lessons teaching and it is very helpful to facilitate the comprehensive embryology study from our medical students.

**ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΗ ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ, ΤΩΝ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΩΝ  
ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΤΗΣ ΒΛΑΣΤΗΣΗΣ ΠΟΥ ΚΑΛΥΠΤΕΙ ΤΙΣ ΑΠΟΘΕΣΕΙΣ  
ΤΩΝ ΟΡΥΧΕΙΩΝ ΛΙΓΝΙΤΗ ΚΑΙ ΤΟΥ ΑΣΒΕΣΤΟΛΙΘΟΥ ΣΤΗ ΠΤΟΛΕΜΑΪΔΑ**

*Βλαχοδήμος Κ. και Ι. Διαμαντόπουλος*

*Τομεας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο  
Θεσσαλονίκης, 541 24 Θεσσαλονίκη.  
E-mail: [kvlachod@bio.auth.gr](mailto:kvlachod@bio.auth.gr); [jdiamant@bio.auth.gr](mailto:jdiamant@bio.auth.gr)*

Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι μεταξύ της βλάστησης η οποία καλύπτει τις αποθέσεις των ορυχείων λιγνίτη και την παρακείμενη ασβεστολιθική περιοχή υπάρχουν πολύ λίγα κοινά είδη. Ο στόχος της παρούσας μελέτης είναι να εκτιμηθεί κάθε ομοιότητα (ή ανομοιότητα) μεταξύ των λειτουργικών χαρακτηριστικών της βλάστησης σε αυτούς τους δύο τομείς άσχετα με την σύνθεση των ειδών. Κατ' αυτόν τον τρόπο, κάθε διαφορά ανάμεσα στις παραμέτρους αλληλεπίδρασης μεταξύ ατμόσφαιρας και εδάφους ίσως μπορούσε να αποδοθεί σε ειδικά χαρακτηριστικά της βλάστησης (π.χ δείκτη φυλικής επιφάνειας) και δεύτερον τα διορθωτικά μέτρα θα μπορούσαν να έχουν ορισμένη κατεύθυνση ώστε να διευκολύνεται η βελτίωση του περιβάλλοντος στην περιοχή. Καθώς τα ορυχεία λειτουργούν ήδη εδώ και 50 χρόνια και υπάρχουν αποθέσεις διαφόρων ηλικιών αλλά και έχουν γίνει και έργα αποκατάστασης, στην περιοχή των απόθεσεων έχουν επιλεγεί τέσσερις θέσεις μελέτης. Οι παράμετροι του εδάφους που επιλέχθηκαν για την παρούσα φάση είναι: η μηχανική σύσταση, το PH, η οργανική ουσία, η υδραυλική αγωγιμότητα και η ικανότητα κατακράτησης νερού. Οι παράμετροι βλάστησης είναι: η βιομάζα πάνω και κάτω από το έδαφος, η φαινολογία, η κατανομή του μεγέθους του σχήματος και του δείκτη επιφάνειας των φύλλων, ο αριθμός των ειδών ανά τετραγωνικό μέτρο, η ποικιλότητα και ο αριθμός των σπερμάτων.



**A PRELIMINARY COMPARATIVE STUDY OF FUNCTIONAL TRAITS IN  
THE VEGETATION COVERING LIGNITE MINE DEPOSITS AND  
LIMESTONE IN PTOLEMAIDA**

*Vlachodimos K., and J. Diamantopoulos*

*Department of Ecology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki  
541 24 Thessaloniki, E-mail: [kvlachod@bio.auth.gr](mailto:kvlachod@bio.auth.gr); [jdiamant@bio.auth.gr](mailto:jdiamant@bio.auth.gr)*

Previous studies have shown that vegetation covering lignite mine deposits and adjacent limestone area has very few common species (1-3). The present study aims to assess any similarity (or dissimilarity) between functional traits of the vegetation over those two areas irrespectively of the species composition. In this way, any differences between soil – atmosphere interactions in the studied areas could be attributed to specific vegetation characteristics (i.e. leaf area index) and secondly corrective measures could be applied in specific directions to facilitate the amelioration of the environmental quality in the area. Since mines are working already for almost 50 years and plantations have taken place four different sites of different age have been selected to be studied. Soil parameters under search are: Mechanical composition, pH, organic matter, hydraulic conductivity, water retention capacity. Vegetation parameters. Above ground and below ground biomass, phenology, distribution of leaf size, shape and leaf area index, species number and diversity per sq meter, and number of seeds.

**ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΥΨΗΛΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΩΝ ΕΝΕΡΓΩΝ  
ΜΟΡΦΩΝ ΟΞΥΓΟΝΟΥ (ROS) ΚΑΙ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ  
ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ ΣΕ ΠΡΟΓΟΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ  
ΜΥΕΛΟΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ (ΜΔΣ)**

*Βουκελάτου Γ., Θανοπούλου Ε., Ντάλλας Κ., Φερτάκης Β., Δημοπούλου Α.,  
Λαμπροπούλου Π., Κουράκλη-Συμεωνίδη Α., Συμεωνίδης Α., Ζούμπος Ν.*

*Τομέας Αιματολογίας, Ιατρική σχολή, Πανεπιστήμιο Πατρών*

Τα ΜΔΣ αποτελούν μια ετερογενή ομάδα αιματολογικών κλωνικών διαταραχών των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων με κύριο χαρακτηριστικό τη μη αποδοτική αιμοποίηση και τη συχνή ανάπτυξη οξείας μυελογενούς λευχαιμίας (ΟΜΛ). Έχει προταθεί η σχέση μεταξύ των ΜΔΣ και των παραγόμενων ελεύθερων ριζών οξυγόνου και άλλων δραστικών μορφών στο μυελό των οστών. Παρόλα αυτά, ο ρόλος του οξειδωτικού stress στη νόσο δεν έχει πλήρως αποσαφηνισθεί. Στη παρούσα εργασία, εκτιμήσαμε τα επίπεδα των προϊόντων οξείδωσης, καθώς και την αντιοξειδωτική άμυνα των αιμοποιητικών κυττάρων από ασθενείς με ΜΔΣ. Αρχικά, ποσοτικοποιήσαμε την έκφραση δύο αντι-οξειδωτικών ενζύμων, της καταλάσης και της δεσμουτάσης της ρίζας σουπεροξειδίου (MnSOD), με Western blotting. Για να προσδιορίσουμε το οξειδωτικό προφίλ των κυττάρων, ανιχνεύσαμε τα επίπεδα των ενδοκυττάρων ROS με κυτταρομετρία ροής, με τη βοήθεια ενός ευαίσθητου στη παρουσία ROS ανιχνευτή φθορισμού, του 2/, 7/-dichlorodihydro-fluorescein diacetate (H2DCFDA), καθώς και τις τροποποιημένες πρωτεΐνες με ανοσοανίχνευση των καρβονυλομάδων που εισάγονται σ' αυτές μέσω οξειδωτικών αντιδράσεων (OxyBlot). Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σε ανοσομαγνητικά απομονωμένα CD34+ προγονικά κύτταρα από ασθενείς με ΜΔΣ, οι οποίοι κατηγοριοποιήθηκαν σε ασθενείς χαμηλού και υψηλού κινδύνου. Η σύγκριση έγινε με αντίστοιχους κυτταρικούς πληθυσμούς υγιών δωτών. Στα ΜΔΣ δείγματα τα επίπεδα των ενζύμων ήταν μετρίως μειωμένα στα CD34+ κύτταρα και των δύο υποομάδων, με εξαίρεση την έκφραση της MnSOD στους ασθενείς χαμηλού κινδύνου που ήταν παρόμοια με αυτή των φυσιολογικών CD34+ κυττάρων. Επίσης, στα CD34+ κύτταρα μυελού και των δύο υποομάδων ανιχνεύθηκε αυξημένη παραγωγή ROS, καθώς και υψηλότερα ποσά οξειδωτικά τροποποιημένων πρωτεϊνών. Συμπερασματικά, το προοδευτικά αυξανόμενο οξειδωτικό stress και η συνακόλουθη ανεπαρκής αντιοξειδωτική άμυνα των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων του μυελού των ασθενών με ΜΔΣ, θα μπορούσε να συσχετισθεί με την επέκταση του κλώνου και την εξέλιξη της νόσου. Οι παρατηρούμενες ανισορροπίες στην ενεργότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων πολύ πιθανόν να οδηγούν στη γένεση οξειδωτικού stress και απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση.

**PROGENITOR CELLS FROM PATIENTS WITH MYELODYSPLASTIC  
SYNDROMS (MDS) ARE CHARACTERIZED BY HIGHER LEVELS OF  
INTRACELLULAR REACTIVE OXYGEN SPECIES (ROS) AND  
INADEQUATE ANTIOXIDANT DEFENCES**

*Voukelatou G., Thanopoulou E., Dallas K., Fertakis V., Dimopoulou A.,  
Lampropoulou P., Kouraklis-Symeonidis A., Symeonidis A., Zoumbos N.*

*Hematology Division, Patras University Medical School, Greece*

MDS is a heterogeneous group of clonal stem cell disorders characterized by ineffective hematopoiesis and frequent evolution to acute myelogenous leukemia (AML). A relationship between MDS and oxygen free radicals and other reactive species has been suggested. However, a model for the role of oxidative stress in the pathogenesis MDS has not been documented. In the present study, we assessed the oxidative burst and the antioxidant defenses of hematopoietic cells from patients with MDS. Firstly, we quantified the expression of two antioxidant enzymes, catalase and manganese superoxide dismutase (MnSOD), by Western blotting. To determine the oxidative status, we assessed the intracellular ROS by flow cytometry using the oxidation-sensitive fluorescent probe 2', 7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (H2DCFDA) and the modified proteins by immunoblot detection of carbonyl groups introduced into them by oxidative reactions (OxyBlot). All analyses were performed in immunomagnetically isolated marrow CD34+ progenitor cells from both low- and high-risk MDS patients. CD34+ cells from healthy individuals were also studied as normal controls. In MDS samples the enzymes were moderately decreased in CD34+ cells from the two subgroups, except the expression of MnSOD in low-risk patients which was similar to the normal CD34+ cells. Moreover, increased intracellular ROS production was detected in the CD34+ cells from both low- and high-risk MDS patients. CD34+ cells from MDS patients also contained higher amount of proteins modified by ROS. In conclusion, the ongoing oxidative stress with the subsequent inadequate antioxidant defenses of the hematopoietic cells in the marrow of MDS patients could be directly related to the disease progression and clonal evolution. The observed imbalances in the activity of the antioxidant enzymes could also lead to the generation of oxidative stress and needs further investigation.

**IN VIVO ΥΠΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΕΝΖΥΜΩΝ ΤΟΥ ΚΑΤΑ-  
ΒΟΛΙΣΜΟΥ ΠΟΥΡΙΝΩΝ ΣΕ ΠΡΟΤΥΠΟ ΕΥΚΑΡΥΩΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ**

Γαληνού Μ.-Ε., Μπορμπόλης Φ., Γουρνάς Χ. και Γ. Διαλλινάς

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθήνας, Ελλάδα, E-mail: [diallina@biol.uoa.gr](mailto:diallina@biol.uoa.gr)

Η τοπολογία των ενζύμων καταβολισμού πουρινών σε διάφορους οργανισμούς δεν είναι επαρκώς μελετημένη. Στα φυτά ο καταβολισμός πουρινών πραγματοποιείται στους χλωροπλάστες, ενώ κάποια ζωικά ένζυμα του καταβολισμού πουρινών φαίνεται να εντοπίζονται στα υπεροξυσώματα. Το μονοπάτι καταβολισμού πουρινών έχει μελετηθεί εκτενώς σε επίπεδο μεταγραφικής ρύθμισης στο πρότυπο ευκαρυωτικό σύστημα του *Aspergillus nidulans*, ενώ είναι δυνατή η λεπτομερής φαινοτυπική παρατήρηση διαταραχών κάθε μεταβολικού βήματος. Παρόλη την υπάρχουσα γνώση ελάχιστα είναι γνωστά για την τοπολογία των ενζύμων που συμμετέχουν. Στην εργασία αυτή παρουσιάζονται δεδομένα για τον υποκυτταρικό εντοπισμό της αφυδρογονάσης της ξανθίνης (HxA) και της ουρικάσης (UaZ), χρησιμοποιώντας πλήρως λειτουργικές ανασυνδυασμένες μορφές των πρωτεϊνών αυτών, συντηγμένων με την GFP. Μετρήσεις της ενεργότητας των ενζύμων και μικροσκοπική παρατήρηση του υποκυτταρικού τους εντοπισμού έδειξαν πως και τα δύο ένζυμα έχουν χαμηλή έκφραση στο βλαστητικά αυξανόμενο μηκύλιο και σε αγενείς δομές του μύκητα (πρωτογενή και δευτερογενή σπυρίγματα, κονιδιοσπόρια). Η τοπολογία της GFP-HxA είναι κυτταροπλασματική, επιβεβαιώνοντας την έλλειψη εμφανών υπεροξυσωματικών σηματοδοτικών αλληλουχιών. Αντίθετα η GFP-UaZ, η οποία διαθέτει καρβοξυτελική PTS1 σηματοδοτική αλληλουχία, εντοπίζεται σε κοκκιώδη σωματίδια τα οποία πιθανώς αντιστοιχούν σε υπεροξυσώματα. Η τοπολογία αυτή δεν αλλάζει από την παροχή ή μη πουρινών εξωγενώς. Ο σημαντικός ρόλος των υπεροξυσωμάτων του μύκητα στον καταβολισμό πουρινών φαίνεται και από την προβληματική χρήση πουρινών από στελέχη που έχουν ελαττωματική βιογένεση του οργανιδίου. Αυτή η δουλειά αφήνει ανοικτά ερωτήματα σχετικά με το πώς ένζυμα που βρίσκονται σε διαφορετικά υποκυτταρικά διαμερίσματα συνεργάζονται για να καταβολίσουν τις πουρίνες, όπως και για το ρόλο αυτού του μεταβολικού μονοπατιού στην μυκητιακή αναπαραγωγή.

**IN VIVO SUBCELLULAR LOCALIZATION OF PURINE CATABOLIC  
ENZYMES IN A MODEL EUKARYOTE**

*Galinou M.-E., Borbolis F., Gournas Chr., and G. Diallinas*

*Faculty of Biology, University of Athens, Greece, E-mail: [diallina@biol.uoa.gr](mailto:diallina@biol.uoa.gr)*

The topology of the purine catabolic enzymes is not well studied. In plants, purine catabolism occurs in chloroplasts, while some animal enzymes have been shown to be peroxisomal. The purine catabolism pathway is extensively studied, in respect to transcriptional regulation, in the model eukaryotic system of *Aspergillus nidulans*, where fine metabolic differences are reflected in observable phenotypes. Despite this wealth of knowledge, very little is known on the topology of the respective enzymes. In this work, we present evidence for the subcellular localization of xanthine dehydrogenase (HxA) and uricase (UaZ), using fully functional recombinant proteins, fused with GFP. Enzyme assays and microscopic analysis showed that both enzymes are expressed at low levels in vegetative mycelium and asexual structures (metulae, phalidia, conidiospores). The topology of GFP-HxA is cytoplasmic, confirming the lack of obvious peroxisomal targeting sequences. In contrast, GFP-UaZ, which contains a PTS1 carboxy-terminal sequence, is located in peroxisome-like punctuate granules. This topology is not altered in the presence or absence of external purines or in a normally expressed loss of function UaZ mutant. The important role of fungal peroxisomes in purine catabolism is also reflected by the inefficient purine usage of strains with defective peroxisomal biogenesis. This work opens a debate on how enzymes located at different subcellular compartments communicate to catalyze purine catabolism and what is the role of this metabolic pathway to fungal reproduction.

**ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΤΩΝ ΚΥΠΡΙΝΟΕΙΔΩΝ *ALBURNUS*  
*MACEDONICUS* ΚΑΙ *CARASSIUS GIBELIO* ΣΤΗ ΛΙΜΝΗ ΔΟΪΡΑΝΗ**

Γεωργίου Δ., Μπόμπορη Δ., Αντωνοπούλου Ε., Στεργίου Κ.

Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., 541 24, Θεσσαλονίκη  
E-mail: [bobori@bio.auth.gr](mailto:bobori@bio.auth.gr)

Στην παρούσα εργασία, παρουσιάζονται στοιχεία της αναπαραγωγικής βιολογίας για δύο είδη κυπρινοειδών, τα *Alburnus macedonicus* Karaman, 1928 (σίγκο Δοϊράνης) και *Carassius gibelio* (Bloch, 1782) (πεταλούδα). Την περίοδο άνοιξη 2006 – χειμώνας 2007, πραγματοποιήθηκαν εποχικές δειγματοληψίες στη λίμνη Δοϊράνη με δίχτυα απλάδια (άνοιγμα ματιού από 14-90 mm από κόμπο σε κόμπο). Καταγράφηκαν το ολικό μήκος (TL, mm), το ολικό βάρος (TW, g) των ατόμων και το βάρος των γονάδων (GW, g) και υπολογίστηκαν η απόλυτη (AF) και η σχετική (RF) γονιμότητα, καθώς και η διάμετρος των αβγών (σε  $\mu\text{m}$ ). Επίσης εκτιμήθηκε ο γοναδοσωματικός δείκτης (GSI) και η περίοδος αναπαραγωγής των εξεταζόμενων ειδών. Στα θηλυκά άτομα *A. macedonicus* (TL=127,3 $\pm$ 1,2 mm, TW=15,7 $\pm$ 0,45 g, n=94,) η μέση τιμή GSI ήταν 7,41 $\pm$ 0,36 (0,58-15,79), της AF 6615,4 $\pm$ 1097 (2127-15221, n=36) και της RF 582 $\pm$ 94,4 (208,4-1463,5, n=36). Η μέση διάμετρος των αβγών βρέθηκε ίση με 677,7 $\pm$ 48,2  $\mu\text{m}$  (433,3-933,3  $\mu\text{m}$ ). Η αναπαραγωγική περίοδος του είδους στη λίμνη Δοϊράνη φαίνεται ότι εκτείνεται από την άνοιξη ως και το καλοκαίρι. Αντίστοιχα, για τα θηλυκά άτομα *C. gibelio* (TL=200,4 $\pm$ 0,51 mm, TW=159,2 $\pm$ 10,81 g, n=92) ο GSI υπολογίστηκε σε 7,7 $\pm$ 0,49 (0,66-18,65), η AF σε 21.097 $\pm$ 2.194,7 (3.800- 35.600, n=42), ενώ η RF βρέθηκε ίση με 281 $\pm$ 53,1 (77,46-710,3). Η διάμετρος των αβγών κυμάνθηκε από 499,9-1.133,3  $\mu\text{m}$  (778,5 $\pm$ 57  $\mu\text{m}$ ). Η αναπαραγωγή της πεταλούδας στη λίμνη Δοϊράνη πραγματοποιείται την άνοιξη.

**ASPECTS OF THE REPRODUCTIVE BIOLOGY OF THE CYPRINID SPECIES  
*ALBURNUS MACEDONICUS* AND *CARASSIUS GIBELIO* IN LAKE DOIRAN**

*Georgiou D., Bobori D., Antonopoulou E., Stergiou K.*

*Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 541 24,  
Thessaloniki E-mail: [bobori@bio.auth.gr](mailto:bobori@bio.auth.gr)*

We present data on the reproductive biology of the Doiran bleak *Alburnus macedonicus* Karaman, 1928 and the prussian carp *Carassius gibelio* (Bloch, 1782) from lake Doiran. Sampling took place seasonally (spring 2006 – winter 2007) using gill-nets (14-90 mm knot to knot). Total length (TL, mm) and total weight (TW, g) of the individuals were recorded, and the absolute (AF) and relative (RF) fecundity, as well as the diameter of the eggs (in  $\mu\text{m}$ ) were estimated. The gonadosomatic index (GSI) and the spawning period of each species were also evaluated. Females of *A. macedonicus* (TL=127.3 $\pm$ 1.2 mm, TW=15.7 $\pm$ 0.45 g, n=94), had mean GSI equal to 7.41 $\pm$ 0.36 (range 0.58-15.79), while AF and RF values for 36 mature females were 6615.4 $\pm$ 1097 (2127-15221) and 582 $\pm$ 94.4 (208.4-463.5) respectively. Egg mean diameter was 677.7 $\pm$ 48.2  $\mu\text{m}$  (433.3-933.3  $\mu\text{m}$ ). The spawning period for the species extends from spring to early summer. Similarly, for *C. gibelio* females (TL=200.4 $\pm$ 0.51 mm, TW=159.2 $\pm$ 10.81 g, n=92), the mean ( $\pm$  SE) GSI was calculated as 7.7 $\pm$ 0.49 (0.66-18.65). The mean AF for 42 mature females was 21097 $\pm$ 2194.7 (3800-35600) and the mean ( $\pm$  SE) RF 281 $\pm$ 53.1 (77.46-710.3), while the egg diameter ranged from 499.9 to 1133.3  $\mu\text{m}$  (mean $\pm$ SE 778.5 $\pm$ 57  $\mu\text{m}$ ). According to our results the prussian carp in lake Doiran spawns in spring.

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ  
ΤΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟ ΤΗΣ ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗΣ ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΗΣ  
ΝΟΣΟΥ ALZHEIMER ΣΕ ΕΝΑ ΣΥΣΤΗΜΑ ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΩΝ ΠΟΝΤΙΚΩΝ**

*Γεωργόπουλος Σ.\**

*Εργαστήριο Κυτταρικής Νευροβιολογίας, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών,  
Ακαδημία Αθηνών, Αθήνα, Ελλάδα*

Η νόσος Alzheimer είναι μία εκφυλιστική νόσος του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος που χαρακτηρίζεται από προοδευτική απώλεια των ανωτέρων νοητικών λειτουργιών, όπως της μνήμης, σκέψης, λόγου, κρίσης και συμπεριφοράς. Κύρια ιστοπαθολογικά ευρήματα της νόσου είναι η παρουσία αμυλοειδών πλακών και νευροϊνιδιακών δεματίων στον εγκέφαλο των ασθενών. Επιδημιολογικές και γενετικές μελέτες έχουν δείξει τον σημαντικό ρόλο της απολιποπρωτεΐνης E στη νόσο Alzheimer. Ασθενείς που αναπτύσσουν την νόσο έχουν αυξημένα ποσοστά παρουσίας του ε4 αλληλόμορφου της απολιποπρωτεΐνης E σε σχέση με το φυσιολογικό πληθυσμό. Το εύρημα αυτό καθιστά τη παρουσία του αλληλόμορφου ε4 ως τον σημαντικότερο παράγοντα κινδύνου ανάπτυξης της νόσου. Η απολιποπρωτεΐνη E παίζει κύριο ρόλο στη μεταφορά και το μεταβολισμό της χοληστερόλης. Ο σημαντικός ρόλος της απολιπο-πρωτεΐνης E στην παθογένεια της νόσου Alzheimer έχει δειχθεί με τη χρήση διαγονιδιακών ποντικών οι οποίοι εκφράζουν ένα μεταλλαγμένο γονίδιο για την ανθρώπινη APP (amyloid precursor protein) και αναπτύσσουν αμυλοειδείς πλάκες παρόμοιες με αυτές που παρατηρούνται στους ασθενείς με τη νόσο. Επίσης με τη χρήση των διαγονιδιακών αυτών ποντικών έχει δειχθεί ο ρόλος και άλλων γονιδίων που εμπλέκονται στο μεταβολισμό της χοληστερόλης, στην παθογένεια της νόσου, όπως ο ABCA1 μεταφορέας καθώς και ο LRP υποδοχέας. Ο SR-BI υποδοχέας είναι υπεύθυνος για την αντίστροφη μεταφορά της χοληστερόλης από τους ιστούς της περιφέρειας στο ήπαρ για αποικοδόμηση. Ο SR-BI υποδοχέας έχει επίσης ταυτοποιηθεί στην επιφάνεια αστροκυττάρων που περιβάλλουν αμυλοειδείς πλάκες σε εγκεφάλους ασθενών της νόσου Alzheimer. Στη μελέτη αυτή θα παρουσιαστούν νέα δεδομένα που καταδεικνύουν το ρόλο του SR-BI υποδοχέα καθώς και της περιφερικής απολιποπρωτεΐνης E στην ανάπτυξη της νόσου σε διαγονιδιακά ποντίκια που αναπτύσσουν παθολογία τύπου Alzheimer.

*(\*) Προσκεκλημένος ομιλητής*



**INVESTIGATING THE ROLE OF CHOLESTEROL RELATED GENES IN  
ALZHEIMER'S DISEASE PATHOGENESIS IN TRANSGENIC MICE**

*Georgopoulos S.\**

*Laboratory of Cellular Neurobiology, Biomedical Research Institute, Academy of Athens,  
Athens, Greece*

Alzheimer's disease is a degenerative disease of the central nervous system that affects the basic cognitive functions of the human brain. The major histopathological hallmarks of AD are the amyloid plaques and the neurofibrillary tangles. Genetic studies have revealed the important role of the APP (Amyloid Precursor Protein), the presenilins 1 and 2 and the apolipoprotein E (ApoE) genes in the pathogenesis of AD. Of the three major human ApoE allele ( $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$  and  $\epsilon 4$ ), the  $\epsilon 4$  has been implicated in the pathogenesis of Alzheimer's disease. Epidemiological studies have established that ApoE4 is a major risk factor for the common late-onset form of AD. ApoE plays an important role in the metabolism and homeostasis of lipoproteins and cholesterol. The significance of ApoE in amyloid deposition has been revealed in studies using Alzheimer transgenic mice that develop amyloid plaques and express the human apoE alleles or do not express the endogenous apoE gene. All these studies address the question of the role of apoE in the brain but do not examine the role of peripheral ApoE in AD pathology. Although much of the biology of peripheral ApoE in cholesterol metabolism is understood the role of peripheral ApoE in the pathogenesis of AD has not been evaluated. Genetic studies using AD transgenic mouse models have shown the important role of cholesterol related genes (LRP, ABCA1) in AD pathogenesis. Scavenger Receptor BI (SR-BI) mediates the HDL uptake by the liver in a process known as reverse cholesterol transport. SR-BI has also been identified on astrocytes surrounding amyloid plaques in the AD brain. In this study we will present new data supporting the role of the SR-BI receptor in AD pathogenesis as well as the role of peripheral apoE, in transgenic mice that develop an Alzheimer's disease like phenotype.

*(\*) Invited speaker*

**ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΑΚΥΚΛΩΣΗΣ ΤΗΣ ΙΝΤΕΓΚΡΙΝΗΣ  
ανβ3 ΣΕ ΠΡΩΤΟΓΕΝΕΙΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ  
ΜΑΣΤΟΥ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΥΝΘΕΤΙΚΟΥ ΠΕΠΤΙΔΙΟΥ RGD**

*Γεωργούλης Α.<sup>1</sup>, Χαβάκη Σ.<sup>1</sup>, Δρόσος Γ.<sup>2</sup>, Γούτας Ν.<sup>3</sup>, Μαρίνου Ι.<sup>1</sup>, Αλεπόρου-  
Μαρίνου Β.<sup>2</sup>, Κίττας Χρ.<sup>1</sup>, Κουλούκουσα Μ.<sup>1</sup>, Μαρίνος Ε.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Παν/μιο Αθηνών, Ιατρική Σχολή, Εργαστήριο Ιστολογίας και Εμβρυολογίας,

<sup>2</sup>Παν/μιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας,

<sup>3</sup>Παν/μιο Αθηνών, Ιατρική Σχολή, Εργαστήριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας

Οι ιντεγκρίνες είναι ετεροδιμερείς διαμεμβρανικές πρωτεΐνες της κυτταροπλασματικής μεμβράνης που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην κυτταρική κινητικότητα. Μια από αυτές είναι η ανβ3, η αυξημένη έκφραση της οποίας συσχετίζεται με την εμφάνιση κακοήθων όγκων στο μαστό και με αυξημένη μεταστατικότητα των καρκινικών κυττάρων στους λεμφαδένες. Οι τελευταίοι είναι πλούσιοι σε βιτρονεκτίνη, πρωτεΐνη της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας (ΕΘΟ) η οποία περιέχει τριπεπτίδια RGD (-Arg-Gly-Asp-) που αποτελούν θέση πρόσδεσης για την ανβ3. Πρόσφατα έχει προταθεί ότι η κινητικότητα και η μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων εξαρτάται άμεσα από ένα σύστημα ενδοκυττάρωσης και ανακύκλωσης της ιντεγκρίνης ανβ3 που διασφαλίζει τη συνεχή παροχή και συνάθροιση της στις νεοσχηματιζόμενες κυτταρικές προσεκβολές. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να διερευνηθεί με ανοσοϊστοχημικές μεθόδους ο μηχανισμός ανακύκλωσης της ανβ3 μετά την επίδραση RGD πεπτιδίων. Χρησιμοποιήθηκαν καρκινικά κύτταρα μαστού σε πρωτογενείς καλλιέργειες, τα οποία αφού αναπτύχθηκαν σε υπόστρωμα βιτρονεκτίνης, επώαστηκαν με το εξαπεπτίδιο GRGDSP. Στη συνέχεια έγινε εντόπιση της ανβ3 με ανοσοφθορισμό και με τη μέθοδο του κολλοειδούς χρυσού στο Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Διέλευσης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η προσθήκη RGDs προκαλεί τροποποίηση του προτύπου κατανομής της ανβ3 στην περιφέρεια του κυττάρου αλλά και εσωτερικά, στο κυστιδιακό σύστημα ανακύκλωσής της. Επιπλέον, παρατηρήθηκαν αλλαγές στην κατανομή και στον προσανατολισμό των εντατικών ινιδίων στην περιοχή των εστιακών επαφών. Συμπερασματικά, τα RGD πεπτίδια φαίνεται ότι επηρεάζουν ανασταλτικά την κινητικότητα των καρκινικών κυττάρων και μπορούν να αποτελέσουν βασικό πειραματικό εργαλείο για τη μελέτη του καρκίνου του μαστού.

**IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY OF INTEGRIN  $\alpha\beta3$  CYCLING ON  
BREAST CANCER PRIMARY CELL CULTURES AFTER THE EFFECT OF  
SYNTHETIC RGD PEPTIDES**

*Georgoulis A.<sup>1</sup>, Havaki S.<sup>1</sup>, Drosos Y.<sup>2</sup>, Goutas N.<sup>3</sup>, Marinou I.<sup>1</sup>, Aleporou-Marinou  
V.<sup>2</sup>, Kittas Chr.<sup>1</sup>, Kouloukoussa M.<sup>1</sup>, Marinos E.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Lab of Histology and Embryology, Medical School, University of Athens, Greece, <sup>2</sup>Dept. of  
Genetics and Biotechnology, School of Biology, University of Athens, Greece, <sup>3</sup>Lab of  
Forensic Medicine and Toxicology, Medical School, University of Athens, Greece*

Integrins are heterodimeric transmembrane receptors of the cytoplasmic membrane that play a central role in cell mobility. Among them, integrin  $\alpha\beta3$  is overexpressed in breast cancer correlating with an increased metastatic potential to lymph nodes. The latter are rich in vitronectin, an extracellular matrix component that contains RGD ( -Arg-Gly-Asp-) motifs, that specifically bind integrin  $\alpha\beta3$ . Recently, it has been suggested that cell mobility and metastasis of breast cancer cells is facilitated by an intracellular vesicle recycling circuit leading to cell membrane integrin recruitment and cell projection formation. The aim of the present study was to investigate in vitro by means of immunohistochemistry the recycling mechanism of  $\alpha\beta3$  in breast cancer cell primary cultures growing on vitronectin substrate, after incubation with RGDs. Immunofluorescence, as well as ultrastructural immunolocalization under the electron microscope were employed in order to study the integrin  $\alpha\beta3$  recycling system. The results showed that the addition of RGDs in the culture medium made breast cancer cells to suffer major alterations connected to stress fiber appearance and disorientation. Ultrastructural localization in the above cells by means of colloidal gold indicates an increased concentration of  $\alpha\beta3$  in recycling vesicles as compared to the untreated ones. In conclusion, in this work morphological and immunohistochemical evidence is produced suggesting that when breast cancer cells in vitro are treated with RGDs, their adhesion pattern on vitronectin substrate as well as the  $\alpha\beta3$  integrin recycling circuit are affected. Therefore, RGDs appear to be a useful experimental tool that could be used in the study of cancer cell mobility and adhesion.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΟΙΚΙΑΚΩΝ  
ΣΥΣΚΕΥΩΝ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΩΟΓΕΝΕΣΗ  
ΔΙΠΤΕΡΩΝ ΕΝΤΟΜΩΝ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *DROSOPHILA***

**Γιαννακοπούλου Ο., Μπάρκας Π.Γ., Μύαρη Α, Αλιμήσης Κ., Χαβδούλα Ε.,  
Μαργαρίτης Α.Χ.**

Εργαστήριο Βιοφυσικής ακτινοβολιών, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και  
Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιόπολις 15784, Αθήνα  
E-mail: [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)

Η ερευνητική μας ομάδα τα τελευταία χρόνια μελετά την επίδραση της μη-ιονίζουσας Η/Μ ακτινοβολίας στα πειραματόζωα *D. virilis*, *D. melanogaster*, και *Mus musculus*. Στην παρούσα διπλωματική εργασία χρησιμοποιήθηκαν ορισμένες οικιακές συσκευές, όπως η συσκευή παρακολούθησης βρεφών (baby monitor) και ο φούρνος μικροκυμάτων, προκειμένου να διαπιστωθεί κατά πόσο η εκπεμπόμενη ακτινοβολία επηρεάζει την αναπαραγωγική ικανότητα (αριθμός F1 θυγατρικών χρυσαλίδων) του εντόμου *D. melanogaster*. Επιπλέον, εξετάστηκε η επίδραση της ακτινοβολίας από συσκευή wi-fi router στη διαδικασία ωογένεσης αναισθητοποιημένων και μη εντόμων *D. virilis*. Τα μέχρι τώρα αποτελέσματα δείχνουν ότι μείωση των θυγατρικών χρυσαλίδων στις εκτεθειμένες ομάδες σε σύγκριση με τις ομάδες control τόσο στη διακοπτόμενη έκθεση 1h/day (10min on/10min off) των εντόμων στη συσκευή παρακολούθησης βρεφών (ένταση 4-5 V/m) όσο και η 6min. Μείωση παρατηρήθηκε και με το φούρνο μικροκυμάτων μετά από 10min ημερήσια έκθεση των εντόμων στην απόσταση των 15cm (ένταση ραδιοκυμάτων >6.5V/m και ένταση μαγνητικού πεδίου >100mG) για έξι 24ωρα συνολικά,. Στην περίπτωση του ασύρματου wi-fi router, έντασης 1-4V/m, μετά από 20min ημερήσια έκθεση εντόμων *D. virilis* για τέσσερα 24ωρα στην ακτινοβολία παρατηρήθηκαν μορφολογικές ανωμαλίες στις ωσθήκες, καθώς και αυξημένο ποσοστό κυτταρικού θανάτου στα κύτταρα ωσθυλακίων των εκτεθειμένων εντόμων ύστερα από χρώση με πορτοκαλί της ακριδίνης. Απαιτείται περαιτέρω επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων, τα οποία παρέχουν μία πρώτη ένδειξη της επικινδυνότητας των εν λόγω συσκευών γι'αυτό και κρίνεται απαραίτητη η τήρηση κατάλληλης «απόστασης ασφαλείας», ιδίως από μικρά παιδιά, κατά τη διάρκεια λειτουργίας τους.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς την Ερευνητική Ομάδα του Καθηγητή Α.Χ. Μαργαρίτη.

**INFLUENCE OF ELECTROMAGNETIC RADIATION OF HOUSEHOLD  
APPLIANCES ON *DROSOPHILA* REPRODUCTIVE CAPACITY AND  
OOGENESIS**

*Giannakopoulou O., Mparkas P.G. Miari A, Alimisis K., Chavdoula E.,  
Margaritis L.H.*

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

The influence of non-ionizing radiation emitted by various sources on the insects *Drosophila melanogaster*, *Drosophila virilis* and mice *Mus musculus* is intensively studied by our research group. In the present study we examined the effects of baby monitor and microwave oven radiation on the reproductive capacity of *Drosophila melanogaster* (number of F1 pupae). Furthermore we tested the possible effect of wi-fi router radiation on the process of *Drosophila virilis* oogenesis, using anaesthetized or non- anaesthetized insects. According to our preliminary results, the number of F1 pupae decreased in the exposed, compared to non-exposed groups following the intermittent 1 hr daily exposure (10 min on/10 min off) of the insects to the baby monitor radiation, (intensity 4-5 V/m). The same decrease has been observed from the microwave oven (intensities >6.5 V/m and >100mG) following a 6 min and 10 min daily exposure at the distance of 15 cm, during the first 6 days of the insects' adult lives. In the case of the wireless wi-fi router, following a 20 min daily exposure of anaesthetized and non- anaesthetized *Drosophila virilis* insects for 4 days, (intensity 1-4V / m), we found abnormalities in the ovaries as well as an increased percentage of induced cell death in the egg chambers' cells of the exposed groups. The above mentioned findings, providing evidence for the possible health risk of this kind of radiation, need to be further verified with more experiments. Hence, it is recommended that a safe distance should be kept especially by children when the above mentioned appliances are in use.

*This study was financed by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to the Research Group of Professor L.H. Margaritis.*

**ΦΥΛΟΓΕΝΕΣΗ ΣΤΟ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑ ΕΙΔΩΝ *CYCLOCEPHALA* sp. ΤΗΣ  
ΓΟΥΑΔΕΛΟΥΠΗΣ**

Γιαννούλης Θ., Σταμάτης Κ., Σαραφίδου Θ., Dutrillaux B., Μαμούρης Ζ.

Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πλούτωνος 26  
και Αιόλου, 41221 Λάρισα, E-mail: [themisgia@hotmail.com](mailto:themisgia@hotmail.com)

Το γένος των *Cyclocephala* περιλαμβάνει πέντε είδη κολεόπτρων (*C. immaculata*, *C. insulicola*, *C. melanocephala rubiginosa*, *C. t. tridentata* και *C. maffafa*), εκ των οποίων τα δύο είναι ενδημικά της Γουαδελούπης (*C. immaculata* και *C. insulicola*). Τα είδη *C. insulicola* και *C. t. tridentata* θεωρούνται πολύ συγγενικά και είναι πιθανώς γεωγραφικά απομονωμένα εντός του νησιού. Η προέλευση των περισσότερων από αυτά θεωρείται πως είναι ηπειρωτική, καθώς συναντώνται και σε περιοχές της Αμερικής. Οι φυλογενετικές σχέσεις μεταξύ των ειδών αυτών έχουν μελετηθεί με μορφολογικά και καρυστυπικά κριτήρια. Θεωρήθηκε ωστόσο απαραίτητη η χρήση μοριακών δεικτών για την περαιτέρω διερεύνηση των φυλογενετικών τους σχέσεων. Εδώ, εξετάστηκε τμήμα του μιτοχονδριακού γονιδίου της υπομονάδας I της κυτοχρωμικής οξειδάσης (COI) μήκους 526 bp, το οποίο θεωρείται ένας από τους καταλληλότερους φυλογενετικούς δείκτες, λόγω του διαειδικού πολυμορφισμού που παρουσιάζει. Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος PCR-SSCP, μέσω της οποίας προσδιορίστηκαν 11 διαφορετικά πρότυπα. Ακολούθησε αλληλούχιση για την εύρεση των νουκλεοτιδικών διαφορών. Συνολικά, εξετάστηκαν 57 άτομα *C. t. tridentata*, 8 άτομα *C. m. rubiginosa*, 2 άτομα *C. maffafa* και ένα άτομο *C. insulicola*. Προσδιορίστηκαν 11 αλληλόμορφα, εκ των οποίων τα έξι εμφανίζονται στα άτομα *C. t. tridentata*, τα τρία σε άτομα *C. m. rubiginosa* και από ένα στα *C. maffafa* και *C. insulicola*. Στο φυλογενετικό δέντρο που προέκυψε, παρατηρήθηκε διαχωρισμός μεταξύ των 4 ειδών. Ωστόσο, δύο άτομα του *C. t. tridentata* ομαδοποιήθηκαν με το *C. insulicola*, γεγονός που πιθανώς οφείλεται σε υβριδισμό των δύο ειδών. Για τη διερεύνηση της υπόθεσης αυτής, μελετώνται μοριακοί δείκτες του πυρηνικού DNA (ITS1 και 5,8S rDNA), οι οποίοι θεωρούνται καταλληλότεροι για τον έλεγχο των υβριδισμών.

**PHYLOGENY IN THE SPECIES CLUSTER OF CYCLOCEPHALA sp. IN  
GUADELOUPE**

*Giannoulis Th., Stamatis C., Sarafidou Th., Dutrillaux B., Mamuris Z.*

*Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, 26 Ploutonos str.,  
41221 Larissa, E-mail: [themisgia@hotmail.com](mailto:themisgia@hotmail.com)*

*Cyclocephala* genus is represented in Guadeloupe by five species of Coleoptera (*C. immaculata*, *C. insulicola*, *C. melanocephala rubiginosa*, *C. t. tridentata* and *C. maffafa*), two of which are endemic in Guadeloupe (*C. immaculata* and *C. insulicola*). *C. insulicola* and *C. t. tridentata* are considered to be very close and they are possibly vicariant. The origin of most of these species is supposed to be continental, as they are also found in America. As phylogenetic relations of these species have been studied using only morphological and caryotypical criteria till now, the use of molecular markers for further investigation was needed. In this project, we studied a part of 526bp of cytochrome oxidase subunit I (COI) mitochondrial gene, which is considered to be one of the most accurate markers for phylogeny due to its intraspecies polymorphism. For this purpose, we applied PCR-SSCP method in 57 specimens of *C. t. tridentata*, eight specimens of *C. m. rubiginosa*, two specimens of *C. maffafa* and one specimen of *C. insulicola*. After grouping identical SSCP patterns, we identified and sequenced 11 different alleles, six of them in specimens of *C. t. tridentata*, three in *C. m. rubiginosa* and one in *C. maffafa* and *C. insulicola*. The construction of the phylogenetic tree revealed a separation between the four species. However, two specimens of *C. t. tridentata* were grouped with the specimen of *C. insulicola*. This could be a result of a putative hybridization of the two species. For further investigation we are analyzing more molecular nuclear markers (ITS1 and 5,8S rDNA), which are considered to be more appropriate for the confirmation of hybridization hypothesis.

**ΑΠΟΤΙΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΠΛΗΣΙΟΝ ΚΕΡΑΙΩΝ ΒΑΣΗΣ ΚΙΝΗ-  
ΤΗΣ ΤΗΛΕΦΩΝΙΑΣ ΚΑΙ ΓΡΑΜΜΩΝ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΥΨΗΛΗΣ ΤΑΣΗΣ**

*Γιολάρη Ε., Αλιμήσης Κ., Γαβριήλ Α., Γεωργίου Γ., Γιαννακοπούλου Ο.,  
Κασιουλή Χ.Μ., Κατσούδη Γ.Μ., Κόλλια Ι., Λαμπροπούλου Α., Μεττής Α.,  
Μπάρκας Γ., Μύαρη Α., Ντζούνη Μ.Π., Ρουμελιώτη Φ., Τσιάκα Μ.,  
Φραγκοπούλου Α.Φ., Χαβδούλα Ε., Μαργαρίτης Α.Χ.*

*Εργαστήριο Βιοφυσικής Ακτινοβολιών, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου &  
Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη 157 84,  
Αθήνα. E-mail: [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)*

Μια νέα μορφή κινδύνου, η «ηλεκτρομαγνητική ρύπανση», έχει κάνει την εμφάνισή της τα τελευταία χρόνια προκαλώντας έντονα το επιστημονικό ενδιαφέρον. Τόσο το μαγνητικό πεδίο που παράγεται από πυλώνες υψηλής και υπερυψηλής τάσης, καθώς και από υποσταθμούς της ΔΕΗ, όσο και η Η/Μ ακτινοβολία που εκπέμπεται από σταθμούς βάσης κινητής τηλεφωνίας προκαλούν έντονη ανησυχία στους κατοίκους των γύρω περιοχών. Η Διεθνής Επιτροπή Προστασίας από τη Μη Ιονίζουσα Ακτινοβολία, (ICNIRP), σε συνεργασία με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, (WHO), και τη Διεθνή Επιτροπή Προστασίας από την Ακτινοβολία, IRPA, πρότειναν το 1998 όρια “αποδεκτής” έκθεσης του πληθυσμού στα Η/Μ πεδία (1G σε μαγνητικό πεδίο, 22 V/m). Πρέπει να τονιστεί ότι διαφορετικές χώρες έχουν θεσπίσει διαφορετικά “όρια ασφαλείας”. Επιδημιολογικές μελέτες με τιμές έντασης εντός των αποδεκτών ορίων, έχουν καταδείξει συσχέτιση καρκινογένεσης και εκφυλιστικών νόσων του νευρικού συστήματος σε άτομα που διαμένουν κοντά σε γραμμές μεταφοράς υψηλής τάσης, ενώ συμπτώματα όπως διαταραχή μνήμης, συγκέντρωσης, ύπνου, εξάντληση, πονοκέφαλοι κλπ. παρατηρούνται σε κατοίκους πλησίον σταθμών βάσης κινητής τηλεφωνίας. Με βάση τις μετρήσεις έντασης μαγνητικού πεδίου και Η/Μ ακτινοβολίας κεραιών σε κατοικίες και σχολικά συγκροτήματα από την ερευνητική μας ομάδα, σε συνδυασμό με τα πειραματικά μας δεδομένα και τις ανωτέρω επιδημιολογικές μελέτες, κρίνεται απαραίτητο η Πολιτεία να ορίσει εκ νέου χαμηλότερα όρια.

*Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς την Ερευνητική Ομάδα του Καθηγητή Α.Χ. Μαργαρίτη.*



**RISK ESTIMATION IN HABITANTS LIVING IN THE VICINITY OF MAST  
ANTENNAE AND POWER LINES**

*Giolari E., Alimisis K., Gabriel L., Georgiou G, Giannakopoulou O., Kashouli  
C.M., Katsoudi G.M., Kollia I., Labropoulou A, Mettis A., Mparkas P.G., Miari A.,  
Ntzouni M.P., Roumelioti F., Tsiaka M., Chavdoula E., Fragopoulou A.F.,  
Margaritis L.H.*

*Radiation Biophysics Lab, Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology,  
University of Athens, Panepistimiopolis 15784, Athens. E-mail: [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)*

«Electromagnetic pollution» that has emerged in the last years, provokes the interest of scientists. Both magnetic fields, produced by high voltage power lines, and electromagnetic radiation, emitted from mobile telephony antennae, are causing severe concerns from residents near them. The International Commission on Non Ionizing Radiation, (ICNIRP), in collaboration with the World Health Organization, (WHO), and the International Commission of Radiation Protection (IRPA), proposed, in 1998, "acceptable" exposure limits of electromagnetic fields (1G in magnetic fields, 22 V/m). Different countries have adopted different "safety limits". Epidemiological studies in regions nearby high voltage transmission lines and mobile phone antennae with exposure within 'acceptable' limits, have shown a relation between carcinogenesis and degenerative diseases of the nervous system and other symptoms such as loss of memory and concentration, sleep disturbances, exhaustion, headaches, etc. Our research team has carried out measurements concerning magnetic fields and electromagnetic radiation from antennae in inhabited areas and schools. With these measurements, and our experimental data and previous epidemiological studies, we consider it of substantial importance that the State revises the exposure limits.

*This study was financed by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to the Research Group of Professor L.H. Margaritis.*

**ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΕΝΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ ΜΑΡΚΑΡΙΣΜΑΤΟΣ ΜΕ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΕΣ ΑΡΧΕΙΑΚΕΣ ΜΑΡΚΕΣ***Γιουτλάκης Μ., Μεγαλοφώνου Π.**Τομέας Ζωολογίας-Θαλάσσιας βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 15784, Ελλάδα*

Τα τελευταία χρόνια την θέση των συμβατικών μαρκών άρχισαν να παίρνουν οι ηλεκτρονικές μάρκες που προσφέρουν μεγάλες δυνατότητες στην κατανόηση της βιολογίας των ειδών. Σημαντικά πειράματα έχουν πραγματοποιηθεί στον Ατλαντικό ωκεανό. Πρόκειται για ηλεκτρονικές συσκευές που μπορούν να τοποθετηθούν εσωτερικά των ψαριών και να καταγράφουν δεδομένα του περιβάλλοντος στο οποίο τα ψάρια κινούνται. Στα πλαίσια προετοιμασίας πειραμάτων μαρκαρίσματος μεγάλων πελαγικών ψαριών στην ανατολική Μεσόγειο με ηλεκτρονικές μάρκες προμηθευτήκαμε πέντε αρχειακές μάρκες "Mk9" από την εταιρία wildlife computers. Οι συγκεκριμένες μάρκες έχουν σχήμα περίπου κυλινδρικό με διαστάσεις 67mm × 17mm και βάρος 30g. Έχουν δυνατότητα καταγραφής θερμοκρασίας σώματος και περιβάλλοντος, βάθους, καθώς και δεδομένων έντασης φωτός. Από τα δεδομένα έντασης φωτός και τη χρήση κατάλληλου λογισμικού μπορούμε να παρακολουθήσουμε τις οριζόντιες κινήσεις του μαρκαρισμένου ψαριού. Η έρευνα με χρήση μαρκών αυτού του τύπου δεν είναι εκτεταμένη ενώ το κόστος των πειραμάτων είναι μεγάλο. Για την προετοιμασία του πειράματος ακολουθήθηκαν συγκεκριμένα στάδια. Προηγήθηκε η δοκιμή προγραμ-ματισμού και χειρισμού τους. Ακολούθησε πείραμα χειρουργικής εμφύτευσης ενεργοποιημένης μάρκας σε νεκρό ψάρι στο εργαστήριο. Για τη μελέτη των ποσοστών επανασύλληψης και θνησιμότητας, κατασκευάστηκαν ομοιώματα μαρκών από σιλικόνη και ρητίνη. Τέλος ανακτήθηκαν και μελετήθηκαν τα δεδομένα από το εργαστηριακό πείραμα. Ο προγραμματισμός για το επόμενο διάστημα είναι η πραγματοποίηση ενός ακόμα πειράματος με εκτρεφόμενα ψάρια σε κλωβούς υδατοκαλλιέργειών και στη συνέχεια το μαρκαρίσμα ελεύθερων ατόμων.

## **ARCHIVAL TAG EXPERIMENT PLANNING**

*Gioutlakis M., Megalofonou P.*

*Department of Zoology and Marine Biology, Faculty of biology, University of Athens,  
Panepistimioupolis, Athens 15784, Greece*

The last years, scientists tend to use archival tags instead of conventional because of their capabilities which help them understand better the biology of the species. Important experiments have taken place in the Atlantic Ocean. Archival tags are electronic devices that can be implanted in fish and collect data of the oceanographic environment experienced by them. Due to the planning of large pelagic fish tagging experiments we have bought five wildlife computers "Mk9" archival tags. They are cylindrically shaped, measuring 67mm in length, 17mm in diameter and 30 g in weight and capable of simultaneously sampling ambient and body temperature, depth and light levels. These data can provide detailed information on fish migratory paths. Archival tagging experiments' cost is high and this is a reason why such experiments are few. Certain steps were followed during the planning of the experiment. Initially we made sure that we are able to set up the tags and communicate with them very well. We continued with a tag surgical implantation experiment in the lab, using a dead fish. Last we downloaded the data of the previous lab experiment and learned how to analyze them. Also silicone and epoxy dummy tags have been constructed so that we can study the percentages of fish recapture and mortality. The next step before tagging wild fish in the open sea is another tagging experiment in aquaculture cages.

**ΤΟ IMATINIB MESYLATE ΑΝΑΣΤΕΛΛΕΙ ΤΟΝ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟ ΚΑΙ  
ΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΟΛΛΑΓΟΝΟΥ ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥΣ ΣΤΡΩΜΑΤΙΚΟΥΣ  
ΙΝΟΒΛΑΣΤΕΣ ΜΑΣΤΟΥ**

*Γκιώνη Β.<sup>1</sup>, Καραμπίνας Θ.<sup>1</sup>, Βουτσινάς Γ.<sup>2</sup>, Ρουσσίδης Α.Ε.<sup>3</sup>, Παπαδόπουλος Σ.<sup>4</sup>,  
Καραμάνος Ν.Κ.<sup>3</sup> και Δ. Κλέτσας<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Εργαστήριο Κυτταρικού Πολλαπλασιασμού & Γήρανσης, Ινστιτούτο Βιολογίας,  
ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», Αθήνα, <sup>2</sup>Εργαστήριο Περιβαλλοντικής Μεταλλαξιγένεσης  
& Καρκινογένεσης, Ινστιτούτο Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», Αθήνα,

<sup>3</sup>Εργαστήριο Βιοχημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα,

<sup>4</sup>Παθολογοανατομικό Εργαστήριο, Νοσοκομείο «Υγεία», Αθήνα

Το στρώμα που περιβάλλει τον όγκο παίζει σημαντικό ρόλο στην καρκινογένεση. Σε διάφορους όγκους, όπως σε αυτόν του μαστού, παρατηρείται δεσμοπλασία –που χαρακτηρίζεται από συσσώρευση ινοβλαστών και κολλαγόνου– που συνεργεί στην ογκογένεση. Παρόλα αυτά, η δράση γνωστών αντικαρκινικών ενώσεων επί στρωματικών κυττάρων δεν έχει μελετηθεί συστηματικά. Το Imatinib mesylate (STI571 ή Glivec) είναι ένας ειδικός αναστολέας τυροσινικών κινασών, συμπεριλαμβανομένου του υποδοχέα του PDGF, ο οποίος είναι σημαντικός ρυθμιστής της δεσμοπλασίας. Έχουμε ήδη δείξει ότι το Imatinib mesylate αναστέλλει τα ανθρώπινα επιθηλιακά καρκινικά κύτταρα μαστού [Roussidis AE, et al. *Anticancer Res.* 24 (2004):1445-7]. Εδώ, μελετήσαμε τη δράση του σε στρωματικούς ινοβλάστες από τον ίδιο ιστό. Δείξαμε ότι το Imatinib mesylate αναστέλλει την ενεργοποίηση των σηματοδοτικών μονοπατιών ERK και Akt και διεγείρει την έκφραση της p21<sup>WAF1</sup>, οδηγώντας σε αναστολή του πολλαπλασιασμού στη φάση G0/G1 του κυτταρικού κύκλου. Το Imatinib mesylate αναστέλλει τη δράση του PDGF στα κύτταρα αυτά, μέσω της αναστολής του μονοπατιού Akt. Επιπλέον, αναστέλλει τη συσσώρευση κολλαγόνου, ενώ RT-qPCR, καθώς και ενζυμογραφία ζελατίνης, έδειξαν ότι αυτό οφείλετε σε υπο-έκφραση του mRNA των κολλαγόνων I και III και όχι σε αύξηση της ενεργότητας κολλαγονασών όπως οι MMP-2 και MMP-9. Τα ανωτέρω δεδομένα υποδεικνύουν ότι το Imatinib mesylate έχει μία αντι-ινωσική δράση σε στρωματικούς ινοβλάστες μαστού, η οποία πιθανόν να παρεμποδίζει τη δεσμοπλασία και την καρκινογένεση. [Gioni V., et al. *Imatinib mesylate inhibits proliferation and exerts an antifibrotic effect in human breast stroma fibroblasts.* *Mol Cancer Res.* 6 (2008):706-14].

*Υποστηρίχθηκε εν μέρει από το ΚΕΣΥ*

**IMATINIB MESYLATE INHIBITS THE PROLIFERATION AND COLLAGEN  
SYNTHESIS IN HUMAN BREAST STROMAL FIBROBLASTS**

**Gioni V.<sup>1</sup>, Karabinas Th.<sup>1</sup>, Voutsinas G.<sup>2</sup>, Roussidis A.E.<sup>3</sup>, Papadopoulos S.<sup>4</sup>,  
Karamanos N.K.<sup>3</sup>, and D. Kletsas<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratory of Cell Proliferation & Ageing, Institute of Biology, NCSR "Demokritos", Athens, <sup>2</sup>Laboratory of Environmental Mutagenesis & Carcinogenesis, Institute of Biology, NCSR "Demokritos", Athens, <sup>3</sup>Department of Chemistry, Laboratory of Biochemistry, University of Patras, <sup>4</sup>Department of Pathology, "Hygeia" Hospital, Athens.

Tumor stroma plays an important role in cancer development. In a variety of tumors, such as breast carcinomas, a desmoplastic response –characterized by stromal fibroblast and collagen accumulation– is observed, that exhibits synergistic effects on tumor progression. However, the effect of known anticancer drugs on stromal cells has not been thoroughly investigated. Imatinib mesylate (STI571 or Gleevec) is a selective inhibitor of several protein tyrosine kinases, including PDGF receptor. Recently, we have shown that STI571 inhibits the growth and invasiveness of a panel of human epithelial breast cancer cells. Here, we studied the effect of STI571 on the proliferation and collagen accumulation in breast stromal fibroblasts. We have shown that STI571 strongly inhibits the proliferation of these cells, by arresting them at the G0/G1 phase of the cell cycle. This is due to its ability to block the activation of the ERK and Akt signaling pathways, as well as of the up-regulation of cyclin-dependent kinase inhibitor p21<sup>WAF1</sup>. On the other hand, STI571 inhibits more potently the PDGF-mediated stimulation of breast fibroblasts proliferation. By using specific inhibitors we have found that this is due to the activation of the Akt pathway. In addition, STI571 inhibits fibroblast-mediated collagen accumulation. Conventional and real-time PCR analysis, as well as collagen zymography indicates that this is due to down-regulation of mRNA synthesis of collagen I and III – the main collagen types in breast stroma – and not to the up-regulation or activation of collagenases MMP-2 and MMP-9. These data indicate that imatinib mesylate has an antifibrotic effect on human breast stromal fibroblasts that may inhibit desmoplastic reaction and thus tumor progression. [Gioni V., et al. Mol Cancer Res. 6 (2008):706-14].

*This work was partly supported by KESY*

**ΠΡΩΤΗ ΑΝΑΦΟΡΑ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *MELANOPSIS PRAEMORSA* (LINNÉ 1758),  
MOLLUSCA; GASTROPODA; SORBEOCONCHA, ΣΤΗΝ ΗΠΕΙΡΩΤΙΚΗ  
ΕΛΛΑΔΑ (Π. ΒΑΣΙΛΟΠΟΤΑΜΟΣ, ΛΑΚΩΝΙΑ, ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΣ)**

*Γκρίτζαλης Κ.Χ.*

*ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε., 46,7 χλμ Αθηνών-Σουνίου, 190 13 Ανάβυσσος*

Κατά την διάρκεια των διαφόρων Ερευνητικών Προγραμμάτων και ιδίως των Ευρωπαϊκών ("STAR" [www.eu-star.at], "AQEM" [www.aqem.de] και "Life Environment 2005" [www.envifriendly.tuc.gr]), ένας αριθμός σταθμών (ca 160) σε όλα σχεδόν ποτάμια της ηπειρωτικής και νησιωτικής χώρας μελετήθηκε όσον αφορά το βένθος. Μελετήθηκε επίσης η βιογεωγραφία ορισμένων ειδών και έγιναν συγκρίσεις κατανομής των στην Ελλάδα, αλλά και ως προς άλλες γειτονικές περιοχές. Το *Melanopsis praemorsa*, είναι ένα διάσπαρτο είδος ευρισκόμενο στην Ν. Ευρώπη, Κύπρο, Β. Αφρική, Μ. Ασία, Μ. Ανατολή, Ν. Ζηλανδία και Ν. Καληδονία. Κατά την εκπόνηση του Ε.Π. "STAR", αυτό ευρέθηκε μόνο στα ρέματα των νησιών Άνδρου, Ρόδου και Λέσβου. Το *M. praemorsa*, έχει ελλειψοειδές σχήμα με ένα κοντό μίσχο, ενώ η σπείρα του σώματος είναι μεγάλη και επιμήκης. Όσον αφορά τα χείλη, το εσωτερικό πυκνώνει και εμφανίζει ένα ομαλό βρεγματικό τύλο σε ένα μαλακό τμήμα πάνω από το βρεγματικό περίβλημα, ενώ το εξωτερικό είναι λεπτό. Έχουν βαθύ υπόφαιο χρώμα με πορτοκαλή ή ιώδη απόχρωση και μέγεθος λίγα mm. Στην ηπειρωτική Ελλάδα το είδος αυτό συλλέχθηκε για πρώτη φορά στον π. Βασιλοπόταμο νοτίως της λεκάνης απορροής του π. Ευρώτα. Αν και παλαιότερα (ca 70-80 χρόνια) τα δύο αυτά συστήματα ήσαν υδραυλικά ενωμένα, το είδος αυτό δεν ευρέθηκε στον π. Ευρώτα. Στις πηγές του π. Βασιλοπόταμου (Σκάλα), αυτό ευρέθηκε σε μεγάλη αφθονία, αλλά το πληθυσμιακό του μέγεθος έφθινε κατάντη αυτών, ενώ απουσίαζε τελείως στην εκβολική περιοχή. Τα ενδιαιτήματά του χαρακτηρίζονται από υδροβια-υδροχαρή βλάστηση, ήπια ροή, συγκεντρώσεις χαμηλού έως υψηλού οξυγόνου και διαύγεια νερών. Στα ρέματα των νησιών αλλά και στον Βασιλοπόταμο, που βρέθηκε το *M. praemorsa*, η ποιότητα των υδάτων βάσει των φυσικοχημικών παραμέτρων και των βιοτικών δεικτών ήταν από καλή έως άριστη. Φαίνεται δηλαδή, ότι το είδος αυτό προτιμά τα καθαρά νερά, ενώ η αφθονία και η κατανομή του σωματικού του μεγέθους εμφανίζει μεγάλη κατανομή, καθώς και εποχιακές διακυμάνσεις στην αφθονία του.

**FIRST RECORD OF THE SPECIES *MELANOPSIS PRAEMORSA* (LINNÉ 1758),  
MOLLUSCA; GASTROPODA; SORBEOCONCHA, IN THE GREEK  
MAINLAND (VASILOPOTAMOS R., LACONIA, PELOPONNESE, GREECE)**

*Gritzalis K.C.*

*H.C.M.R., 46.7 km Athens-Sounion Ave., 19013 Anavyssos, Greece*

During the execution of various Research Projects and especially the ones funded by the E.U. ("STAR", [www.eu-star.at], "AQEM", [www.aqem.de] και "Life Environment 2005" [www.envfriendly.tuc.gr]), a number of sampling sites (ca 160) spread over almost all rivers of the mainland and insular Greece were studied regarding the benthos. The biogeography of some species was also examined and comparisons were made of their distribution in Greece and in adjacent regions. *Melanopsis praemorsa* is a patchily distributed taxon mostly found in S. Europe, Cyprus, N. Africa, Asia Minor, M. East, N. Zealand and N. Caledonia. During the R.P. "STAR", this species was collected at the streams of the islands of Andros, Rhodes and Lesbos. *M. praemorsa* has an ovate shape characterized by a short spire, while the body whorl is large and elongated. Regarding the lips, the inner one displays a smooth parietal callus which thickens into a pad over the part of the parietal wall, while the outer lip is thin. Its color is dark brownish with orange or violet hue and attains a maximum width of a few mm. In mainland Greece, this species was first collected in the Vasilopotamos R. southern of the Evrotas R. catchment area. Although in past times (ca 70-80 years) these two river systems were hydraulically connected, this species was never found in Evrotas R. In the spring area of the Vasilopotamos R. (Scala city) this species was found at high abundance, but its population size was reduced downstream and it was absent in the estuarine area. Its habitat preferences are characterized by presence of aquatic-hydrophilic vegetation, smooth flow, low to high oxygen concentrations and very low water turbidity. The water quality of all streams where the species was found was classified in good to pristine conditions according to the physicochemical parameters and to the Biotic Indices. It is concluded that *M. praemorsa*, prefers the clean waters, while its abundance and size contribution exhibits strong variation of body size within population, as well as seasonal fluctuation in abundance.

**ΣΥΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΑΦΘΟΝΙΑ ΒΕΝΘΙΚΗΣ ΠΑΝΙΔΑΣ ΣΕ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΑ  
ΤΜΗΜΑΤΑ ΤΟΥ ΠΟΤΑΜΟΥ ΕΥΡΩΤΑ (ΛΑΚΩΝΙΑ, ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΣ)**

Γκρίτζαλης Κ.Χ. και Ν.Θ. Σκουλικίδης

ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε., 46,7 χλμ. Αθηνών-Σουνίου, 190 13 Ανάβυσσος

Στο πλαίσιο του Ερευνητικού Προγράμματος Life, (*Environmental Friendly Technologies for Rural Development*, [www.envfriendly.tuc.gr](http://www.envfriendly.tuc.gr)) έγινε οικολογική μελέτη του ποταμού Ευρώτα. Τμήμα αυτής αφορούσε τα βενθικά μακροασπόνδυλα, τα οποία συλλέχθηκαν με απόχη ανοίγματος 25X25 cm (διάμετρος δικτύου 500 μ). Στο τροποποιημένο τμήμα του ποταμού και συγκεκριμένα μεταξύ της πόλης της Σκάλας και των εκβολών έγιναν δειγματοληψίες βένθους από τρία σημεία, σε δύο περιόδους (χειμώνας-καλοκαίρι). Στο κάθε σημείο λήφθηκαν τριάντα δείγματα επιφάνειας 25X25 cm η κάθε μία, από υπόστρωμα με λεπτόκοκκο υλικό, ανώτερα φυτά, και μηδενική σχεδόν ροή. Σκοπός της εργασίας αυτής είναι η βενθική αυτοοικολογία, στοιχείο απαραίτητο για εφαρμογές διαφόρων μεθόδων εκτίμησης της οικολογικής ποιότητας των ποταμών. Η ανάλυση των δειγμάτων έδειξε ότι στα Μαλάκια κυριαρχούσαν τα είδη *Lymnaea stagnalis*, *Physa acuta*, *P. dalmatina*, *Planorbis planorbis*, *Viviparus spp.*, *Ancylus capuloides* και *Bithynia leachi*. Στα ΕΡΤ taxa, κυρίαρχα είδη Εφημεροπτέρων ήσαν τα *Baetis spp.* και *Caenis spp.*, των Πλεκοπτέρων ελάχιστα είδη *Leuctra spp.*, *Amphinemura spp.* και *Nemura spp.*, ενώ τα Τριχόπτερα αντιπροσωπεύτηκαν και αυτά από μικρό αριθμό ειδών όπως από τα *Hydroptila spp.*, *Athripsodes spp.* και *Mystacides sp.* Από τα Δίπτερα κυριαρχούσαν τα *Chironomus spp.*, *Palmomyia nigripictus* και *Dryodromia sp.*, ενώ από τα Κολεόπτερα τα *Helophorus spp.*, *Dytiscus circumflexus*, *D. pisanus* και *Hydraena spp.* Στα Οδοντόγναθα κυριάρχησαν τα είδη *Calopteryx splendens*, *Platycnemis pennipes*, *Gomphus vulgatissimus*, και *Onychogomphus sp.*, ενώ κοντά στις εκβολές και όσον αφορά τα δεκάποδα συλλέχθηκαν τα είδη *Asselus spp.*, *Atyaephyra desmarestii*, και *Palaemon adspersus*. Από τα υπόλοιπα taxa και σε περιορισμένο αριθμό ειδών και ατόμων συλλέχθηκαν τα είδη *Lumbriculus sp.*, *Corixa sp.* *Notonecta sp.* και *Hydrachna globosa*. Συμπεραίνεται λοιπόν ότι σε τέτοιου είδους τροποποιημένα ενδιαιτήματα καθώς και σε πιέσεις όπως, η απουσία διαφόρων τύπων ροής, υποστρώματος και συνθήκες περιορισμένης ποσότητας υδάτων κυριαρχούν τα πιο πάνω ανθεκτικά είδη.



**COMPOSITION AND ABUNDANCE OF THE BENTHIC FAUNA AT THE  
MODIFIED STRETCHES OF THE EVROTAS RIVER (LACONIA,  
PELOPONNESE, GREECE)**

*Gritzalis K.C., and N.Th. Skoulikidis*

*H.C.M.R., 46.7 km Athens-Sounion Ave., 19013 Anavyssos, Greece*

In the context of the Life Project, (*Environmental Friendly Technologies for Rural Development*, [www.envfriendly.tuc.gr](http://www.envfriendly.tuc.gr)) an ecological study was carried out at the Evrotas R. A part of this study was concerning the benthic macroinvertebrates, which were collected by the use of a hand net (dimensions 25X25 cm & mesh size of the net 500 μ). At the modified stretch of the river, located between the city of Scala and the estuaries, benthic samples were collected at three sites during the winter and summer seasons. From each sampling site 30 replicates equal to a surface of 25X25 cm were taken, while the habitat was fine substrate, higher plants and pool conditions. This work is focusing on the benthic autoecology, an important element for the application of various assessment methods regarding the ecological quality of the rivers. The processing of the samples reveals that, regarding the Molluscs, the dominant species were *Lymnaea stagnalis*, *Physa acuta*, *P. dalmatina*, *Planorbis planorbis*, *Viviparus spp.*, *Ancylus capuloides* and *Bithynia leachi*. Concerning the EPT taxa, the dominant mayflies species were *Baetis spp.* and *Caenis spp.*, apart of the stoneflies very few species of *Leuctra spp.*, *Amphinemura spp.* και *Nemura spp.*, and the caddisflies were represented by a low composition and abundance of *Hydroptila spp.*, *Athripsodes spp.* and *Mystacides sp.* The *Chironomus spp.*, *Palmoyia nigripectus* and *Dryodromia sp.*, were the dominant true flies, while the *Helophorus spp.*, *Dytiscus circumflexus*, *D. pisanus* and *Hydraena spp.*, were the dominant beetles. Regarding the Odonata the collected dominant species were *Calopteryx splendens*, *Platycnemis pennipes*, *Gomphus vulgatissimus*, and *Onychogomphus sp.*, while close to the estuaries and concerning the decapods the collected species were *Asselus spp.*, *Atyaephyra desmarestii*, and *Palaemon adspersus*. Concerning the remaining taxa the species *Lumbriculus sp.*, *Corixa sp.* *Notonecta sp.* and *Hydrachna globosa*, were collected in very low composition and abundance. It is concluded that, in such modified habitats with various pressures (absence of various flow and substrate types, low water quantity conditions) the above mentioned tolerant species are dominant.

**ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΚΑΙ ΑΦΘΟΝΙΑ ΤΩΝ ΕΙΔΩΝ *BARBUS STRUMICAE*,  
*KARAMAN, 1955* ΚΑΙ *COBITIS STRUMICAE* *KARAMAN, 1955* ΣΤΟΝ  
ΠΟΤΑΜΟ ΣΤΡΥΜΟΝΑ**

Γούσια Ε., Μπόμπορη Δ.Χ.

Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., 541 24, Θεσσαλονίκη.  
[evgousia@bio.auth.gr](mailto:evgousia@bio.auth.gr), [bobori@bio.auth.gr](mailto:bobori@bio.auth.gr)

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η καταγραφή της παρουσίας και αφθονίας δυο ενδημικών ειδών ψαριών, του *Barbus strumicae* και του *Cobitis strumicae*, στο σύστημα του ποταμού Στρυμόνα. Πραγματοποιήθηκαν δυο δειγματοληψίες (Απρίλιος και Αύγουστος 2008), σε 12 σταθμούς στο ελληνικό τμήμα του ποταμού, με χρήση ηλεκτραλιείας. Η παρουσία του *B. strumicae* καταγράφηκε σε 11 και του *C. strumicae* σε 8 σταθμούς. Έγιναν μετρήσεις του ολικού μήκους (TL, cm) και βάρους (W, g) όλων των ατόμων και εκτιμήθηκε η σύλληψη ανά μονάδα (m<sup>2</sup>) επιφάνειας αλιείας (CPUE) με βάση τον αριθμό των ατόμων (NPUE, άτομα/m<sup>2</sup>) και το βάρος τους (MPUE, g/ m<sup>2</sup>). Συνολικά βρέθηκαν 278 άτομα *B. strumicae*, με εύρος μήκους TL 1,5 - 16,5 cm, και συνολικό βάρος 2405,26 g. Οι τιμές NPUE του είδους κυμάνθηκαν από 0,015 ως 0,280 άτομα/ m<sup>2</sup> και MPUE από 0,058 ως 5,631 g/ m<sup>2</sup>. Από το *C. strumicae* βρέθηκαν 59 άτομα, με εύρος μήκους TL 2,7 - 10,6 cm και συνολικό βάρος 143,81 g. Στο είδος αυτό, οι τιμές NPUE και MPUE κυμάνθηκαν από 0,004 ως 0,115 άτομα/ m<sup>2</sup> και από 0,004 ως 0,227 g/ m<sup>2</sup> αντίστοιχα. Οι τιμές NPUE και MPUE που υπολογίστηκαν για το *B. strumicae* ήταν υψηλότερες από ότι για το *C. strumicae* (K-S, p<0,05). Τα είδη εμφάνισαν τις υψηλότερες τιμές CPUE σε σταθμούς με υπόστρωμα πετρώδες, μεγάλης ροής και μέτριου βάθους, που δε δέχονταν σημαντικές ανθρωπογενείς πιέσεις, ενώ σε σταθμούς με τροποποιημένο ενδιαίτημα καταγράφηκαν οι χαμηλότερες τιμές. Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας αποτελούν τα πρώτα ποσοτικά δεδομένα για τα συγκεκριμένα είδη στο σύστημα του ποταμού Στρυμόνα και θα συμβάλλουν στην ανάπτυξη διαχειριστικών μέτρων για την προστασία τους.

Η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από την Περιφέρεια Κεντρικής Μακεδονίας στα πλαίσια του προγράμματος «Υπηρεσίες εφαρμογής της μεθοδολογίας παρακολούθησης των επιφανειακών υδάτων της λεκάνης του ποταμού Στρυμόνα»

**DISTRIBUTION AND ABUNDANCE OF THE FISH SPECIES *BARBUS STRUMICAE*, KARAMAN, 1955 AND *COBITIS STRUMICAE* KARAMAN, 1955 IN RIVER STRYMONAS**

*Gousia E., Bobori D.C.*

*Laboratory of Ichthyology, School of Biology, A.U.Th., 541 24, Thessaloniki  
[evgousia@bio.auth.gr](mailto:evgousia@bio.auth.gr), [bobori@bio.auth.gr](mailto:bobori@bio.auth.gr)*

The aim of the present study was to record the presence and the abundance of two endemic to Greece and to the Balkan peninsula fish species, *Barbus strumicae* and *Cobitis strumicae*, in the Greek part of river Strymonas. Twelve sampling stations, were sampled in April and August 2008, by electrofishing. *B. strumicae* was recorded in 11 and *C. strumicae* in 8 stations. Measurements of total length (TL, cm) and weight (W, g) were recorded and the catch per unit effort (CPUE) in terms of number (NPUE, individuals/ m<sup>2</sup>) and weight (MPUE, g/ m<sup>2</sup>) was calculated. A total of 278 specimens of *B. strumicae*, ranging from 1.5 to 16.5 cm TL, and weighting 2405.26 g were recorded. NPUE and MPUE values were 0.015 - 0.280 individuals/ m<sup>2</sup> and 0.058 - 5.631 g/ m<sup>2</sup> respectively. Additional, 59 specimens of *C. strumicae*, ranging between 2.7 and 10.6 cm TL and weighting 143.81 g were recorded. NPUE and MPUE ranged between 0.004 and 0.115 individuals/ m<sup>2</sup> and 0.004 and 0.227 g/ m<sup>2</sup> respectively. Overall, the calculated NPUE and MPUE values, were higher for *B. strumicae* (K-S, p<0.05). For both species the higher CPUE values were estimated at stations with stony substrate, high flow, low depth (<0.50 m) and no intensive anthropogenic impacts, whereas the lower ones were calculated at stations affected by habitat modifications. The results of the present study consists the first quantitative data for both species in river Strymonas and they will contribute to their protection.

*The present study was funded by the Prefecture of Central Macedonia in the frame of the research project "Application services of surface water monitoring methodology in watershed area of Strymonas river".*

**ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΟΥ ΠΕΠΤΙΚΟΥ ΑΔΕΝΑ ΚΑΙ ΤΩΝ  
ΑΙΜΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΗΣ ΠΕΤΑΛΙΔΑΣ *PATELLA CAERULEA* ΜΕΤΑ ΑΠΟ  
ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΚΑΔΜΙΟΥ ΚΑΙ ΜΙΓΜΑΤΟΣ ΟΡΓΑΝΙΚΩΝ ΡΥΠΙΩΝ**

*Γραμμουσιάνου Α. και Β.Κ. Δημητριάδης*

*Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,  
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54124, Θεσσαλονίκη.*

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση βιομαρτύρων θαλάσσιας ρύπανσης στα πεπτικά κύτταρα και στα αιμοκύτταρα της πεταλίδας *Patella caerulea*, μετά από επίδραση καδμίου και μίγματος πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (PAHs). Οι βιομάρτυρες που εκτιμήθηκαν ήταν η «κατάκράτηση της χρωστικής ουδέτερου ερυθρού (neutral red)», ο «προσδιορισμός των επιπέδων των μεταλλοθειονινών (MTs)» σε πεπτικά κύτταρα και ο «προσδιορισμός της ενζυμικής δραστηριότητας της ακετυλ-χολινεστεράσης (AChE)» σε πεπτικά κύτταρα. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι, τόσο οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (PAHs), όσο και το βαρύ μέταλλο κάδμιο (Cd) μπορούν να προκαλέσουν καταστάσεις στρες στην πεταλίδα *Patella caerulea*. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση του χρόνου της «κατακράτησης της χρωστικής ουδέτερου ερυθρού» στα αιμοκύτταρα των πεταλίδων, μετά την έκθεσή τους στο Cd και στο μίγμα των PAHs, σε σχέση με τις πεταλίδες ελέγχου. Επίσης, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση της δραστηριότητας της ακετυλ-χολινεστεράσης (AChE) στον πεπτικό αδένα των πεταλίδων που εκτέθηκαν στους PAHs, σε σχέση με τις πεταλίδες ελέγχου και στατιστικά σημαντική αύξηση των επιπέδων των μεταλλοθειονινών (MTs) στον ίδιο ιστό, σε σχέση με τις πεταλίδες ελέγχου. Συμπερασματικά, οι πεταλίδες *Patella caerulea* αποκρίνονται με επιτυχία στους βιομάρτυρες που εφαρμόστηκαν στην παρούσα μελέτη και παρά τη δυσκολία που ενέχει η συλλογή και η συντήρησή τους στο εργαστήριο, μπορούν να χρησιμοποιηθούν με επιτυχία ως βιοενδείκτες για τη βιοπαρακολούθηση της θαλάσσιας ρύπανσης.

**CELLULAR RESPONSES OF THE DIGESTIVE GLAND AND THE  
HAEMOCYTES OF THE LIMPET *PATELLA CAERULEA* AFTER THE  
EXPOSURE TO CADMIUM AND MIXTURE OF ORGANIC POLLUTANTS**

*Grammoustianou A., and V.K. Dimitriadis*

*Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle  
University, 54124 Thessaloniki*

The purpose of this study was to examine the biomarkers of marine pollution in the digestive cells and the haemocytes of the limpet *Patella caerulea*, after their exposure to cadmium (Cd) and to mixture of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs). The estimated biomarkers were the "neutral red retention assay (NRR)", the "metallothioneins content (MTs)" in digestive cells and the "acetylcholinesterase activity (AChE)", also, in the digestive cells. The results showed that both the PAHs and the heavy metal Cd are able to provoke stress incidents to the limpet *Patella caerulea*. Particularly, there was observed a statistically significant reduce of "neutral red retention (NRR)" time in the limpets haemocytes, after their exposure to Cd and the mixture of PAHs, in comparison to the control limpets. Furthermore, there was noted a statistically significant reduce of AChE activity in the digestive gland of the limpets exposed to PAHs, in relation to the control limpets and, on the contrary, a statistically significant raise of the MTs content in the same tissue, in connection with the control ones. In conclusion, the limpets *Patella caerulea* respond successfully to the biomarkers applied in the certain study and despite the difficulty that their collection and laboratory preservation involve, they can successfully be used as bioindicators in marine pollution biomonitoring.

**ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΕΛΕΥΘΕΡΟΥ ΕΜΒΡΥΪΚΟΥ  
DNA ΣΤΗ ΜΗΤΡΙΚΗ ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑ***Δάβανος Ν. και Δ.Χ. Σπάθας**Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πάτρας*

Με στόχο την καθιέρωση μη επεμβατικής μεθοδολογίας για τον προγεννητικό έλεγχο ανευπλοειδιών, στην παρούσα μελέτη έγινε προσπάθεια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης του ελεύθερου εμβρυϊκού DNA που υπάρχει στο πλάσμα της εγκύου. Αρχικά διαπιστώθηκε ότι η ανίχνευση αλληλουχιών ελεύθερου εμβρυϊκού DNA με συμβατική αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR) στο πλάσμα εγκύων που φέρουν άρρενα έμβρυα, είναι εφικτή από την 6<sup>η</sup> εβδομάδα μέχρι και το πέρας της κύησης. Η ανάλυση των χρωμοσωμάτων του εμβρύου σε δείγμα μητρικού πλάσματος με την τεχνική της ποσοτικής (Quantitative) φθορίζουσας (Fluorescent) PCR (QF-PCR) και πολυμορφικούς γενετικούς δείκτες τύπου STR (Short Tandem Repeats) παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον καθώς μπορεί να πραγματοποιηθεί για όλες τις κυήσεις και όχι μόνο για αυτές που φέρουν άρρενα έμβρυα. Η πληροφοριακή ανάλυση προϋποθέτει την δυνατότητα εξακρίβωσης γονεϊκών STR (ιδεωδώς μητρικών και πατρικών) και διαχωρισμού τους από τους εμβρυϊκούς, που εκ των πραγμάτων είναι εφικτή μόνο για τους πατρικούς προέλευσης STR καθώς στο μητρικό πλάσμα τα μητρικά και τα εμβρυϊκά αλληλόμορφα μητρικής προέλευσης αλληλεπικαλύπτονται. Στην παρούσα ερευνητική εργασία παρασκευάστηκαν πληροφοριακά για δείκτες STR στα χρωμοσώματα 21, 18, 13, X και Y, μοντέλα προσομοίωσης δειγμάτων μητρικού πλάσματος εγκύων γυναικών με φυσιολογικά έμβρυα, με σκοπό τον προσδιορισμό της ευαισθησίας της QF-PCR στην ανίχνευση των πατρικής προέλευσης STRs και την μελέτη του ποσοστού του ελεύθερου εμβρυϊκού DNA στο μητρικό πλάσμα. Οι πρότυπες καμπύλες που σχεδιάστηκαν για κάθε δείκτη STR με τα δεδομένα που προέκυψαν από τα παραπάνω πειράματα, χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό του ποσοστού του ελεύθερου εμβρυϊκού DNA στο μητρικό πλάσμα εγκύων γυναικών σε διαφορετικά στάδια της κύησης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ευαισθησία της QF-PCR στην ανίχνευση των πατρικής προέλευσης STRs είναι σημαντική και ότι το ποσοστό του ελεύθερου εμβρυϊκού DNA είναι της τάξεως του 7% (διακύμανση 0-20%) του ολικού ελεύθερου DNA στη μητρική κυκλοφορία.

## **DETECTION AND QUANTITATION OF FREE FETAL DNA IN MATERNAL CIRCULATION**

*Davanos N., and D.H. Spathas*

*Laboratory of Gen. Biology, Medical School, University of Patras*

The purpose of this study was the detection and quantitation of free fetal DNA in maternal plasma which could then, be explored for a non invasive approach for the prenatal diagnosis of chromosomal aneuploidies. We have initially established that detection of free fetal DNA, circulating in the plasma of pregnant women bearing male fetuses, is possible, as early as the 6<sup>th</sup> week and up to the end of gestation, using a common polymerase chain reaction (PCR) assay. Fetal chromosome analysis in maternal plasma, using quantitative fluorescent PCR (QF-PCR) in combination with suitable polymorphic genetic markers, like STRs (Short Tandem Repeats) has the advantage that can be used in all pregnancies, independent of sex. Informative analysis requires possibility of identifying parental STRs (ideally maternal and paternal ones) and their distinction from fetal STRs. This is only possible for paternal STRs since maternal and fetal alleles of maternal origin are expected to overlap. In this study we have used simulation models of maternal plasma samples, normal gestations, which were informative for STRs markers on chromosomes 21, 18, 13, X και Y, in order to estimate the sensitivity of QF-PCR for the detection of STRs of paternal origin and also to estimate the levels of free fetal DNA in maternal plasma. The graph patterns for each STR marker, which resulted from these simulation experiments, were used for the quantitation of free fetal DNA in maternal plasma at different stages of gestation. Our results show that QF-PCR sensitivity for detecting STRs of paternal origin is satisfactory and that the percentage of free fetal DNA represents approximately 7% (range 0-20%) of the total free DNA in maternal circulation.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΣΙΤΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΣΙΤΙΑΣ/ΕΠΑΝΑΣΙΤΙΣΗΣ ΣΤΟ  
ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟ ΤΟΥ ΛΑΒΡΑΚΙΟΥ (*Dicentrarchus labrax*)****Δεσπότη Σ.<sup>1,\*</sup>, Ρουφίδου Χ.<sup>1,\*</sup>, Χατζηφώτης Σ.<sup>2</sup>, Αντωνοπούλου Ε.<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., 54 124 Θεσσαλονίκη<sup>2</sup> Ινστιτούτο Υδατοκαλλιεργειών, ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε., 710 03 Ηράκλειο

Τα ψάρια των υδατοκαλλιεργειών αλλά και αυτά που ζουν ελεύθερα στο φυσικό τους περιβάλλον υπόκειται συχνά σε περιόδους νηστείας, η επίδραση της οποίας στο μεταβολισμό αυτών δεν είναι πλήρως κατανοητή. Σημαντικά ένζυμα του κυτταρικού μεταβολισμού που απαιτούν διερεύνηση υπό το καθεστώς της νηστείας είναι η αφυδρογονάση του γαλακτικού οξέος (L-LDH), η αφυδρογονάση του β-υδροξυάκυλο-CoA (HOAD) και η κιτρική συνθετάση (CS). Επιπρόσθετα, ενδιαφέρον παρουσιάζει η μεταβολή των αποθηκευμένων υδατανθράκων με τη μορφή γλυκογόνου στο ήπαρ και στους μυς. Στην παρούσα εργασία εξετάσαμε την επίδραση διαφορετικών πρωτοκόλλων ασιτίας και ασιτίας/επανασίτισης, 1 μήνας τροφή/4 μήνες ασιτία (1T4N) και 2 μήνες ασιτία/3 μήνες τροφή (2N3T), στην κατανάλωση γλυκογόνου και στη δραστικότητα των προαναφερόμενων ενζύμων σε ήπαρ, λευκό και ερυθρό μυ στο λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*). Η 1T4N οδήγησε σε μείωση του γλυκογόνου στο ήπαρ ( $p < 0.05$ ) σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, ενώ καμία διαφοροποίηση δεν παρατηρήθηκε στη ομάδα 2N3T. Καμία διαφορά δεν παρατηρήθηκε στο γλυκογόνο του λευκού και ερυθρού μυ. Όσον αφορά στις ηπατικές δραστικότητες των ενζύμων, παρατηρήθηκε αύξηση ( $p < 0.05$ ) και στα τρία ένζυμα στα άτομα της 1T4N σε σχέση με τους μάρτυρες. Επίσης, αυξήθηκε ( $p < 0.05$ ) η LDH στα άτομα 2N3T, ενώ η HOAD και η CS παρέμειναν σταθερές. Στο λευκό μυ κατά τη διάρκεια της ασιτίας δεν υπήρξε καμία μεταβολή στις δραστικότητες των ενζύμων. Αντίθετα, κατά την ασιτία/επανασίτιση η HOAD αυξήθηκε ( $p < 0.05$ ), ενώ η LDH και η CS παρέμειναν σταθερές. Στον ερυθρό μυ από την άλλη, τόσο κατά την διάρκεια της ασιτίας, όσο και κατά τη διάρκεια της ασιτίας/επανασίτισης η δραστικότητα της LDH παρέμεινε σταθερή, ενώ οι δραστικότητες των HOAD και CS μειώθηκαν σημαντικά. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της εργασίας δηλώνουν ότι τα ψάρια έχουν την ικανότητα ανάκτησης των ενεργειακών τους αποθεμάτων που βρίσκονται υπό την μορφή του γλυκογόνου στο ήπαρ και η νηστεία αυξάνει τη δραστικότητα των ενζύμων LDH, HOAD και CS στο ήπαρ.

\*έχουν συνεισφέρει ισομερώς στην εργασία



**EFFECT OF STARVATION AND STARVATION/REFEEDING IN  
METABOLISM OF SEABASS (*Dicentrarchus labrax*)**

*Despoti S.<sup>1\*</sup>, Roufidou C.<sup>1\*</sup>, Chatzifotis S.<sup>2</sup>, Antonopoulou E.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 541 24 Thessaloniki, <sup>2</sup>Institute of Aquaculture, Hellenic Centre for Marine Research of Crete, 710 03 Heraklio

Both farmed fish and fish living in their natural environment are often undergoing periods of fasting. The effect of fasting on metabolism is however, not fully understood. Important enzymes of cellular metabolism that can be affected during fasting and required investigation are the dehydrogenase of lactate acid (L-LDH),  $\beta$ -hydroxyacyl CoA-dehydrogenase (HOAD) and citrate synthase (CS). Additionally, the conversion of stored carbohydrates in the form of glycogen in the liver and muscles is of scientific interest. In the present study, we investigated the effect of different protocols of starvation and starvation/refeeding, 1 month feeding/4 months starvation (1T4N) and 2 months starvation/3months refeeding (2N3T), on both glycogen consumption and enzymatic activity in the liver, white and red muscle of seabass (*Dicentrarchus labrax*). The fasting of 1T4N reduced glycogen in the liver ( $p < 0.05$ ) compared to controls while no difference was observed in 2N3T group. No difference was either found in glycogen of white and red muscle among groups. Regarding the hepatic enzymatic activities, an increase ( $p < 0.05$ ) was observed in all three enzymes in 1T4N group compared to controls. Hepatic LDH was also increased ( $p < 0.05$ ) in 2N3T group, while HOAD and CS remained unchanged. In white muscle, on the other hand, starvation did not affect the enzymatic activities. In contrast, the refeeding increased HOAD ( $p < 0.05$ ), while LDH and CS did not change. On the other hand, in red muscle, starvation and starvation/refeeding decreased the activities of HOAD and CS ( $p < 0.05$ ), while LDH was not affected. In conclusion, the results of this study indicate that fish have the ability to recover their energy reserves found as glycogen in the liver. Furthermore, fasting increases the activities of LDH, HOAD and CS in the liver.

*\*have contributed equally to this work*

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΤΗΣ ΕΝΖΥΜΙΚΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ ΤΗΣ  
GST ΣΤΗ *Daphnia magna* ΩΣ ΔΕΙΚΤΗ ΕΠΑΡΚΟΥΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ  
ΑΣΤΙΚΩΝ ΛΥΜΑΤΩΝ ΜΕ ΣΤΟΧΟ ΤΗΝ ΕΠΑΝΑΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥΣ**

**Δημητριάδη Α. και Αθ. Ι. Παπαδόπουλος**

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας  
ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

Η *Daphnia magna* συστήνεται ως βιοδείκτης για τον έλεγχο σημαντικής ρύπανσης υδάτινων πόρων. Στη παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η δυνατότητα χρήσης του οργανισμού ως δείκτη επαρκούς επεξεργασίας αστικών λυμάτων με σκοπό την επαναχρησιμοποίηση τους. Στα πλαίσια αυτά εξετάστηκε η απόκριση των κινητικών παραμέτρων του ενζυμικού συστήματος της τρανσφεράσης της γλουταθειόνης (GST) που εντάσσεται στον μηχανισμό αποτοξίνωσης φάσης II των ζωικών οργανισμών. Συγκεκριμένα προσδιορίστηκε η ενζυμική δραστικότητα της GST ολόκληρου του οργανισμού με τη μέθοδο *Habig et al.*(1974), η ειδική δραστικότητα και παράλληλα προσδιορίστηκε η κινητική παράμετρος Km. Με εφαρμογή της μεθόδου χρωματογραφίας εστιασμού (Chromatofocusing) προχωρήσαμε στη διερεύνηση των ισοενζυμικών μορφών της ενζυμικής αυτής οικογένειας ενώ παράλληλα με μεθοδολογία Western blotting διερευνήσαμε την πιθανή ύπαρξη κοινής αντιγονικότητας με ισοενζυμικές μορφές των εντόμων. Τα αποτελέσματά μας μετά από έκθεση σε επεξεργασμένο λύμα έδειξαν διαφοροποίηση στις κινητικές παραμέτρους που εξετάστηκαν (ενεργοποίηση του ενζύμου). Με την χρωματογραφία εστιασμού διαπιστώθηκε η ύπαρξη τριών κύριων ισοενζυμικών μορφών ενώ η εκατοστιαία αναλογία τους μεταβάλλεται κάτω από συνθήκες stress (έκθεση σε λύματα). Με βάση τα αποτελέσματά μας οδηγούμαστε στο συμπέρασμα ότι ο συγκεκριμένος οργανισμός είναι κατάλληλος βιοδείκτης και για ρύπανση των υδάτων σε βαθμό μικρότερο αυτού που μπορεί να διακρίνει η δοκιμασία αναπαραγωγής του (*D. magna* 21 d reproduction test) το οποίο χρησιμοποιείται ευρέως για τον έλεγχο ρύπανσης υδάτινων πόρων και διατίθεται και στο εμπόριο.

**A STUDY OF GLUTATHIONE S TRANSFERASE SYSTEM IN *D. magna* AS A  
BIOMARKER FOR ADEQUATE TREATMENT OF DOMESTIC WASTE  
WATERS**

*Dimitriades A., and Ath. I. Papadopoulos*

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

*Daphnia magna* is used as a biomarker for heavy contamination of water sources. In the present study we investigated the possibility of using this organism as a biomarker for adequate treatment of domestic waste waters. We studied the effect of exposure of the organism to variously treated waste waters upon the kinetic parameters of the enzyme family glutathione S-transferase (GST) that belongs to the phase II of detoxification mechanisms. The activity of total enzyme, specific activity and Km was determined according to Habig et al., (1974). By applying the method of chromatofocusing it was investigated the number of isoenzymes present in the organism and the possible alteration of their expression after exposing the organism to untreated or semi-treated waste waters. In addition, by applying the method of western blotting it was investigating the presence of common antigenic determinants on the molecule of GST with insect GST. According to the results of our study, the particular organisms can be used as a biomarker for detecting contamination in water sources at levels lower than the ones that can be detected by the commercially available *D. magna* 21 d reproduction assay.

**Ο ΕΝΔΟΓΕΝΗΣ ΡΕΤΡΟΪΟΣ HERV-K10 ΡΕΤΡΟΜΕΤΑΤΙΘΕΤΑΙ ΣΕ  
ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡ HeLa ΚΑΙ ΩΟΚΥΤΤΑΡΑ**

*Δημητριάδου Ε.<sup>1</sup>, Νουτσόπουλος Δ.<sup>1</sup>, Μαρκόπουλος Γ.<sup>1</sup>, Γεώργιος  
Βαρθολομάτος Γ.<sup>2</sup>, Γεωργίου Ι.<sup>3</sup>, Σύρρου Μ.<sup>1</sup> και Θ. Τζαβάρας<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων,  
<sup>2</sup>Αιματολογικό Εργαστήριο, Μονάδα Μοριακής Βιολογίας, Π.Π.Ν.Ι. <sup>3</sup>Εργαστήριο  
Γενετικής της Αναπαραγωγής, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων.*

Οι ενδογενείς ρετροϊοί HERV αποτελούν 8.2% του ανθρώπινου γενώματος και θεωρούνται μη ικανοί προς ρετρομετάθεση λόγω συσσώρευσης μεταλλάξεων στο γένωμά τους. Η οικογένεια HERV-K, μοναδική μεταξύ των HERV που φέρει λειτουργικά ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης για τα γονίδια gag, prt, pol και env, αποτελεί την εξελικτικά νεότερη και τα μέλη της εκφράζονται σε πληθώρα καρκινικών κυττάρων και γαμετικά κύτταρα. Μελετήσαμε την ικανότητα προς ρετρομετάθεση του ρετροϊκού στελέχους HERV-K10 σε ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα HeLa και ωοκύτταρα. Κατασκευάσαμε ένα ανασυνδυασμένο ελλειμματικό ρετροϊό HERV-K10 (HERV-K10/EGFP-INT) σημασμένο με ειδική κασέττα ανίχνευσης της ρετρομετάθεσης βασισμένη στην έκφραση της φθορισμογόνου πρωτεΐνης EGFP. Διαμολύνοντας κύτταρα HeLa με την ανασυνδυασμένη κατασκευή, απομονώσαμε μονήρεις κλώνους καθώς και μαζικό πληθυσμό κλώνων. Και στις δύο περιπτώσεις ανιχνεύσαμε γεγονότα ρετρομετάθεσης, μέσω EGFP-θετικών κυττάρων, με μικροσκοπία UV που πιστοποιήθηκαν σε γενωμικό επίπεδο με ανάλυση PCR. Η συχνότητα ρετρομεταθέσεων μετρήθηκε με FACS και ευρέθηκε σε υψηλά επίπεδα ως και 17%. Επιπλέον, άωρα ανθρώπινα ωοκύτταρα (Germinal Vesicles) μικροενέθηκαν με την ανασυνδυασμένη κατασκευή και μετά από πάροδο 24 ωρών ανιχνεύθηκαν ρετρομεταθέσεις με μικροσκοπία UV που επιβεβαιώθηκαν με ανάλυση PCR. Σε αντίθεση με την τρέχουσα θεώρηση, τα αποτελέσματά μας αποδεικνύουν για πρώτη φορά ότι ο ενδογενής ρετροϊός HERV-K10 είναι ρετρομεταθετικά ενεργός, ακόμα και ελλειμματικός, και ότι τα καρκινικά και αναπτυσσόμενα γαμετικά κύτταρα αποτελούν ευνοϊκό κυτταρικό περιβάλλον για την γένεση γεγονότων ρετρομετάθεσης.

**AN ENDOGENOUS RETROVIRUS HERV-K10 RETROTRANPOSES IN  
HUMAN CANCER HeLa CELLS AND OOCYTES**

*Dimitriadou E.<sup>1</sup>, Noutsopoulos D.<sup>1</sup>, Markopoulos G.<sup>1</sup>, Vartholomatos G.<sup>2</sup>,  
Georgiou I.<sup>3</sup>, Syrrou M.<sup>1</sup>, and Th. Tzavaras<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Laboratory of General Biology, Medical School, University of Ioannina, <sup>2</sup>Hematology  
Laboratory, Molecular Biology Unit, University Hospital of Ioannina <sup>3</sup>Laboratory of  
Reproductive Genetics, Medical School, University of Ioannina.*

Endogenous retroviruses (HERV) comprise 8.2% of the human genome and are considered to be unable to retrotranspose due to accumulation of mutations in their genome. HERV-K family, unique among HERVs bearing functional open reading frames for gag, prt, pol and env genes, is the evolutionary youngest family and its members are expressed in a variety of cancer and germ cells. We studied the retrotransposition potential of the HERV-K10 member in human cancer HeLa cells and oocytes. A truncated recombinant HERV-K10 retrovirus (HERV-K10/EGFP-INT), tagged with an enhanced green fluorescent protein (EGFP) gene-based retrotransposition cassette, was constructed and used for detection of retrotransposition events. We transfected HeLa cells with the recombinant construct and isolated single clones as well as massive cell clone populations. In both cases we detected retrotransposition events by UV microscopy, through EGFP-positive cells, further confirmed in the genome by PCR analysis. Using FACS, measured retrotransposition frequency was found at high levels up to 17%. Moreover, immature human oocytes (Germinal Vesicles) were microinjected with the recombinant construct and 24 hours post-treatment the occurrence of retrotransposition events was detected by UV microscopy and confirmed by PCR analysis. In contrast to the current viewpoint, our findings demonstrate for the first time that endogenous retrovirus HERV-K10 is retrotransposition-competent, even if truncated/mutated, and that cancer and developing germ cells provide a cellular environment favorable for generation of retrotransposition events.

**ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ C825T ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ GNB3 ΜΕ  
ΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ II**

**Δήμου Ν.Α.<sup>1</sup>, Τσαντές Α.Ε.<sup>2</sup>, Νικολόπουλος Γ.Κ.<sup>3</sup>, Χαμόδρακας Σ.Ι.<sup>1</sup>,  
Μπάγκος Π.Γ.<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, <sup>2</sup>Αιματολογικό Εργαστήριο & Μονάδα Αιμοδοσίας, Παν/κό Γεν. Νοσοκομείο «Αττικόν», <sup>3</sup>Ελληνικό κέντρο ελέγχου και πρόληψης νοσημάτων, <sup>3<sup>ης</sup></sup> Σεπτεμβρίου 54, Αθήνα, <sup>4</sup>Τμήμα Πληροφορικής με Εφαρμογές στη Βιοϊατρική, Πανεπιστήμιο Στερεάς Ελλάδας, Παπασιπούλου 2-4, Λαμία

Ο διαβήτης τύπου II είναι μια περίπλοκη ασθένεια του μεταβολισμού των υδατανθράκων χαρακτηριζόμενη από βλάβη τόσο στη δράση όσο και στα μονοπάτια έκκρισης της ινσουλίνης. Ο πολυμορφισμός C825T του γονιδίου που κωδικοποιεί για τη β3 υπομονάδα των G-πρωτεϊνών έχει συσχετιστεί με την εμφάνιση εναλλακτικού ματίσματος, που προκαλεί την απώλεια 41 αμινοξέων. Εφόσον η ινσουλίνη χρησιμοποιεί έναν G-ευαίσθητο μηχανισμό που μετέχει σε αγγειακά και μεταβολικά γεγονότα, οδηγώντας σε αυξημένη μεταφορά γλυκόζης και αγγειοδιαστολή υποθέσαμε ότι ο C825T πολυμορφισμός μπορεί να συσχετίζεται με την παθολογία του διαβήτη τύπου II. Για τον λόγο αυτό, πραγματοποιήθηκε μια συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση. Ανακτήθηκε ένα σύνολο 24 μελετών οι οποίες συνοψίζουν πληροφορίες για 4953 ασθενείς και 22677 μάρτυρες. 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 του TT έναντι των CC+CT γονοτύπων (OR: 1.149, 95% CI: 1.001, 1.319) χωρίς ένδειξη για συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης. Μια θετική συσχέτιση βρέθηκε επιπλέον για το T έναντι του C αλληλομόρφου όταν αξιολογήθηκαν μόνο οι Καυκάσιοι (OR: 1.126, 95% CI: 1.010, 1.256) και για τις μελέτες που βρίσκονται σε ισορροπία Hardy-Weinberg για το TT έναντι των CC+CT γονοτύπων (OR: 1.193, 95% CI: 1.032, 1.380). Ανεπαίσθητες επιρροές αυτού του πολυμορφισμού ίσως γίνουν εμφανείς μόνο όταν πραγματοποιηθούν ευρείας κλίμακας μελέτες γενετικής επιδημιολογίας και ληφθούν υπόψη αλλαγές στην ηλικία, παχυσαρκία, αρτηριακή πίεση και ευαισθησία στην ινσουλίνη.

## ASSOCIATION OF THE GNB3 C825T POLYMORPHISM WITH DIABETES TYPE II

*Dimou N.L.<sup>1</sup>, Tsantes A.E.<sup>2</sup>, Nikolopoulos G.K.<sup>3</sup>, Hamodrakas S.J.<sup>1</sup>, Bagos P.G.<sup>4</sup>*

*<sup>1</sup>Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 157 01, <sup>2</sup>Laboratory of Hematology & Blood Bank Unit, Attikon General Hospital, School of Medicine, University of Athens, Haidari 124 62,<sup>3</sup>Hellenic Centre for Diseases Control and Prevention, 3rd September 54, Athens 10433,<sup>4</sup> Department of Computer Science and Biomedical Informatics, University of Central Greece, Papasiopoulou 2-4, Lamia 35100*

Type II diabetes is a complex disease of carbohydrate metabolism characterized by impairment in both insulin action and insulin secretion pathways. A C825T polymorphism of the gene encoding the G-protein b3 subunit (GNB3) is associated with the occurrence of alternative splicing, which causes the loss of 41 amino acids. Since insulin uses a G-sensitive mechanism involved in metabolic and vascular events, leading to enhanced glucose transport and vasodilatation, we hypothesized that the C825T polymorphism may be associated with the pathological events occurring in type II diabetes. To test this hypothesis we conducted a systematic review of the literature and a meta-analysis. We retrieved a total of 24 studies summarizing information about 4953 cases and 22677 controls. We calculated the specific Odds Ratio (OR.) along with their 95% Confidence Intervals (CI.) to compare the distribution of alleles and genotypes between cases and controls. Using random effect methods we found statistically significant association of TT vs. CC+CT genotypes (OR: 1.149, 95% CI: 1.001, 1.319) without any evidence of publication bias. A positive association was also found when assessing only Caucasians for T vs. C allele (OR: 1.126, 95% CI: 1.010, 1.256) and studies consistent with the Hardy Weinberg Equilibrium contrasting TT vs. CT+CC genotypes (OR: 1.193, 95% CI: 1.032, 1.380). Subtle effects of this polymorphism on glucose metabolism may become apparent only when large-scale genetic epidemiological studies are performed and changes in age, adiposity, arterial pressure and insulin sensitivity are taken into account.

**Η ΜΕΛΕΤΗ ΔΙΑΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΜΕ ΚΑΙ ΧΩΡΙΣ  
ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΥΣ: ΑΠΟ ΤΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΣΤΗ ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΠΙΣΩ***Διαλλινάς Γ.\**

*Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθήνας, Ελλάδα, Πανεπιστημιούπολη 15781,  
Αθήνα, Ελλάδα. E-mail: [diallina@biol.uoa.gr](mailto:diallina@biol.uoa.gr)*

Οι μοριακές δομές των πρωτεϊνών που αποκτώνται μέσω κρυσταλλογραφίας ή NMR συχνά αποκαλύπτουν βασικά στοιχεία της λειτουργίας τους. Παρόλο που σήμερα αρκετές χιλιάδες δομές υδρόφιλων πρωτεϊνών είναι διαθέσιμες, γνωρίζουμε τη δομή μόνο 187 μεμβρανικών πρωτεϊνών, εκ των οποίων <30 αφορούν μεταφορείς, κανάλια ή υποδοχείς, με σημαντικότερο ρόλο στη ζωή των κυττάρων. Αυτό οφείλεται στα υδρόφοβα και δυναμικά χαρακτηριστικά τους τα οποία κάνουν την εφαρμογή κρυσταλλογραφικών και NMR μεθόδων εξαιρετικά επίπονη. Επιπλέον, «λυμένες» δομές καναλιών ή μεταφορέων αποδείχθηκαν εσφαλμένες ως συνέπεια της διαδικασίας παραγωγής διαθλαστικών κρυστάλλων τους. Πρόσφατα ωστόσο δημοσιεύτηκαν κρυσταλλικές δομές σχετικά υψηλής ανάλυσης αρκετών μεταφορέων και καναλιών. Όλες αποτελούνται από 10-12 διαμεμβρανικές α-έλικες συνδεδεμένες με εξω- & ενδοκυτταρικές θηλιές. Η βασική διαφορά καναλιών και μεταφορέων έγκειται στο ότι στην πρώτη περίπτωση οι α-έλικες δημιουργούν ένα συνεχόμενο πόρο στον οποίο η πρόσβαση των ιόντων ελέγχεται από μοριακά στοιχεία στις εξόδους του πόρου (*gating*), ενώ στην περίπτωση των μεταφορέων δεν υπάρχει συνεχόμενος πόρος, υποδεικνύοντας την ύπαρξη δύο εναλλασσόμενων διαμορφώσεων όπου το κέντρο δέσμευσης των υποστρωμάτων είναι προσβάσιμο είτε ενδοκυτταρικά είτε εξωκυτταρικά. Πολύ πρόσφατες κρυσταλλογραφικές αναλύσεις υποστηρίζουν την ύπαρξη εναλλακτικών διαμορφώσεων σχετιζόμενων με την μεταφορά των υποστρωμάτων, αλλά και την ύπαρξη περιοχών που ελέγχουν ως δυναμικά φίλτρα την προσβασιμότητα των υποστρωμάτων στο σημείο δέσμευσης τους. Οι περιοχές αυτές ίσως εξελίχθηκαν για να προσδώσουν επιπλέον εξειδίκευση ή για να αποκλείσουν την διαρροή υποστρωμάτων σε λάθος κατεύθυνση. Εντούτοις, διάφορα ερωτήματα σχετικά με τη λειτουργία ενός μεταφορέα παραμένουν αναπάντητα, αν δεν ληφθεί μια πλήρης σειρά στατικών «στιγμιότυπων» όλων των διαμορφώσεων κατά τη διάρκεια της μεταφοράς. Γενετικές και βιοχημικές μελέτες που είναι πραγματοποιήσιμες μόνο σε πρότυπα βακτηρία και μύκητες αποτελούν εναλλακτικές και συμπληρωματικές προσεγγίσεις για την κατανόηση των σχέσεων λειτουργίας-δομής σε μεταφορείς. Θα συζητηθεί πώς τέτοιες μελέτες στον μεταφορέα UapA του ασκομύκητα *Aspergillus nidulans* παρέχουν εξαιρετικά πολύτιμες πληροφορίες για την κατανόηση της δομής και λειτουργίας μιας πολύ σημαντικής οικογένειας μεταφορέων. Η ζωή πριν και μετά από κρυστάλλους είναι, και θα συνεχίσει να είναι, συναρπαστική όσο υπάρχουν γενετικές προσεγγίσεις.

*(\*) προσκεκλημένος ομιλητής*



FROM FUNCTION TO STRUCTURE AND BACK: LIFE WITH & WITHOUT  
CRYSTALS IN TRANSMEMBRANE PROTEINS

*Diallinas G.\**

*Faculty of Biology, University of Athens, Greece, Panepistimioupolis 15781, Athens,  
Greece. E-mail: diallina@biol.uoa.gr*

Molecular structure obtained through X-ray crystallography or NMR can reveal important aspects of protein function. Today, several thousands of structures of hydrophilic proteins are presently available but we only know the structure of 187 membrane proteins, among which less than 30 concern transporters, channels or receptors, molecules that play crucial roles in cellular life. This is due to their nature, which makes the use of crystallographic or NMR approaches extremely laborious. Importantly, some 'solved' transmembrane protein structures were in fact artifacts due to the treatments applied for the production of refractile crystals. Recent years have however seen the publication of some relatively high-resolution crystal structures of channels or transporters. All include several (mostly 10-12)  $\alpha$ -helical transmembrane domains (TMD) connected by intracellular and extracellular loops. Their basic structural difference is that in channels several TMDs construct a selective gated pore, while in transporters there is no continuous pore, suggesting these carriers should have at least two alternating conformations, making them accessible to substrates either intracellularly (inward-facing) or extracellularly (outward-facing). The alternative conformations of transporters were supported by very recent work on several proteins. These studies also showed the existence of distinct *gating* domains which might have evolved to add extra specificity or prevention of leakage of substrates in the wrong direction<sup>1</sup>. However, several questions concerning the function of transporters will remain unanswered, unless a complete series of static snapshots of all the conformational states of the transport cycle is obtained for a single protein. As the efforts of making complete 'movies' of transporters in action are continuing, genetic and biochemical studies, uniquely carried out in model bacteria and fungi, constitute exciting alternative and complementary approaches. I will discuss how such studies on the UapA purine transporter of the ascomycete *Aspergillus nidulans* are providing extremely valuable information on the molecular elements underlying the structure and function of a very important transporter family<sup>2,3</sup>. Life before and after crystals is, and will continue to be, exciting when genetics are in use.

<sup>1</sup>Diallinas G. *Science*. 2008 322:1644-5.

<sup>2</sup>Diallinas G, Gournas C. *Channels*. 2008 2: 363-72

<sup>3</sup>Papageorgiou I, Gournas C, Vlanti A, Amillis S, Pantazopoulou A, Diallinas G. *J Mol Biol*. 2008 382:1121-35.

*(\*) invited speaker*

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ ΤΟΥ ΚΑΡΒΟΞΥΤΕΛΙΚΟΥ  
ΑΚΡΟΥ (BRCT) ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ BRCA1 ΣΤΗΝ ΔΟΜΙΚΗ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ,  
ΣΤΗΝ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΤΟΠΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ  
ΜΟΡΙΟΥ ΜΕ ΑΛΛΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ**

*Δρίκος Ι., Μπούτου Ε., Βοργιάς Κ.Ε.*

*Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο  
Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, 15701 Αθήνα, Ελλάδα E-mail: [cvorgias@biol.uoa.gr](mailto:cvorgias@biol.uoa.gr).*

Η ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη BRCA1 συμμετέχει στις διαδικασίες επιδιόρθωσης του γενετικού υλικού καθώς και στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου, αλληλεπιδρώντας με μεγάλο αριθμό πρωτεϊνών όπως οι BACH1, CtIP, p53 και Rad51. 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 θερμοκή 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 φωσφο-πεπτιδία, μελετήθηκε με μικροθερμιδομετρία μοριακής τιτλοδότησης (ITC). Τα αποτελέσματα βιοφυσικής ανάλυσης των μεταλλαγμένων καρβοξυτελικών τμημάτων BRCA1-BRCT (V1696L, M1652I, M1775K, M1783T, V1809F, P1812A) φανερώνουν την αλλαγή στην σταθερότητα του μορίου και την ικανότητα αλληλεπίδρασης με τα συνθετικά φωσφοπεπτιδία (pBACH1, pCtIP). Στην προσπάθεια μας να προσδιορίσουμε την επίδραση των συγκεκριμένων παθογόνων μεταλλάξεων του καρβοξυτελικού άκρου στην ενδοκυτταρική τοπολογία της BRCA1, δημιουργήθηκαν συζευγμένα μεταλλάγματα του καρβοξυτελικού άκρου της πρωτεΐνης BRCA1 με GFP και εισαχθήκαν σε κύτταρα MCF7 και HeLa. Η ανάλυση της ενδοκυτταρικής τοπολογίας των GFP-BRCA1-BRCT's καθώς και των p53 και Rad51, πραγματοποιήθηκε με μικροσκοπία ανάστροφου φθορισμού. Τα εξαχθέντα αποτελέσματα υποδεικνύουν την επίδραση των παθογόνων μεταλλάξεων στον ενδοκυτταρικό εντοπισμό των μεταλλαγμένων μορίων και δύναται να προσδιορίζουν την αποσταθεροποιητική επίδραση παθογόνων σημειακών μεταλλάξεων του καρβοξυτελικού άκρου στην δομή και την λειτουργία της πρωτεΐνης BRCA1.

**EFFECTS OF BRCA1-BRCT PROTEIN MUTANTS IN STRUCTURE,  
FUNCTION AND CELLULAR LOCALIZATION OF BRCA1 PROTEIN  
IN BREAST AND OVARIAN CANCER**

*Drikos I., Boutou E., Vorgias C.E.*

*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](mailto:cvorgias@biol.uoa.gr).*

The product of the *brca1* gene is central to recombination reactions and thus contributes significantly to maintain the integrity of the genome. BRCA1 protein is strongly involved in DNA repair and cell cycle control through interactions with other partner proteins like BACH1, CtIP, p53 and Rad51. Mutations at the two C-terminal tandem (BRCT) repeats of BRCA1, disrupting BRCA1 interactions with other proteins, were identified in breast tumor patients. Biophysical analysis on the secondary structure, the thermodynamic stability and the modification in binding capacity of the recombinant and purified wt and mutated BRCT domains with BACH1 and CtIP have already been studied *in vitro*, by employing Circular Dichroism Spectroscopy (CD), Differential Scanning Microcalorimetry (DSC) and Isothermal Titration Calorimetry (ITC). Our currently available biophysical experiments clearly demonstrated that certain pathogenic mutations (V1696L, M1652I, M1775K, M1783T, V1809F, P1812A) of the BRCA1-BRCT cause changes in the stability of the domain and influence the binding affinities with synthetic phosphopeptides, corresponding to BACH1 and CtIP binding sites. In order to investigate the effects of these pathogenic mutations of BRCA1-BRCT in protein's localization fused GFP-BRCA1 mutants demonstrated and expressed in MCF7 and HeLa cells. Analysis of the intracellular localization, as well as the co-localization-interactions with p53 and Rad51, were performed with fluorescence microscopy. The current preliminary experiments indicate that pathogenic mutations of BRCT domain with structurally unstable feature *in vitro*, affect the intracellular localization of the BRCA1 protein and its "cross-talk" with other protein partners. The anticipated results will support the elucidation of the effect of various pathogenic BRCT mutations on the miss-function of BRCA1 nuclear DNA repair replication and cell cycle control at the protein level.

**ΤΑ ΕΞΩΣΩΜΑΤΙΑ ΕΜΠΛΕΚΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΕΚΚΡΙΣΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΑ  
ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΗ  $\alpha$ -ΣΥΝΟΥΚΛΕΪΝΗΣ ΣΤΟΝ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΟ ΧΩΡΟ**

*Εμμανουηλίδου Ε.<sup>1</sup>, Μελαχροινού Κ.<sup>1</sup>, Ρουμελιώτης Θ.<sup>2</sup>, Γαρμπής Σ.<sup>2</sup>, Τζούνη  
Μ.<sup>3</sup>, Μαργαρίτης Λ.Χ.<sup>3</sup>, Στεφανής Λ.<sup>1</sup>, Βεκρέλλης Κ.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Εργαστήριο Νευροεκφυλιστικών Νόσων, ΙΙΒΕΑΑ, Αθήνα, <sup>2</sup>Εργαστήριο  
Πρωτεομικής, ΙΙΒΕΑΑ, Αθήνα, <sup>3</sup>Τομέας Βιολογίας Κυττάρων & Βιοφυσικής, Τμήμα  
Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Αθήνα*

Η πρωτεΐνη  $\alpha$ -συνουκλεΐνη (AS) αποτελεί σημαντικό παράγοντα παθογένειας της νόσου του Πάρκινσον. Μέχρι πρόσφατα, η AS θεωρείτο ως μία ενδοκυττάρια πρωτεΐνη με ενδοκυττάρια τοξική δράση. Παρόλα αυτά, η AS φαίνεται να εκκρίνεται από κυτταρικές σειρές και πρωτογενείς καλλιέργειες νευρώνων. Υπάρχει λοιπόν η πιθανότητα η εκκρινόμενη AS να μπορεί να εκδηλώσει παρακρινή δράση σε γειτονικά κύτταρα. Στο κυτταρικό μας μοντέλο, η AS εκκρίνεται σε ικανοποιητικές ποσότητες στο θεραπευτικό μέσο κυττάρων SHSY5Y που εκφράζουν τη φυσικού τύπου AS (ή  $\beta$ -γαλακτοσιδάση ως μάρτυρας) κατόπιν επαγωγής, η οποία εξαρτάται από το σύστημα της τετρακυκλίνης (TET-off). Η έκκριση αυτή AS είναι φυσιολογική και συνεχόμενη. Μελετήσαμε τα επίπεδα εκκρινόμενης AS έπειτα από χορήγηση χημικών ουσιών που δρουν ως ρυθμιστές των συμβατικών και μη συμβατικών μονοπατιών έκκρισης. Η έκκριση φαίνεται να γίνεται μέσω ενός μονοπατιού ανεξάρτητου από το κλασσικό μονοπάτι έκκρισης, το οποίο εξαρτάται από τη θερμοκρασία και την παρουσία ορού στο θεραπευτικό μέσο. Αύξηση των ενδοκυττάρων επιπέδων ασβεστίου καθώς και χρήση ασθενών βάσεων όπως μεθυλαμίνη και χλωροκίνη αύξησε σημαντικά τα επίπεδα της εκκρινόμενης AS, υποδηλώνοντας εμπλοκή του μονοπατιού της ενδοκύττωσης. Τα αποτελέσματά μας επίσης δείχνουν ότι η εξωκύττωση της AS συνδέεται με μεμβρανικά κυστίδια. Απομόνωση αυτών των κυστιδίων και χαρακτηρισμός τους με ηλεκτρονική μικροσκοπία έδειξε ότι έχουν μορφολογία εξωσωμάτων. Πρωτεομική ανάλυση επιβεβαίωσε την παρουσία πρωτεϊνών που χαρακτηρίζουν τα εξωσώματα. Συνοψίζοντας, προτείνουμε σαν πιθανότερο μηχανισμό έκκρισης της AS τη σύντηξη εξωσωμάτων με την κυτταροπλασματική μεμβράνη.

## **NATURALLY PRODUCED ALPHA-SYNUCLEIN SPECIES ARE SECRETED IN ASSOCIATION WITH EXOSOMES**

*Emmanouilidou E.<sup>1</sup>, Melachroinou K.<sup>1</sup>, Roumeliotis T.<sup>2</sup>, Garbis S.<sup>2</sup>, Ntzouni M.<sup>3</sup>,  
Margaritis L.H.<sup>3</sup>, Stefanis L.<sup>1</sup>, Vekrellis K.<sup>1</sup>.*

*<sup>1</sup>Lab for Neurodegenerative Diseases, BRFAA, Athens, Greece, <sup>2</sup>Proteomics Facility,  
BRFAA, Athens, Greece, <sup>3</sup>Section of Cell Biology & Biophysics, Dept. of Biology,  
University of Athens, Athens, Greece*

Alpha-synuclein (AS), a natively unfolded protein, is linked genetically and biochemically to Parkinson's Disease (PD). The aberrant function of AS that is responsible for PD is not understood, although abnormal folding and aggregation may play a role. Being a classical cytosolic protein, AS was considered to exert its pathogenic effects in the cytoplasm of the cells. However, it was recently shown that AS can be found in secretory vesicles and is naturally secreted into the extracellular medium of AS overexpressing cells. It is possible that secreted AS can impact cell homeostasis in a paracrine manner. To investigate the underlying mechanisms of neurotoxicity caused by secreted AS we have generated WT AS and  $\alpha$ -galactosidase-inducible SHSY5Y cell lines using the Tet-off regulatory system. Abundant soluble oligomeric and monomeric species of AS are readily detected in the conditioned media (CM) of these cells. The secretion we observe is physiological and not the effect of cytoplasmic spillage due to cell death. In our cell model, AS is constitutively secreted by a non-classical, temperature-dependent pathway which is enhanced in serum-free conditions. Elevation of intracellular calcium concentration resulted in a significant increase in extracellular AS. Moreover, AS release was significantly induced in the presence of weak bases, such as methylamine and chloroquine, implicating that the endocytic pathway could be involved in AS export. Interestingly, we have found that secreted AS is associated with externalized membrane vesicles. Isolation and characterization of these vesicles by electron microscopy demonstrated that they possess similar morphological characteristics with exosomes, small capped-shaped vesicles found in the lumen of multivesicular bodies. The presence of exosome-specific proteins was also verified by western blot analysis. LC-MS proteomic studies revealed the presence of common, as well as cell-type specific, proteins. We suggest that exosomes are responsible, at least in part, for the release of AS in the extracellular space.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΩΝ ΜΟΝΟΠΑΤΙΩΝ ΠΟΥ ΕΜΠΛΕΚΟΝΤΑΙ  
ΣΤΗΝ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΚΑΡΔΙΑΚΩΝ ΜΥΟΒΛΑΣΤΩΝ H9C2 ΚΑΤΑ ΤΗΝ  
ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΙΣΧΑΙΜΙΑΣ**

*Ζαβιτσάνου Σ., Αγγελή Ι.Κ., Γαϊτανάκη Αικ. και Ι. Μπέης.*

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

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. Πληθώρα ερευνητών έχουν επικεντρώσει τις προσπάθειές τους στη διερεύνηση των σηματοδοτικών μηχανισμών που ρυθμίζουν την κυτταρική απόκριση κάτω από αυτές τις συνθήκες. Στην παρούσα εργασία, χρησιμοποιήθηκε κατάλληλα τροποποιημένο διάλυμα με το οποίο προσομοιώνονται συνθήκες ισχαιμίας και μελετήθηκαν σε καρδιακούς μυοβλάστες H9c2: η επιβίωση των κυττάρων καθώς και τα επίπεδα φωσφορυλίωσης των ERKs και της p38 MAPK (υποοικογενειών των MAPKs) κατά την ισχαιμία (ΙΣΧ) και την επαναιμάτωση (ΕΠ). Η ανάλυση της επίδρασης ΙΣΧ για αυξανόμενους χρόνους (από 0,5 έως και 4 ώρες) στη βιωσιμότητα των κυττάρων πραγματοποιήθηκε μέσω χρώσης με trypan blue, οπότε και παρατηρήθηκε σταδιακή μείωσή της που μεγιστοποιήθηκε στις 4 ώρες [55,85±4,7% έναντι του μάρτυρα, 94±0,57%]. Αντιθέτως, τα ποσοστά βιωσιμότητας φάνηκε ότι ανέκαμψαν κατά την ΕΠ, ήδη από τα πρώτα 30 λεπτά [89,24±2,07%]. Παρόμοια αποτελέσματα προσδιορίστηκαν και με τη μέθοδο της *in vitro* κυτταροτοξικότητας (MTT). Σε ότι αφορά στις κινάσες που ανιχνεύθηκαν, μέγιστα επίπεδα φωσφορυλίωσης της p38-MAPK προσδιορίστηκαν ήδη από τα 30 λεπτά ΙΣΧ [4,77±0,13-φορές σε σχέση με το μάρτυρα] ενώ μειώθηκαν σταδιακά κατά την ΕΠ. Αντίθετα, τα επίπεδα φωσφορυλίωσης των ERKs βρέθηκαν αυξημένα σε μεγαλύτερο βαθμό κατά την ΕΠ σε σύγκριση με την επίδραση ΙΣΧ [11,48±1,13-φορές στις 2 ώρες ΙΣΧ / 24 ώρες ΕΠ έναντι 2,02±0,74-φορές στις 2 ώρες ΙΣΧ]. Επιπρόσθετα, παρουσία του αναστολέα των ERKs, PD98059, βρέθηκε ότι μειώνεται το ποσοστό επιβίωσης των κυττάρων κατά την επίδραση 4 ωρών ΙΣΧ / 4 ωρών ΕΠ [χωρίς PD: 90,12% ενώ με PD: 80,82%]. Το αποτέλεσμα αυτό είναι ενδεικτικό του προστατευτικού ρόλου των ERKs στην ανάκαμψη και επιβίωση των καρδιακών κυττάρων.

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

**STUDY OF THE SIGNALING PATHWAYS INVOLVED IN H9C2 CARDIAC  
MYOBLAST RESPONSE DURING SIMULATED ISCHEMIA**

*Zavitsanou S., Aggeli I.K., Gaitanaki C., and I. Beis*

*Department of Animal & Human Physiology, School of Biology, University of Athens,  
Panepistimioupolis Ilissia, 157 84 Athens*

One of the most significant insults that cardiomyocytes have to face is a surge in the levels of reactive oxygen species (ROS) i.e. during ischemia, reperfusion and arrhythmias. A plethora of researchers have focused on studying the signaling mechanisms that regulate the cellular response under these conditions. At the present study, a properly modified Krebs buffer has been used in order to simulate ischemia and the following parameters were investigated: cell survival of H9c2 cardiac myoblasts, along with the phosphorylation levels of ERKs (extracellular signal-regulated protein kinases) and p38 MAPK (subfamilies of MAPKs), during ischemia (I) and reperfusion (R). Analysis of the effect of increasing times of ischemia (0,5 to 4 hours) on cell viability was performed with trypan blue staining with a gradual decrease having been observed, maximized at 4h [55,85±4,7% vs control: 94±0,57%]. On the contrary, viability levels were found to be reversed during R, even after the first 30min of R [89,24±2,07%]. Similar results were obtained using the in vitro cytotoxicity (MTT) method. As far as the kinases which were investigated are concerned, maximum p38 MAPK phosphorylation levels were observed at 30min I [4,77±0,13 -fold compared to the control] whereas they gradually decreased during R. On the contrary, phosphorylation levels of ERKs were found to be considerably augmented to a greater degree during R rather than [11,48±1,13-fold at 2h I / 24h R vs 2,02±0,74-fold at 2h I]. In addition, in the presence of PD98059 (ERKs inhibitor), cell viability was found to be further decreased during 4h I / 4h R [without PD: 90,12% whereas with PD: 80,82%]. This result is probably indicative of the protective role of ERKs which appear to contribute to the recovery and survival of cardiac cells.

*This work was funded by grants from the Special Research Account.*

**ΤΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΤΩΝ ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΩΝ ΑΛΛΑΓΩΝ ΣΤΙΣ ΣΩΜΑΤΙΚΕΣ  
ΑΝΑΛΟΓΙΕΣ ΤΩΝ ΕΛΛΗΝΩΝ ΕΦΗΒΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ  
ΤΕΛΕΥΤΑΙΑΣ 20ΕΤΙΑΣ (1988-2008)**

*Ζαφειράτου Σ., Παπαχριστοφόρου Χ., Νικηφόρου Μ., Παπαβασιλείου Σ.  
και Σ.Κ. Μανώλης*

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο  
Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 84 Αθήνα, E-mail: [smanol@biol.uoa.gr](mailto:smanol@biol.uoa.gr)*

Μια δευτερογενής τάση είναι μια προοδευτική αλλαγή στη διάρκεια του χρόνου. Οι δευτερογενείς τάσεις στα μορφολογικά γνωρίσματα που εκτείνονται στα τελευταία 200 χρόνια είναι καλά τεκμηριωμένες. Γενικά, είναι περιγραφές των αλλαγών στο βάρος, στο ανάστημα, και σε δείκτες ωριμότητας. Πολλοί παράγοντες συμβάλλουν στις δευτερογενείς τάσεις των ανθρωπομετρικών διαμέτρων. Αν και η κύρια αιτία των αλλαγών παραμένει άγνωστη, μερικές από τις συχνότερα αναφερόμενες πιθανότητες είναι η βελτιωμένη υγεία και διατροφή, οι εναλλασσόμενοι ρυθμοί ανάπτυξης και ωρίμανσης, και οι κοινωνικο-οικονομικές αλλαγές. Μόνο κάποιες μελέτες έχουν εξετάσει δεδομένα ανάπτυξης εφήβων αγοριών και κοριτσιών στην Ελλάδα. Αυτή η μελέτη εξετάζει αναπτυξιακά δεδομένα Ελλήνων εφήβων (και των δύο φύλων) ηλικίας 12-15 ετών. Τα cross-sectional αναπτυξιακά δεδομένα από ένα δείγμα ελλήνων εφήβων συγκρίθηκε με εθνικά (1981) κι άλλα δεδομένα πρόσφατων μελετών (2001, 2008). Ο στόχος είναι να εκτιμηθούν δευτερογενείς αλλαγές σε βάρος, ύψος και MBI και αρκετές άλλες διαμέτρους και δείκτες κατά τη διάρκεια των 2 τελευταίων δεκαετιών (1998-2008), στους Έλληνες εφήβους. Ερευνήσαμε ακόμη το αυξημένο βάρος και την παχυσαρκία στους Έλληνες εφήβους. Έχουν συλλεχθεί ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά από ένα δείγμα 2096 εφήβων (1189 αγόρια και 907 κορίτσια) ηλικίας 12-15 ετών από διάφορες ελληνικές πόλεις (από τον πρώτο συγγραφέα). Τα αγόρια του δείματός μας είναι ψηλότερα και βαρύτερα από τα ελληνικά εθνικά δεδομένα αναφοράς σε ηλικίες 12-13 έτη. Τα κορίτσια είναι επίσης ψηλότερα και βαρύτερα από τη διεθνή αναφορά σε όλες τις ηλικίες. Ένα άλλο εύρημα είναι η μείωση του ύψους σε καθιστή στάση και η επακόλουθη αύξηση του μήκους των ποδιών (και στα δύο γένη). Τα δεδομένα επιπλέον αποκαλύπτουν πως 12% και των δύο φύλων ήταν υπέρβαρα και μόνο 3% ήταν παχύσαρκα, αλλά στα κατοπινά έτη η παχυσαρκία αυξάνεται ραγδαία με βάση πρόσφατα δεδομένα. Αυτά τα ευρήματα υποδεικνύουν την ύπαρξη δευτερογενών αλλαγών στο πρότυπο ανάπτυξης των Ελλήνων εφήβων. Αυτές οι παρατηρήσεις μπορεί να αντανakλούν τον αντίκτυπο της βελτιωμένης οικονομικής κατάστασης της Ελλάδας κατά τις 3 τελευταίες δεκαετίες.



**PATTERN OF SECULAR CHANGES IN BODY PROPORTIONS  
OF GREEK ADOLESCENTS DURING THE LAST 20 YEARS  
(1988-2008)**

*Zafiratou S.C., Papachristoforou Chr., Nikiforou M., Papabasileiou S.,  
and S.K. Manolis*

*Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, National &  
Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis 15784 Athens, Greece.*

*E-mail: [smanol@biol.uoa.gr](mailto: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, and/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 the socioeconomic status. Only a few studies have examined growth data from adolescent boys and girls in Greece. This study examines growth data from Greek adolescents (both genders) aged 12-15 years. Cross-sectional growth data from a sample of Greek adolescents was compared to National Reference Data (1981), and other data from recent studies (2001, 2008). The objective is to evaluate secular changes in weight, height and MBI, and several other diameters and indices during the last 2 decades (1988-2008), in Greek adolescents. We also investigated the overweight and obesity among Greek adolescents. Anthropometric data were collected from a sample of 2096 adolescents (1189 boys and 907 girls) aged 12-15 years living in various Greek cities (by the first author, SCZ). Boys of our sample are taller and heavier than the National Greek Reference Data in the ages 12-13 years. Girls are also taller and heavier than the National Reference girls at all ages. Another finding is the decrease of sitting height and the subsequent increase in leg length (both genders). The data also reveal that 12,0% of both genders were overweight and only 3,00% were obese, but in the following years the obesity rapidly increases based on recent data (2008). These findings suggest the presence of secular changes in the growth pattern of Greek adolescents. These observations may reflect the impact of the improved economic situation of Greece during the last 3 decades.

**ΘΕΩΡΗΤΙΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΩΝ ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΩΝ ΟΡΓΑΝΩΣΗΣ ΤΗΣ  
ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΤΩΝ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ ΣΕ ΒΑΚΤΗΡΙΑ****Ζαχαριουδάκης Γ.Σ.Α.**

*Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας  
Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών.  
E-mail: [gzachar@biol.uoa.gr](mailto:gzachar@biol.uoa.gr)*

Η ολοένα λεπτομερέστερη ανάλυση της λειτουργίας του κυττάρου αποκαλύπτει ότι υπάρχει οργάνωση στο χώρο ακόμα και για στοιχειώδεις μεταβολικές οδούς. Χαρακτηριστικό πρόσφατο παράδειγμα είναι το "πουρινόσωμα" σε ευκαρυωτικά κύτταρα, όπου τα ένζυμα της σύνθεσης των πουρινών εμφανίζονται σε ένα παροδικά σχηματιζόμενο σύμπλοκο (An *et al.*, Science 302, 103). Στην παρούσα εργασία διερευνάται η πιθανότητα ύπαρξης ανάλογων μορφών οργάνωσης σε βακτηριακά κύτταρα, με βάση ορισμένα "επαναλαμβανόμενα" χαρακτηριστικά που εμφανίζονται στη σύνθεση των αμινοξέων.

**THEORETICAL CONSIDERATIONS ON THE POSSIBILITIES OF SPATIAL  
ORGANIZATION OF AMINO ACID SYNTHESIS IN BACTERIA**

*Zacharioudakis G.S.A.*

*Faculty of Biochemistry & Biotechnology, University of Thessaly  
Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens  
E-mail: [gzachar@biol.uoa.gr](mailto:gzachar@biol.uoa.gr)*

The advances in detailed analysis of cellular function reveal that even elementary metabolic pathways display spatial organization. Among the recent examples is the "purinosome" in eucaryotic cells, where a reversible compartmentalization of de novo purine biosynthetic enzymes was shown (An *et al.*, Science 302, 103). In the present work some theoretical considerations are made, concerning the eventual existence of analogous organization of bacterial amino acid synthesis. The arguments are based on certain recurrent motifs present in these biosynthetic pathways.

**ΟΜΟΛΟΓΗ ΥΠΕΡ-ΕΚΦΡΑΣΗ ΞΥΛΑΝΟΛΥΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ ΣΤΟ  
ΜΥΚΗΤΑ *FUSARIUM OXYSPORUM***

**Ζέρβα Α.Π., Ανασοντζής Γ.Ε., Σταθοπούλου Π.Μ. και Δ.Γ. Χατζηνικολάου**

Ομάδα Μικροβιολογίας, Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας Εθνικό και  
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθήνας, Πανεπιστημιούπολη, 157 84 Ζωγράφου,  
Αττική, E-mail: [xatzdim@biol.uoa.gr](mailto:xatzdim@biol.uoa.gr)

Ο νηματοειδής μύκητας *Fusarium oxysporum*, ως φυτοπαθογόνος μικρο-οργανισμός, διαθέτει ένα ολοκληρωμένο ενζυμικό σύστημα για τη διάσπαση των συστατικών του κυτταρικού τοιχώματος των φυτών. Παράλληλα έχει την ικανότητα να ζυμώνει απλά σάκχαρα (γλυκόζη, ξυλόζη) προς αιθανόλη με σχετικά υψηλή παραγωγικότητα. Για τη διάσπαση της ξυλάνης, ενός μεγάλου MB φυτικού πολυσακχαρίτη που αποτελείται κυρίως από αλυσίδες ξυλόζης και αποτελεί βασικό συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος, ο μικρο-οργανισμός παράγει ποικιλία ξυλανασών. Οι ξυλανάσες χρησιμοποιούνται σήμερα σε διάφορους τομείς της βιομηχανίας, όπως στην παραγωγή χαρτιού και ζωοτροφών, στην αρτοποιία και στα απορρυπαντικά. Στην παρούσα εργασία επιτεύχθηκε η ομόλογη υπερέκφραση ενός εκ των ξυλανολυτικών ενζύμων του *F. oxysporum* και συγκεκριμένα της ενδο-β-1,4- ξυλανάσης II, υπό τον έλεγχο του υποκινητή συνεχούς έκφρασης του *gpdA* του *Aspergillus nidulans*. Στο φυσικό στέλεχος, το ένζυμο αυτό επάγεται από την παρουσία ξυλάνης και καταστέλλεται από την παρουσία γλυκόζης στο περιβάλλον του μικροοργανισμού. Η επιτυχία του μετασχηματισμού επιβεβαιώθηκε με υβριδισμό κατά Southern και northern. Τα τροποποιημένα στελέχη, κατά την ανάπτυξή τους σε θρεπτικό υπόστρωμα με γλυκόζη ως μοναδική πηγή άνθρακα, παρήγαγαν υψηλά επίπεδα ξυλανάσης στο υγρό καλλιέργειας. Τα εν λόγω στελέχη μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή και εύκολη απομόνωση της ξυλανάσης για βιομηχανική χρήση, ενώ ενδέχεται να έχουν αυξημένη παραγωγή αιθανόλης σε διεργασίες ενός σταδίου, σε σύνθετα λιγνινοκυτταρινούχα υποστρώματα.

## HOMOLOGOUS OVEREXPRESSION OF XYLANOLYTIC ENZYMES IN FUNGUS *FUSARIUM OXYSPORUM*

Zerva A.P., Anasontzis G.E., Stathopoulou P.M., and D.G. Hatzinikolaou

Microbiology Laboratory, Sector of Botany, Department of Biology, National and  
Kapodistrian University of Athens, 157 84, Zografou, Athens, Greece.

E-mail: [xatzdim@biol.uoa.gr](mailto:xatzdim@biol.uoa.gr)

*Fusarium oxysporum* is a plant pathogenic, filamentous fungus, that produces a complete enzymatic system for the degradation of the plant cell wall polysaccharides. It is also capable of fermenting various sugar monomers (glucose, xylose), directly to ethanol with relatively high yield. In order to break down xylan, a major plant polysaccharide, the fungus produces a variety of xylanases, which can be used in various industrial applications, such as in the paper, bread, detergents and animal feed manufacturing. In the present work, homologous overexpression of the xylanolytic enzyme endo-  $\beta$ - 1,4- xylanase 2 has been achieved, under the control of the *Aspergillus nidulans gpdA* promoter. In the wild type strain, the expression of this enzyme is triggered by the presence of xylan in the medium and repressed by the presence of glucose. The effectiveness of the transformation was certified by Southern and northern blot analysis. The transformants produced high levels of xylanase in the culture liquid, during growth in medium with glucose as sole carbon source. These transformants can be used for the industrial production of xylanase from simple sugars. They could also be used in fermentation processes for ethanol production using lignocellulosic substrates.

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΔΥΟ ΙΣΟΜΟΡΦΩΝ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ  
COUP-TF, ΣΤΟΝ ΑΧΙΝΟ *Paracentrotus lividus*****Ζήνωνος Ζ.Α. και Κ.Ν. Φλυτζάνης**

Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Τμήμα Βιολογίας,  
Σχολή Θετικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα, 26500.  
E-mail: [zenonaszinon@upatras.gr](mailto:zenonaszinon@upatras.gr)

Οι COUP-TFs (Chicken Ovalbumin Upstream Promoter – Transcription Factors) είναι ορφανοί πυρηνικοί υποδοχείς που ανήκουν στην υπερικογενεία των υποδοχέων στεροειδών/θυρεοειδών ορμονών. Εμφανίζουν μεγάλη ομολογία σε όλα τα μεταζωα και εκφράζονται κατά προτίμηση στο νευρικό σύστημα. Εκτός της συντηρημένης αλληλουχίας τους, επίσης συντηρημένες είναι και οι θέσεις των εσονίων στους διάφορους οργανισμούς ενώ, μέχρι πρόσφατα, δεν είχε παρατηρηθεί εναλλακτικό μάτισμα. Ωστόσο έχουμε δείξει ότι στα εχινόδερμα, υπάρχουν δύο μεταγράφα, αποτέλεσμα εναλλακτικού ματίσματος ενός μικρού εξωνίου 63 bps. Τα δύο mRNAs παράγουν δύο πρωτεΐνες, η μεγαλύτερη εκ των οποίων περιέχει 21 επιπρόσθετα αμινοξέα στην καρβοξυτελική επέκταση της περιοχής πρόσδεσης στο DNA (DBD). Πειράματα EMSA έδειξαν ότι η μικρή ισομορφή του COUP-TF, ως ομοδιμερές, προσδένεται με διαφορετική συγγένεια σε όλα τα στοιχεία απόκρισης που εξετάστηκαν. Η μεγάλη ισομορφή εν αντιθέσει δεν προσδένεται αποτελεσματικά σε κανένα από αυτά τα στοιχεία απόκρισης, ούτε ως ομοδιμερές ούτε ως ετεροδιμερές με τη μικρή ισομορφή. Επίσης, πειράματα ανοσοφθορισμού, έχουν δείξει ότι σε έμβρυα αχινού στο στάδιο των 16 κυττάρων, η μεγάλη πρωτεΐνη εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα, ενώ για τη μικρή πρωτεΐνη είναι γνωστή η παρουσία της στον πυρήνα. Ο σκοπός της εργασίας αυτής είναι η μελέτη του ρόλου της ένθεσης των 21 αμινοξέων στην μεγάλη ισομορφή, όσον αφορά στην κυτταρική διαμερισματοποίηση και στη συγγένεια πρόσδεσης στο DNA. Στην ένθεση αυτή υπάρχουν δύο προλίνες. Η προλίνη γενικότερα βρίσκεται σε σημεία όπου μία πρωτεΐνη κάμπτεται. Η υπόθεσή μας είναι ότι οι προλίνες αυτές παίζουν σημαντικό ρόλο στη στερεοδιαμόρφωση της πρωτεΐνης, που με τη σειρά της είναι υπεύθυνη για τις αλλαγές που παρατηρούνται στην μεγάλη ισομορφή, ως προς την συγγένεια πρόσδεσης στο DNA και την κυτταρική διαμερισματοποίηση, σε σχέση με την μικρή. Για να ελέγξουμε την υπόθεση αυτή μεταλλάσσουμε τις δύο προλίνες της μεγάλης ισομορφής σε αλανίνες, παράγουμε τις μεταλλαγμένες πρωτεΐνες *in vitro* και προσδιορίζουμε τη συγγένεια πρόσδεσης στο DNA με πειράματα EMSA. Τις ίδιες μεταλλάξεις πραγματοποιούμε και στη χιμαιρική πρωτεΐνη που αποτελείται από τη μεγάλη ισομορφή και τη πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη, ώστε να μελετήσουμε την ενδοκυτταρική κατανομή της μεγάλης COUP-TF ισομορφής.

## **THE ROLE OF THE TWO COUP-TF'S ISOFORMS, IN SEA URCHIN**

*Paracentrotus lividus*

*Zenonos Z.A., and C.N. Flytzanis*

*Division of Genetics, Cellular Biology and Development, Department of Biology, School  
of Natural Sciences, University of Patras, 26 500 Patras, Greece*

*E-mail: [zenonaszinon@upatras.gr](mailto:zenonaszinon@upatras.gr)*

COUP-TFs (Chicken Ovalbumin Upstream Promoter–Transcription Factors) are orphan nuclear receptors which belong to the steroid/thyroid hormone receptor superfamily. They are extremely homologous in metazoans and they are expressed preferentially in the nervous system. Apart from their conserved sequence, the positions of the introns are also conserved in various organisms and no alternative splicing had been detected until recently. However we have shown that in echinoderms alternative splicing of the COUP-TF's primary transcript leads into two mRNAs, which encode two isoforms that differ by a 21 amino acid insertion into the Carboxy Terminal Extension (CTE) of the DNA Binding Domain (DBD). EMSA experiments with the use of in vitro translated proteins, revealed that the larger isoform is incapable of binding any COUP-TF response elements. Furthermore in the presence of the large isoform the small 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 16-cell embryo whereas the small isoform resides in the nucleus. Our aim is to investigate the role of the 21 amino acid insertion in the large isoform, regarding the cellular localisation and the DNA binding affinity. In sea urchins, the CTE insertion of the large variant contains 2 Prolines. Generally, proline is an amino acid where a protein bends. Our hypothesis is that these two prolines may play an important role in the protein's conformation, which in turn is responsible for the cellular localization and the loss of DNA binding. To check this, we mutated the two prolines to alanines in the large COUP-TF variant and in a chimaeric protein composed of the large COUP-TF isoform and GFP. Our in vitro translated mutant proteins are tested for DNA binding by EMSA experiments and for their subcellular localization by microinjecting the corresponding RNAs in sea urchin eggs and following GFP's fluorescence.

**ΜΟΡΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΚΙΝΑΣΗΣ ΤΗΣ ΚΑΖΕΙΝΗΣ 2 (CK2) ΣΤΗ  
ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΜΥΓΑ *Ceratitis capitata* ΚΑΙ ΣΤΟ ΜΥΔΙ *Mytilus  
galloprovincialis*****Θανοπούλου Κ., Κολαΐτη Ρ.-Μ. και Σ. Κουγιανού-Κουτσούκου**Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας  
Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστημιόπολις, Αθήνα 15701

Η κινάση της καζεΐνης 2 (CK2) είναι μια πολυ-λειτουργική κινάση που φωσφορυλιώνει θέσεις Σερίνης/ Θρεονίνης και Τυροσίνης, με σημαντικό ρόλο σε πολλές κυτταρικές λειτουργίες, όπως η κυτταρική αύξηση και διαφοροποίηση, ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός και η κυτταρική επιβίωση. Η CK2 αποτελείται από δυο καταλυτικές ( $\alpha$  και/η  $\alpha'$ ) και δυο ρυθμιστικές υπομονάδες ( $\beta$ ) και ρυθμίζει την μεταφραστική ενεργότητα των ριβοσωμάτων με αντιστρεπτή φωσφορυλίωση των Ρ-πρωτεϊνών που συνιστούν τον μίσχο  $P0(P1/P2)_2$  της μεγάλης ριβοσωμικής υπομονάδας. Ο μίσχος αλληλεπιδρά με το mRNA, τα tRNAs και τους μετα-φραστικούς παράγοντες κατά την πρωτεϊνοσύνθεση. Στην παρούσα μελέτη περιγράφεται η απομόνωση των cDNA μορίων της κινάσης CK2 της μεσογειακής μύγας *Ceratitis capitata* και του μυδιού *Mytilus galloprovincialis*. Αρχικά έγινε κατασκευή δύο κεντρικών τμημάτων των cDNA μορίων της κινάσης CK2α της *C. capitata* και του *M. galloprovincialis*, μεγέθους 410 bp και 459 bp, αντίστοιχα, με τη μέθοδο PCR. Η προβλεπόμενη αμινοξική αλληλουχία των τμημάτων αυτών εμφανίζει μεγάλη ομολογία με τις αντίστοιχες κινάσες άλλων ευκαρυωτικών ειδών. Στη συνέχεια έγινε προσδιορισμός του 5' άκρου του cDNA μορίου της κινάσης CK2α του *M. galloprovincialis* με τη μέθοδο 5' RACE, ενώ βρίσκονται σε εξέλιξη πειράματα για το 3' άκρο της CK2α του μυδιού και τα 5' και 3' άκρα της μύγας. Μελετήθηκε, επίσης, η ενεργότητα της κινάσης CK2 της *C. capitata* σε ολικό κυτταρικό εκχύλισμα ωοθηκών, χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα ανασυνδυασμένες ριβοσωμικές πρωτεΐνες MgP1 και MgP2 του *M. galloprovincialis*.

Το πρόγραμμα αυτό χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΛΚΕ 2008, 70/4/7803 στην Σ.Κ) και το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών (ΙΚΥ στην Ρ.Μ.Κ.).



**MOLECULAR STUDY OF CASEIN KINASE 2 (CK2) IN THE  
MEDITERRANEAN FLY *Ceratitis capitata* AND THE MUSSEL *Mytilus  
galloprovincialis***

***Thanopoulou K., Kolaiti R.-M., and S. Kouyanou-Koutsoukou***

*National and Kapodistrian University of Athens, Faculty of Biology, Department of  
Genetics and Biotechnology, Panepistimiopolis, Athens 15701*

Casein kinase 2 (CK2) is a ubiquitous and pleiotropic kinase that phosphorylates serine/threonine and tyrosine residues and plays an important role in many cellular functions, such as cell growth and differentiation, proliferation and survival. CK2 is composed by two catalytic (a and/or a') and two regulatory (b) subunits and regulates the ribosomal activity during protein synthesis by reverse phosphorylation of the ribosomal P-proteins that consists the pentameric protein stalk, P0(P1/P2)<sub>2</sub> of the large ribosomal subunit and interacts with mRNA, tRNAs and translational factors. We present here the isolation of the cDNA molecules of CK2 kinase in the Mediterranean fly *Ceratitis capitata* and the mussel *Mytilus galloprovincialis*. Initially, two central parts of the cDNA molecules of *C. capitata* and *M. galloprovincialis* CK2a were constructed, of 410 bp and 459 bp respectively, by the PCR method. Their predicted amino acid sequences showed great similarity with the homologue kinases of other eukaryotic species. The sequence at the 5' end of *M. galloprovincialis* CK2a cDNA was then determined by the rapid amplification of 5' cDNA end (5' RACE) assay, while the same procedure is currently followed for the determination of the sequence at the 3' end of the mussel CK2 $\alpha$  and the 5' and 3' ends of the fly. The kinase activity of *C. capitata* CK2 was also studied in total cell extract extracts from ovaries, using as substrate purified recombinant ribosomal proteins MgP1 και MgP2 of *M. galloprovincialis*.

*This project has been supported by the Special Account for Research Grants of Athens University (SARG 2008, 70/4/7803 to SK) and by the National Fellowship Foundation (IKY), (fellowship to RMK).*

**ΕΠΑΓΩΓΗ ΜΙΚΡΟΠΥΡΗΝΩΝ ΣΕ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΑ ΨΑΡΙΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ  
ΕΠΙΔΡΑΣΗ 2-ΧΛΩΡΟΦΑΙΝΟΛΗΣ****Θεοδωρίδης Ι., Βλαστός Δ.**

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

Η αλόγιστη χρήση κι απόρριψη στο περιβάλλον διαφόρων χημικών ρυπαντών από τον άνθρωπο, αυξάνει την υποβάθμιση των υδάτινων οικοσυστημάτων. Έναν διαδεδομένο ρυπαντή υδάτινων οικοσυστημάτων, αποτελεί η 2-χλωροφαινόλη (2-CP), η οποία προέρχεται κυρίως από τις βιομηχανίες επεξεργασίας χαρτιού και παρασκευής φυτοφαρμάκων. Η 2-CP, χαρακτηρίζεται από την παρουσία ενός μορίου χλωρίου στη θέση 1 του φαινολικού δακτυλίου, και αποτελεί την απλούστερη από τις συνολικά 32 χλωροφαινόλες. Η τεχνική των μικροπυρήνων (MN), η οποία εφαρμόζεται πάνω από 25 χρόνια ως δείκτης προσδιορισμού κυτταρογενετικής βλάβης, αναπτύχθηκε και σε ερυθροκύτταρα ψαριών, με δεδομένο ότι τα ψάρια αποτελούν κατάλληλους βιοδείκτες προσδιορισμού γενοτοξικών επιδράσεων των περιβαλλοντικών ρυπαντών σε υδάτινα οικοσυστήματα. Οι MN, σχηματίζονται από την συμπύκνωση άκεντρων χρωμοσωμικών θραυσμάτων ή από ολόκληρα χρωμοσώματα που δεν ενσωματώθηκαν στον κύριο πυρήνα κατά την ανάφαση. Η παρούσα μελέτη αφορά την επαγωγή MN σε ερυθροκύτταρα ψαριών *Carassius auratus auratus* στα οποία χορηγήθηκε τροφή η οποία είχε εμποτιστεί σε υδατικά διαλύματα 5 και 10 mg/L 2-CP. Ελέγχθηκαν συνολικά 35 ψάρια (7 ομάδες των 5 ψαριών) όπου η μία ομάδα αντιστοιχούσε στον αρνητικό μάρτυρα, ενώ οι υπόλοιπες 6 ομάδες δέχτηκαν την επίδραση 5 και 10 mg/L 2-CP σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα (24, 48 και 72 ώρες). Η χορήγηση της εμποτισμένης με 2-CP τροφής γινόταν δύο φορές ανά 24 ώρες ενώ πριν και μετά την χορήγηση καταγραφόταν το βάρος των ψαριών. Η ανάλυση 35000 ερυθροκυττάρων (1000/ψάρι) έδειξε στατιστικά σημαντική αύξηση των MN ( $p \leq 0.001$ , Student's one-sided *t*-test) στη συγκέντρωση των 5mg/L στις 72 ώρες επίδρασης ενώ στη συγκέντρωση των 10mg/L σε όλους τους χρόνους επίδρασης. Παρατηρήθηκε απώλεια βάρους των ψαριών στις 48 και 72 ώρες, σε αντίθεση με μικρή αύξηση βάρους που παρατηρήθηκε στις 24 ώρες επίδρασης και για τις δύο εξεταζόμενες συγκεντρώσεις. Η μελέτη των γενοτοξικών επιδράσεων της 2-CP σε ψάρια συνεχίζεται με διαφορετικές εξεταζόμενες συγκεντρώσεις και χρόνους επίδρασης.

## INDUCTION OF MICRONUCLEI IN ERYTHROCYTES OF FISHES TREATED TO 2-CHLOROPHENOL

*Theodoridis I., Vlastos D.*

*Department of Environmental and Natural Resources Management, University of  
Ioannina, Seferi 2, 30100 Agrinio, E-mail: [dvlastos@cc.uoi.gr](mailto:dvlastos@cc.uoi.gr)*

Aquatic ecosystems are dwindling due to unrestricted disposal of wastes and agricultural field chemicals. 2-Chlorophenol (2-CP) is the simplest among the 32 chlorophenols (1 chlorine molecule in the first position of the phenolic ring) and one of the major pollutants of the aquatic ecosystems deriving from the activities of the paper pulp and pesticide industries. The micronucleus (MN) test has served as an index of cytogenetic damage over 25 years. The MN test is a reliable short-term *in vivo* test for detecting clastogens or spindle poisons and it has been employed both for laboratory assays of genotoxicity of many compounds and for *in situ* surveys to assess the exposure of different organisms to situations of pollution. MN, are formed by condensation of acentric chromosomal fragments or whole chromosomes that are not included in the main nuclei following anaphase. Fish are appropriate models for genotoxic monitoring and constitutes an indicator of genotoxic activity of environmental pollutants in the aquatic medium. The present work focuses on the induction of MN in erythrocytes of fishes *Carassius auratus auratus* treated with impregnated fish food of 5 and 10 mg/L 2-CP solutions at three different administrating time periods (24, 48 and 72 hrs). In total, 35 fishes were divided into control group and six treatment groups of 5 fish each. Fishes received impregnated fish food two times per day in combination with a fish weight measurement before and after treatment. The frequency of the MN was statistically analyzed in total of 35000 erythrocytes, 5000 erythrocytes per experimental point, using the Student's one-sided *t*-test. Our results were statistically significant ( $p \leq 0.001$ ) for the concentration of 10mg/L and only in the 72hr treatment for the concentration of 5mg/L. Moreover, there was a weight loss for both concentrations during the two greater time periods in contrast with the 24hrs treatment, where there was a slight weight increase. Taking into consideration the above results on the genotoxicity of 2-CP, it appears important to conduct studies using different concentrations and administrating time periods in order to reach to a comprehensive understanding of 2-CP action in erythrocytes genetic material of fishes.

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΩΝ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΩΝ ADA2a, ADA2b  
ΚΑΙ GCN5 ΣΤΙΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ ΣΤΟ ΦΩΣ****Θεοδωρόπουλος Κ., Καλδής Αθ. και Κ. Βλαχονάσιος**

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη  
E-mail: [kvlachon@bio.auth.gr](mailto:kvlachon@bio.auth.gr)

Η ακετυλίωση των ιστονών θεωρείται μία από τις πιο σημαντικές μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις της χρωματίνης και συσχετίζεται άμεσα με τη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης. Στη ζύμη η πρωτεΐνη GCN5 δρα ως ακετυλοτρανσφεράση των ιστονών H3 και H2B και συνδέεται φυσικά με την ADA2 σε μεγάλα σύμπλοκα μεταγραφικών προσαρμοστών, όπως το SAGA. Στο *Arabidopsis thaliana* υπάρχει μία ορθόλογη GCN5 πρωτεΐνη και δύο ορθόλογες ADA2 πρωτεΐνες, οι ADA2a και ADA2b. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να μελετηθεί η επίδραση των γονιδίων ADA2a, ADA2b και GCN5 στις αποκρίσεις των φυτών στο φως. Με τη χρήση μεταλλαγμάτων, ελέγχθηκε ο ρόλος των μεταγραφικών προσαρμοστών ADA2a, ADA2b και GCN5 στην επιμήκυνση του υποκοτυλίου, καθώς και στην έκφραση των γονιδίων CAB2, RBCS-1A, LHCB2, LHCB4.3 και COR6.6, σε φυτά που αναπτύχθηκαν σε διαφορετικά μήκη κύματος φωτός. Διαπιστώθηκε ότι το ADA2b δρα ως αρνητικός ρυθμιστής της επιμήκυνσης του υποκοτυλίου στο λευκό φως, ενώ τα ADA2b και GCN5 δρουν ως θετικοί ρυθμιστές της επιμήκυνσης του υποκοτυλίου στο σκοτάδι, στο κυανό και ερυθρό φως. Στο λευκό φως τα μεταλλάγματα *gcn5-1* και *ada2b-1* εμφανίζουν μειωμένη έκφραση των φωτοεπαγόμενων γονιδίων, υποδηλώνοντας ότι και οι δύο πρωτεΐνες παίζουν θετικό ρόλο στη ρύθμισή τους. Αντίθετα στο ερυθρό φως φαίνεται πως μόνο το ADA2b διαδραματίζει κυρίαρχο ρόλο, ως θετικός ρυθμιστής στην έκφραση των φωτοεπαγόμενων γονιδίων. Τέλος, στο κυανό φως τα γονίδια ADA2b και GCN5 έχουν κοινούς αλλά και διακριτούς ρόλους, επηρεάζοντας θετικά την έκφραση διαφορετικών γονιδίων.

Η παρούσα εργασία χρηματοδοτήθηκε από την ΓΓΕΤ στα πλαίσια της «Διακρατικής ερευνητικής και τεχνολογικής συνεργασίας μεταξύ Ελλάδας και Γαλλίας, 2006-2008», Αρ. 82337 του ΚΒ.

**THE EFFECT OF TRANSCRIPTIONAL ADAPTORS PROTEINS ADA2a,  
ADA2b AND GCN5 ON PLANT LIGHT RESPONSES**

*Theodoropoulos K., Kaldis A., and K. Vlachonassios*

*Department of Botany, School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University of  
Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, E-mail: [kolachon@bio.auth.gr](mailto:kolachon@bio.auth.gr)*

Histone acetylation, a major post-translational modification of chromatin, correlated with the regulation of gene expression. In yeast GCN5 protein is a histone acetyltransferase of H3 and H2B and physically associated with ADA2 protein large transcriptional coactivator complexes, such as SAGA. *Arabidopsis thaliana* has one GCN5 ortholog and two ADA2 orthologs, designated ADA2a and ADA2b. In this report, we studied the effect of ADA2a, ADA2b and GCN5 on plant light responses. Using mutants, we investigated the role of the transcriptional coactivators ADA2a, ADA2b and GCN5 in hypocotyl elongation, as well as the expression patterns of CAB2, RBCS-1A, LHCB2, LHCB4.3 and COR6.6 genes of plants grown under different light wavelength. We observed that ADA2b act as a negative regulator of hypocotyl elongation under white light, whereas, ADA2b and GCN5 act as positive regulators of hypocotyl elongation in the dark, in blue and red light conditions. In white light, *gcn5-1* and *ada2b-1* mutants displayed reduced expression of light-regulated genes, suggesting that the two proteins may have a positive role in the expression of light-regulated genes. In contrast, in red light, only ADA2b positively regulated the expression of light-induced genes. Finally, under blue light conditions, ADA2b and GCN5 may have common as well as distinct roles acting as positive regulators of different light-induced genes.

*This work was supported by GGST grant "Bilateral Common Research and Technology Project between France and Greece, 2006-2008", No 82337 to KV.*

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΑΓΟΜΕΝΗΣ ΑΠΟ ΤΗΝ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ ΦΩΣΦΟΡΥΛΙΩΣΗΣ  
ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ NF-kB ΣΕ ΣΚΕΛΕΤΙΚΟΥΣ  
ΜΥΟΒΛΑΣΤΕΣ ΠΟΝΤΙΚΟΥ**

**Θεοφιλάτος Δ., Αγγελή Ι.Κ., Γαϊτανάκη Αικ. και Ι. Μπέης**

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

Ο μεταγραφικός παράγοντας NF-kB εντοπίζεται σε πληθώρα κυτταρικών τύπων και ενεργοποιείται από ποικίλα ερεθίσματα, συντελώντας στη διασφάλιση της κυτταρικής επιβίωσης. Στους σκελετικούς μυοβλάστες ειδικότερα, έχει βρεθεί ότι επάγει τη διαφοροποίησή τους και συμβάλλει στην προστασία τους σε συνθήκες οξειδωτικού στρες. Επιπλέον, είναι ευρέως γνωστό ότι η ινσουλίνη συμμετέχει στη ρύθμιση της αύξησης, της διαφοροποίησης και της γονιδιακής έκφρασης στους σκελετικούς μυοβλάστες. Κρίθηκε λοιπόν σκόπιμη η μελέτη της πιθανής εμπλοκής του μονοπατιού του NF-kB κατά την επίδραση ινσουλίνης σε σκελετικούς μυοβλάστες ποντικού. Αρχικά, μελετήθηκε το χρονικό πρότυπο των επιπέδων φωσφορυλίωσης του NF-kB στο κατάλοιπο σερίνης 536, με ανοσοδοκιμασία κατά Western. Ειδικότερα, σε κυτταροπλασματικά δείγματα, παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων φωσφορυλίωσης του NF-kB στα 5 λεπτά επίδρασης ινσουλίνης (50 mU/ml) κατά  $2\pm 0.25$ -φορές, σε σχέση με το μάρτυρα, η οποία διατηρήθηκε για τουλάχιστον 1 ώρα. Διερεύνηση του δόσοεξαρτώμενου προτύπου της επαγόμενης από την ινσουλίνη απόκρισης του NF-kB κατέδειξε μεγιστοποίηση των επιπέδων φωσφορυλίωσής του (2-φορές, σε σχέση με το μάρτυρα) ύστερα από 5 λεπτά επίδρασης ινσουλίνης (10 mU/ml). Ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα ήταν η ανίχνευση αμετάβλητων επιπέδων του ενδογενούς αναστολέα I-kB (αναστολέας του NF-kB) σε όλες τις πειραματικές μας προσεγγίσεις, ενδεικτική της μη αποικοδόμησής του κάτω από τις εξεταζόμενες συνθήκες. Προκειμένου να διερευνηθούν οι μηχανισμοί ενεργοποίησης του NF-kB ακολούθησε ανάλυση της μετατόπισής του στον πυρήνα των σκελετικών μυοβλαστών και των σηματοδοτικών μονοπατιών που εμπλέκονται στην επαγόμενη από την ινσουλίνη φωσφορυλίωσή του.

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

**STUDY OF THE INSULIN-INDUCED PHOSPHORYLATION OF THE  
TRANSCRIPTION FACTOR NF- $\kappa$ B IN MOUSE SKELETAL MYOBLASTS**

*Theofilatos D., Aggeli I.K., Gaitanaki C., and I. Beis.*

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

NF- $\kappa$ B is a transcription factor found in diverse cell types and is activated by various stimuli, contributing to cell survival. Particularly in skeletal myoblasts, it has been found to induce their differentiation and to play a fundamental role in their protection under conditions of oxidative stress. On the other hand, it is well known that insulin participates in the regulation of growth, differentiation and gene expression in skeletal myoblasts. Therefore, we decided to study the potential involvement of NF- $\kappa$ B pathway in the response of mouse skeletal myoblasts after insulin treatment. At first, the time course of NF- $\kappa$ B phosphorylation at ser536 was examined with Western immunoblot analysis. Thus, in cytoplasmic samples, a statistically important increase at the levels of phosphorylated NF- $\kappa$ B was observed after 5 minutes treatment with insulin (50 mU/ml) by  $2\pm 0,25$ -fold relative to control, which was sustained for at least 1 hour. Investigating the dose-dependent pattern of NF- $\kappa$ B response to insulin, maximum phosphorylation levels of the transcription factor were observed (2-fold, relative to control) after 5 minutes treatment with insulin (10 mU/ml). Quite interestingly, the levels of the endogenous NF- $\kappa$ B inhibitor: I- $\kappa$ B were found unchanged during all the interventions performed, indicating that the latter is not degraded by the proteasome under the conditions examined. In order to further delineate NF- $\kappa$ B activation mechanisms, its possible transition to the skeletal myoblasts nuclei was assessed along with the signaling pathways involved in its insulin-induced phosphorylation.

*This work was funded by grants from the Special Research Account.*

**ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΣΤΟΧΩΝ ΤΗΣ ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΥΣ  
ΟΡΜΟΝΗΣ ΜΕΣΩ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΩΝ ΜΟΝΟΠΑΤΙΩΝ  
ΣΕ ΚΑΡΔΙΟΜΥΟΚΥΤΤΑΡΑ ΕΝΗΛΙΚΟΥ ΕΠΙΜΥ**

*Ιορδανίδου Α.<sup>1,2</sup>, Χατζοπούλου-Κλαδαρά Μ.<sup>1</sup>, Λάζου Α.<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>Τομέας Γενετικής Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, <sup>2</sup>Τομέας Ζωολογίας,  
Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Α.Π.Θ. 54124*

Πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει την ύπαρξη μη γενωμικής δράσης της θυρεοειδικής ορμόνης (T<sub>3</sub>), η οποία επιτυγχάνεται μέσω ενεργοποίησης σηματοδοτικών οδών κινασών. Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε η δράση αναστολέων κινασών, οι οποίες έχει δειχθεί ότι ενεργοποιούνται από την T<sub>3</sub> στην έκφραση γονιδίων στόχων της T<sub>3</sub> σε απομονωμένα καρδιομυοκύτταρα ενήλικου επίμου. Επιβεβαιώθηκε ότι παρουσία της T<sub>3</sub> επάγεται η αύξηση της SERCA2α πρωτεΐνης και του πενταμερούς της φωσφολαμβάνης (PLN), ενώ αντίστοιχη μελέτη σε επίπεδο RNA έδειξε ότι η T<sub>3</sub> δρα θετικά στην έκφραση των γονιδίων SERCA2α και αMHC και αρνητικά στην έκφραση των γονιδίων PLN και βMHC. Επίδραση T<sub>3</sub> και των αναστολέων των p38 MAPK, PKC, ERK1/2 ή PI3K ανέστρεψε την δράση της T<sub>3</sub> (θετική ή αρνητική) τόσο σε πρωτεϊνικό επίπεδο, όσο και σε επίπεδο RNA. Συνεπώς, η ενεργοποίηση μονοπατιών μεταγωγής σήματος από την T<sub>3</sub> οδηγεί στην ρύθμιση της έκφρασης γονιδίων στόχων της που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην φυσιολογική λειτουργία της καρδιάς. Επίσης, διερευνήθηκε η επαγωγή υπερτροφίας από την T<sub>3</sub> με μελέτη της δράσης της στη μεταβολή του μεγέθους απομονωμένων καρδιομυοκυττάρων ενήλικου επίμου και έλεγχο της έκφρασης του γονιδίου ANP (Atrial natriuretic peptide), γνωστού μάρτυρα παθολογικής υπερτροφίας. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η T<sub>3</sub> προκαλεί αύξηση της επιφάνειας των καρδιομυοκυττάρων και παράλληλα δεν παρατηρείται αύξηση στην έκφραση του γονιδίου ANP.



**THE ROLE OF SIGNAL TRANSDUCTION PATHWAYS IN REGULATING  
THE EXPRESSION OF THYROID HORMONE TARGET GENES IN ADULT  
RAT CARDIOMYOCYTES**

*Iordanidou A.<sup>1,2</sup>, Hadzopoulou-Cladaras M.<sup>1</sup>, Lazou A.<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>Department of Genetics, Molecular and Developmental Biology, <sup>2</sup>Department of Zoology,  
School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki 54124*

Recent studies demonstrate a non-genomic action of thyroid hormone (T<sub>3</sub>), through activation of signal transduction pathways. The expression of thyroid hormone target genes in adult rat cardiomyocytes in the presence of kinase inhibitors was investigated. Cardiomyocytes treated with thyroid hormone showed an increase in SERCA2 $\alpha$  and phospholamban (PLN) pentamer protein, an increase in RNA expression of SERCA2 $\alpha$  and  $\alpha$ MHC and a decrease in PLN and  $\beta$ MHC RNA. Treatment of cardiomyocytes with both T<sub>3</sub> and the inhibitors of p38 MAPK, PKC, ERK1/2 or PI3K reversed the action of T<sub>3</sub>. In conclusion, activation of signal transduction pathways by thyroid hormone regulates the expression of T<sub>3</sub> target genes that may play a crucial role in the physiology of the heart. In addition, the induction of hypertrophy by T<sub>3</sub> in isolated adult rat cardiac myocytes and the expression of ANP (Atrial Natriuretic Peptide) gene, a known marker of pathological hypertrophy, were studied. The results showed an increase in the cell area and did not reveal any increase in ANP gene expression.

**ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΒΙΟΜΑΡΤΥΡΩΝ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΕ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΑ  
ΚΥΤΤΑΡΑ ΠΕΠΤΙΚΟΥ ΑΔΕΝΑ ΚΑΙ ΑΙΜΟΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΟΥ  
EOBANIA VERMICULATA ΥΣΤΕΡΑ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΒΑΡΕΩΝ  
ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΙΚΩΝ ΡΥΠΩΝ**

*Ιτζιου Α. και Β.Κ. Δημητριάδης*

*Τομέας Γενετικής Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,  
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54124 Θεσσαλονίκη*

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν βιομάρτυρες ρύπανσης με σκοπό την εκτίμηση του οξειδωτικού στρες που προκαλείται από την επίδραση ρύπων. Πραγματοποιήθηκε έκθεση σαλιγκαριών *Eobania vermiculata* σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων (Cd, Pb, Cu) και οργανικών ρύπων (chlorpyrifos, parathion-methyl, PAHs) στο εργαστήριο. Οι βιομάρτυρες που εφαρμόστηκαν σε απομονωμένα κύτταρα πεπτικού αδένου και αιμοσφαιρίου ήταν: 1) μέτρηση των παραγόμενων οξειδωτικών ριζών (ROS), 2) μέτρηση των καρβονυλιωμένων πρωτεϊνών (CO) και 3) εκτίμηση της βλάβης του γενετικού υλικού με τη χρήση της μεθόδου των κομητών (comet assay). Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν πως η επίδραση τόσο των βαρέων μετάλλων όσο και των οργανικών ρύπων προκάλεσαν αύξηση των παραγόμενων ROS σε κύτταρα πεπτικού αδένου και αιμοκύτταρα του σαλιγκαριού. Επιπρόσθετα, η παραγωγή των οξειδωτικών ριζών προκάλεσε αυξημένη καρβονυλίωση των πρωτεϊνών και αποδιοργάνωση του γενετικού υλικού των κυττάρων που εκτέθηκαν στις ίδιες συγκεντρώσεις των ρύπων. Η ταυτόχρονη παραγωγή των ROS καθώς και των πρωτεϊνικών και γενετικών βλαβών στα κύτταρα που εκτέθηκαν στους παραπάνω ρύπους, ενισχύεται περαιτέρω από τη σημαντική στατιστική συσχέτιση που παρατηρήθηκε μεταξύ τους. Εν κατακλείδι, η παραγωγή ROS, η καρβονυλίωση των πρωτεϊνών και η αποδιοργάνωση του γενετικού υλικού έδειξαν να ανταποκρίνονται στην επίδραση διαφορετικού τύπου ρύπων και μπορούν συνεπώς να χρησιμοποιηθούν με επιτυχία σε μελέτες βιοπαρακολούθησης της χερσαίας ρύπανσης.

**ISOLATED DIGESTIVE CELLS AND HAEMOCYTES OF THE SNAIL  
*EOBANIA VERMICULATA* AFTER THE TREATMENT WITH HEAVY  
METALS AND ORGANIC POLLUTANTS**

*Itziou A., and V.K. Dimitriadis*

*Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle  
University, 54124 Thessaloniki, Greece*

In the present study pollution biomarkers were used in order to evaluate the oxidative stress caused by pollutants. Snails *Eobania vermiculata* were treated with increasing concentrations of heavy metals (Cd, Pb, Cu) and organic pollutants (chlorpyrifos, parathion-methyl, PAHs) in the laboratory. The biomarkers applied in isolated digestive cells and haemocytes were: 1) detection of ROS production, 2) measurement of protein carbonyls and 3) DNA damage measured with alkaline single-cell gel electrophoresis (comet assay). The results of the study revealed that the treatment both with heavy metals and organic pollutants caused increased ROS production in isolated digestive cells and haemocytes of the snails. Furthermore, the production of oxidative residues lead to augmented carbonylation of the proteins and disintegration of DNA in cells treated with equal pollutant concentrations. The parallel production of ROS, as well as of protein and genetic damages in cells treated with the previous pollutants is further enhanced by the statistically significant correlations detected. Finally, the ROS production, the protein carbonylation and the DNA damage responded to different types of contaminants and may be successfully used in terrestrial pollution biomonitoring studies.

**ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΕΝΟΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΟΥ  
ΥΓΡΟΤΟΠΟΥ ΑΞΙΟΛΟΓΩΝΤΑΣ ΤΙΣ ΒΙΟΚΟΙΝΩΝΙΕΣ***Κάγκαλου Ι.<sup>1</sup>, Στεφανίδης Κ.<sup>2</sup>, Γιαννούρης Ε.<sup>2</sup>, Παπαστεργιάδου Ε.<sup>2</sup>**<sup>1</sup>Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Ηπείρου, <sup>2</sup>Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο  
Πατρών*

Η οικολογική κατάσταση των υγροτοπικών οικοσυστημάτων καθορίζεται από πλήθος βιοτικών και αβιοτικών παραγόντων καθώς επίσης και από την παρουσία και την ένταση των ανθρωπογενών δραστηριοτήτων. Ιδιαίτερα τα Μεσογειακά υγροτοπικά συστήματα αντιμετωπίζουν ως σοβαρή απειλή την διακύμανση της υδάτινης στάθμης, η οποία επηρεάζει τόσο την δομή όσο και την λειτουργία τους. Στην Ελλάδα έχει καταστραφεί περίπου το 70% των υγροτόπων μικρού μεγέθους όπως π.χ. τα έλη, οι τυρφώνες και οι λιμνούλες, κυρίως λόγω των ανθρωπογενών παρεμβάσεων, ενώ οι εναπομείναντες υγρότοποι αποτελούν σημαντικά καταφύγια για τη βιοποικιλότητα. Ο υγρότοπος του Καλοδικίου (Έλος Καλοδίκι, Ν. Θεσπρωτίας), αποτελεί υπόλειμμα ενός παλαιότερου εκτεταμένου τυρφώνα και έχει πρόσφατα περιληφθεί στις προστατευόμενες περιοχές στα πλαίσια του δικτύου Natura 2000. Με δεδομένη την επιστημονική ανάγκη για κατανόηση και διερεύνηση της δυναμικής αυτών των οικοσυστημάτων, η μελέτη των βιοκοινωνιών των υδρόβιων μακροφύτων και του ζωοπλαγκτού θεωρούνται ιδιαίτερα σημαντικές. Το αντικείμενο της παρούσας εργασίας εστιάζεται στην εκτίμηση της ζωοπλαγκτικής κοινωνίας και των υδρόβιων μακροφύτων σε εποχική βάση κατά την διάρκεια της περιόδου 2006-2007. Στον υγρότοπο του Καλοδικίου υπάρχει μεγάλη ποικιλότητα ενδιαιτημάτων τα οποία χαρακτηρίζονται από διαφορετικά κυρίαρχα είδη μακροφύτων στη διάρκεια της βλαστητικής περιόδου. Αυτού του είδους η ετερογένεια επηρεάζει ακολούθως την σύνθεση και αφθονία της ζωοπλαγκτικής κοινωνίας. Στην εργασία συζητώνται επίσης η σύνθεση και η εποχιακή κατανομή τόσο της «βυθισμένης» και «επιπλέουσας» βλάστησης, όσο και των ταξινομικών ομάδων του ζωοπλαγκτού.

**ASSESSMENT OF THE CONSERVATION STATUS OF A MEDITERRANEAN  
WETLAND USING BIOTIC COMMUNITIES**

*Kagalou I.<sup>1</sup>, Stefanidis K.<sup>2</sup>, Giannouris E.<sup>2</sup>, Papastergiadou E.<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>Technological Educational Institute of Epirus, <sup>2</sup>Department of Biology, University of  
Patras*

The state and evolution of wetland ecosystems are affected by a variety of biotic and abiotic factors, as well as by natural and human-induced processes that may differ both in duration and intensity. For Mediterranean wetlands it has been assumed that water level fluctuation is a critical parameter for their structure and function. A percentage of 70% of small wetlands (ponds, mires, marshes, etc.) in Greece have been lost in the past 80 years due to human intervention. Those that remain are important refuge for wetlands plants and animals. Kalodiki wetland (Elos Kalodiki in Greek term), a remnant of the oldest extensive fen, is a small internal wetland located in NW Greece. Recently, has been proposed as an internationally important conservation site under European Community legislation (Natura 2000). Last years, there is an increasing demand for a better understanding of these ecosystems dynamics which provide a comprehensive view of basic ecological processes. In this respect, the wetland's zooplankton and aquatic vegetation attract considerable ecological interest since often both of them form rich and dynamic communities. The objective of the present study is to assess zooplanktic communities and aquatic vegetation on a seasonal basis. The study is based on monitoring data concerning the seasonal variation of zooplankton during the period 2006-2007 and the submerged & floating leaved vegetation during the same vegetation period. Kalodiki wetland contains several habitat types, identifiable by dominant plant communities. This results in habitat heterogeneity with consequences in zooplankton community. Seasonal changes and the succession of the dominant species of macrophytes as well of zooplankton taxonomic groups are also discussed.

**ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΟ SPINOSAD ΣΕ ΦΥΣΙΚΟΥΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ  
ΔΑΚΟΥ ΣΤΗΝ ΚΑΛΟΦΟΡΝΙΑ**

**Κακάνη Ε.Γ.<sup>1\*</sup>, Ζυγουρίδης Ν.Ε.<sup>1\*</sup>, Τσουμάνη Κ.<sup>1</sup>, Σεραφείδης Ν.<sup>2</sup>, Zalom F.G.<sup>3</sup>  
και Κ.Δ. Ματθιόπουλος<sup>1</sup>**

Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πλούτωνος 26,  
Λάρισα 41221, Ελλάδα, <sup>2</sup>Ινστιτούτο Αγροτικών Ερευνών, Αθαλάσσα 22016,  
Λευκωσία, Κύπρος, <sup>3</sup>Dept of Entomology, University of California, Davis, One Shields  
Avenue, CA 95616, USA.

\*Οι συγγραφείς αυτοί είχαν ισοδύναμη συνεισφορά

Το spinosad είναι ένα σχετικά νέο, πολλά υποσχόμενο εντομοκτόνο της κατηγορίας των νατουραλτών. Χαρακτηρίζεται από μεγάλη δραστικότητα ως προς το στόχο του και από χαμηλή επικινδυνότητα ως προς τους μη στόχους, τον άνθρωπο και το περιβάλλον. Ο τρόπος δράσης του δεν είναι ακόμα ξεκάθαρος. Ανάμεσα στα έντομα-στόχους του spinosad συγκαταλέγεται και ο δάκος της ελιάς, το έντομο *Bactrocera oleae* (Rossi). Στην Κύπρο το spinosad χρησιμοποιείται σποραδικά από το 2002, ενώ στην Ελλάδα έχει πολύ περιορισμένη χρήση από το 2004, ιδιαίτερα σε βιολογικούς ελαιώνες της Κρήτης. Στην Καλιφόρνια, αντίθετα, είναι το μοναδικό σκεύασμα που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο των πληθυσμών του δάκου από την εποχή της εισβολής του εντόμου το 1998. Η παρούσα μελέτη στοχεύει στη διερεύνηση του επιπέδου ανθεκτικότητας του δάκου στο spinosad. Για το λόγο αυτό διενεργήθηκαν βιοδοκιμές σε διάφορους πληθυσμούς από την Κύπρο, την Ελλάδα και την Καλιφόρνια, καθώς και από έναν εργαστηριακό πληθυσμό. Οι βιοδοκιμές έγιναν είτε με τοπική εφαρμογή του εντομοκτόνου είτε μέσω της διατροφής. Σημαντική παραλλακτικότητα στα επίπεδα ανθεκτικότητας παρατηρήθηκε στους πληθυσμούς που εξετάστηκαν, με τους λόγους ανθεκτικότητας (resistance ratios) να κυμαίνονται από 0,3 έως 44. Οι υψηλότερες τιμές ανθεκτικότητας παρατηρήθηκαν σε πληθυσμούς που συλλέχθηκαν από ψεκαζόμενους ελαιώνες της Καλιφόρνιας, ενώ οι χαμηλότερες από πληθυσμούς της Κύπρου. Δεδομένου ότι το spinosad είναι το μοναδικό εντομοκτόνο που χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση του δάκου τα τελευταία 10 χρόνια στην Καλιφόρνια, αυτή η παραλλακτικότητα θα μπορούσε να αποδοθεί στη διαφορετική επιλογική δράση ως αποτέλεσμα των ψεκασμών με το συγκεκριμένο εντομοκτόνο.

**SPINOSAD RESISTANCE IN WILD OLIVE FLY POPULATIONS IN  
CALIFORNIA**

**Kakani E.G.<sup>1\*</sup>, Zygouridis N.E.<sup>1\*</sup>, Tsoumani K.<sup>1</sup>, Seraphides N.<sup>2</sup>, Zalom F.G.<sup>3</sup>  
and K.D. Mathiopoulos <sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Ploutonos 26,  
Larissa 41221, Greece, <sup>2</sup>Agricultural Research Institute, Athalassa 22016, Nicosia, Cyprus

<sup>3</sup>Dept of Entomology, University of California, Davis, One Shields Avenue, CA 95616,  
USA

*\*Equal contributing authors*

The naturalyte spinosad is a relatively new and promising insecticide. It is characterized by high efficacy against target pests and low risk to humans and other non-target organisms and the environment. Its mode of action is still not entirely elucidated. Among its target pests is the olive fruit fly *Bactrocera oleae* (Rossi). In Cyprus, spinosad is sporadically used since 2002, whereas in Greece it has a very limited use since 2004, particularly in biological olive cultivars in Crete. In California, instead, it is the only insecticide used against the olive fly since its detection in 1998. The present study aimed at examining the resistance status of the olive fruit fly to spinosad. Populations collected from Cyprus, Greece and California, plus a laboratory-reared population was tested. Bioassays were performed either by topical or feeding applications of different insecticide concentrations. Considerable variation in resistance levels to spinosad was recorded in the populations of *B. oleae*, with resistance ratios ranging from 0.3 to 44. The highest resistance ratios were found in populations captured in treated orchards of California, and the lowest in those from Cyprus. Given the fact that spinosad is the only insecticide used against the olive fly in California the last 10 years, this variation could be attributed to different selection pressures from insecticidal applications among populations from the various regions.

**ΈΝΑ ΑΝΟΔΙΚΟ ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟ ΤΜΗΜΑ ΕΠΑΓΕΙ ΤΗΝ ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΚΑΙ  
ΙΣΤΟΕΙΔΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ COUP-TF ΣΤΟΝ ΑΧΙΝΟ**

*Καλαμπόκη Α., Πετροπούλου Χ.Γ. και Κ.Ν. Φλυτζάνης*

*Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή  
Θετικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα, 26500.*

Οι μεταγραφικοί παράγοντες COUP-TF είναι μέλη της υπερ-οικογένειας που περιλαμβάνει τους υποδοχείς των στεροειδών-θυρεοειδικών ορμονών καθώς και του ρετινοϊκού οξέος. Μελέτες σε πολυάριθμα είδη ζώων έδειξαν ότι τα γονίδια COUP-TF είναι εξαιρετικά συντηρημένα και η έκφρασή τους εντοπίζεται κατά το πλείστο στο αναπτυσσόμενο νευρικό σύστημα. Είναι επίσης γνωστό ότι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην οργανογένεση, στην ομοιόσταση και στη κυτταρική διαφοροποίηση κατά τη διάρκεια της εμβρυικής ανάπτυξης. Για να μελετήσουμε τη ρύθμιση του γονιδίου COUP-TF στον αχινό, κλωνοποιήσαμε και αλληλουχίσαμε την ανοδική περιοχή αυτού, μεγέθους 2000 bp, ενώ ταυτόχρονα προσδιορίστηκε η θέση έναρξης της μεταγραφής. Αυτή η ανοδική περιοχή εισήχθη σε φορέα που περιείχε το γονίδιο GFP καθώς και το βασικό υποκινητή του γονιδίου Endo 16 του αχινού. Ο υποκινητής Endo 16 δεν είναι ικανός από μόνος του να επάγει την έκφραση του γονιδίου GFP χωρίς την παρουσία επιπρόσθετων ρυθμιστικών στοιχείων. Έτσι, η έκφραση του γονιδίου GFP εξαρτάται από τα ρυθμιστικά στοιχεία που περιλαμβάνονται στην ανοδική περιοχή του γονιδίου COUP-TF. Επιπλέον δημιουργήθηκε μια σειρά διαδοχικών 5' αφαιρέσεων της ανοδικής περιοχής καθώς και μια σειρά ενθέσεων μεμονωμένων ανοδικών τμημάτων της περιοχής αυτής, τα οποία εισήχθησαν στον ίδιο φορέα μπροστά από τον υποκινητή Endo 16 και το γονίδιο GFP. Όλα τα κατασκευάσματα ενέθηκαν σε γονιμοποιημένα αυγά του αχινού *Paracentrotus lividus* και τα έμβρυα που προέκυψαν αναπτύχθηκαν μέχρι τα στάδια του γαστριδίου και του πλουτέα. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν δείχνουν ότι το τμήμα α της ανοδικής περιοχής (-213 έως -532) του γονιδίου COUP-TF, είναι απαραίτητο και επαρκές για να κατευθύνει την έκφραση του γονιδίου αναφοράς στο στοματικό εξώδεγμα του εμβρύου, στη κυτταρική στοιβάδα δηλαδή όπου εκφράζεται και το ενδογενές γονίδιο. Επακόλουθες ανοδικές και εσωτερικές αφαιρέσεις εντός του τμήματος α και πειράματα *in vitro* DNA πρόσδεσης (EMSA) με συγκεκριμένα στοιχεία απόκρισης, οδηγούν στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για μια σύνθετη ρυθμιστική περιοχή με στοιχεία απόκρισης για πολυάριθμους μεταγραφικούς παράγοντες. Επιπρόσθετα, στοχευμένες μεταλλάξεις στοιχείων απόκρισης εντός του τμήματος α, δείχνουν ότι οι μεταγραφικοί παράγοντες Ap1 και μέλη της οικογένειας ETS, είναι απαραίτητοι για την ορθή ρύθμιση του γονιδίου στο αναπτυσσόμενο έμβryo.



**AN UPSTREAM REGULATORY MODULE DRIVES THE QUANTITATIVE  
AND TISSUE SPECIFIC EXPRESSION OF THE SEA URCHIN COUP-TF GENE**

*Kalampoki L., Petropoulou Chr., and C.N. Flytzanis*

*Division of Genetics, Cellular Biology and Development, Department of Biology, School  
of Natural Sciences, University of Patras, 26 500 Patras, Greece*

COUP-TFs are transcription factors, members of the steroid-thyroid-retinoic acid receptor superfamily. Studies in a plethora of species have shown that COUP-TFs are extremely conserved genes preferentially expressed in the developing nervous system. They also play an important role in organogenesis, homeostasis and cellular differentiation during embryonic development. To study the transcriptional regulation of the sea urchin COUP-TF gene we cloned and sequenced a 2000bp upstream region and determined the transcription initiation site. This upstream region was inserted in a vector containing the reference green fluorescence protein gene (GFP) and the basal promoter of the sea urchin gene Endo16. The Endo16 promoter is unable to drive expression of the GFP gene without the presence of additional regulatory elements. Thus, GFP expression from the constructed vector depends on the regulatory sequences of the COUP-TF gene. In addition to this vector, a series of upstream deletions were constructed, as well as insertions of isolated small fragments from the COUP-TF upstream region in front of the Endo16/GFP cassette. All constructs were micro-injected in fertilized *Paracentrotus lividus* eggs and resulting transgenic embryos were let developed to gastrula and pluteus embryonic stages. Our upstream deletions as well as the expression of individual segments of the COUP-TF regulatory region, suggest that module a (-213 to -532) is necessary and sufficient to direct expression of the reporter gene in the oral ectoderm territory of the embryo, the embryonic lineage where the endogenous COUP-TF gene is expressed. Upstream and internal deletions within module a and EMSA experiments with individual response elements, show that this is a complex regulatory region, with many transcription factor binding sites. Furthermore, site directed mutagenesis of response elements within module a, indicate that the transcription factors Ap1 and members of the ETS family are necessary for correct regulation of the gene in the developing embryo.

**ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΤΗΣ ΙΝΤΕΓΚΡΙΝΗΣ  $\alpha_2$  ΣΕ ΑΜΥΝΤΙΚΕΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΠΟΥ  
ΕΠΑΓΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ STRESS ΣΕ ΑΙΜΟΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ *Mytilus*  
*galloprovincialis*****Καπέλλος Θ.Σ. και Μ. Καλογιάννη**Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή  
Θετικών Επιστημών, ΑΠΘ

Η κατανόηση της φυσιολογίας των αμυντικών μηχανισμών στα δίθυρα ασπόνδυλα μπορεί να οδηγήσει σε πιο αποδοτικό έλεγχο των οργανισμών αυτών, οι οποίοι αποτελούν φορείς μολυσματικών ασθενειών στις υδατοκαλλιέργειες και στον άνθρωπο. Στις ανοσολογικές αποκρίσεις των ασπονδύλων σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν οι διαδικασίες της προσκόλλησης, η οποία αποτελεί βασικό στάδιο της φαγοκυττάρωσης ξένων σωματιδίων. Στην κυτταρική προσκόλληση εμπλέκονται μόρια πρόσδεσης, μεταξύ άλλων και οι ιντεγκρίνες. Οι ιντεγκρίνες αποτελούν μία υπερ-οικογένεια υποδοχέων κυτταρικής προσκόλλησης, στις οποίες προσδένονται μόρια της εξωκυττάριας ουσίας (ECM). Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι τα επίπεδα των ελευθέρων ριζών (ROS) αυξήθηκαν σημαντικά παρουσία των οξειδωτικών, ροτενόνης και πυροσταφυλικού οξέος. Επίσης η παρουσία οξειδωτικών ενώσεων προκάλεσε αύξηση του ενδοκυτταρικού pH των αιμοκυττάρων, κάτι που υποδηλώνει την ενεργοποίηση του ιοντοανταλλάκτη  $\text{Na}^+\text{-H}^+$  (NHE). Στη διαδικασία αυτή συμμετείχε και η  $\alpha_2$  υπομονάδα των ιντεγκρινών. Τα αποτελέσματά μας επίσης έδειξαν ότι οι δύο οξειδωτικές ουσίες προκάλεσαν αύξηση της προσκόλλησης των αιμοκυττάρων του μυδιού στις πρωτεΐνες BSA και λαμινίνη. Αντίθετα το αντιοξειδωτικό NAC προκάλεσε μείωση της προσκόλλησης στις πρωτεΐνες αυτές. Επομένως, οι οξειδωτικές ενώσεις προκάλεσαν σημαντική αύξηση των ελευθέρων ριζών, ενεργοποίηση του ιοντοανταλλάκτη  $\text{Na}^+\text{/H}^+$  και αύξηση της προσκόλλησης στη BSA και τη λαμινίνη με τη συμμετοχή της  $\alpha_2$  υπομονάδας της ιντεγκρίνης, σε αιμοκύτταρα του μυδιού, σε σχέση με τα κύτταρα ελέγχου. Όλα αυτά τα γεγονότα υποδηλώνουν την ενεργοποίηση του αμυντικού μηχανισμού στα αιμοκύτταρα με την επίδραση οξειδωτικών ουσιών.

**INVOLVEMENT OF INTEGRIN  $\alpha_2$  IN IMMUNE RESPONSES INDUCED BY  
OXIDATIVE STRESS IN HEMOCYTES OF *Mytilus galloprovincialis***

*Kapellos T.S., and M. Kaloyianni*

*Animal Physiology Laboratory, Department of Zoology, School of Biology, Faculty of  
Science, Aristotle University of Thessaloniki*

The understanding of the physiology of the immune response of mollusks could lead to a more efficient control of these organisms, which are regarded to be infectious diseases' carriers for the cultivations and for public health. The immune response of invertebrates includes adhesion, where phagocytosis of foreign molecules takes place. In the process of adhesion several ligands take part, among others the integrins. The integrins are members of a big family of cell ligands, which bind to the Extra Cellular Matrix (ECM). In this report we estimated the levels of Reactive Oxygen Species (ROS) by the use of fluorescent chemicals in the presence of two oxidants: rotenone and pyruvic acid. The levels of ROS increased in the presence of the two oxidants which were used. In addition to this, the oxidants also induced a rise in the intracellular pH of the hemocytes. This result indicates the activation of the Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> antiport (NHE). In this procedure the  $\alpha_2$  subunit of integrins was involved. Lastly we studied the adhesion of the hemocytes to two protein-substrates: BSA and laminin. Our results showed an increase in adhesion in the presence of the two mentioned oxidants and decline in adhesion in the presence of the antioxidant NAC. In conclusion, the oxidants induced the production of ROS, activation of Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> antiport (NHE) and increased adhesion to BSA and laminin via the involvement of  $\alpha_2$  subunit of integrins, in hemocytes of *Mytilus galloprovincialis*, in comparison to the control cells. These facts suggest that the immune response in hemocytes is activated under the effects of oxidants.

**ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΤΩΝ ΜΑΡ ΚΙΝΑΣΩΝ ΣΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΟΦΑΓΙΑ ΤΩΝ  
ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΑΠΟ ΤΑ ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ ΚΑΙ  
Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥΣ ΜΕ ΤΟ ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΟ Η<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

*Καραγιάννης Φ., Λαμπροπούλου Μ., Μαρμάρας Β.Ι.*

*Εργαστήριο Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών*

Στα θηλαστικά, η κύρια λειτουργία των ουδετερόφιλων κυττάρων του αίματος είναι η κυτταροφαγία. Η κυτταροφαγία ρυθμίζεται, μεταξύ άλλων, και από τις πρωτεϊνικές κινάσες που επάγονται από μιτογόνα (ΜΑΡΚ). Από παλαιότερες έρευνες της ερευνητικής μας ομάδας, έχει δειχθεί η συμμετοχή των ΜΑΡ κινασών στη ρύθμιση της κυτταροφαγίας από τα εξειδικευμένα φαγοκύτταρα (πλασματοκύτταρα), που βρίσκονται στην αιμολέμφο της μύγας της Μεσογείου, *Ceratitis capitata*. (Lamprou et al. 2007). Από πειραματικά δεδομένα του εργαστηρίου μας, γνωρίζουμε επίσης ότι παρουσία των βακτηρίων *E.coli* και *S.aureus*, τα ανθρώπινα ουδετερόφιλα κύτταρα, παράγουν Η<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, το οποίο φαίνεται να συμμετέχει ενεργά στην κυτταροφαγία των βακτηρίων. Στην εργασία αυτή μελετήθηκε, η συμμετοχή των ΜΑΡΚs (ERK, JNK, p38), στην κυτταροφαγία των βακτηρίων *E.coli* και *S.aureus*, από τα ανθρώπινα ουδετερόφιλα κύτταρα καθώς και η αλληλεπίδραση τους με το Η<sub>2</sub>O<sub>2</sub> που παράγεται από τα κύτταρα λόγω της παρουσίας των βακτηρίων. Με τη χρήση αναστολέων της φωσφορυλίωσης των ΜΑΡΚs μελετήθηκε, καταρχήν, η συμμετοχή των ΜΑΡΚs στην κυτταροφαγία των βακτηρίων *E.coli* και *S.aureus*, από τα ανθρώπινα ουδετερόφιλα κύτταρα και στη συνέχεια η συμμετοχή τους στην παραγωγή Η<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η αναστολή της φωσφορυλίωσης και των τριών ΜΑΡΚs προκαλεί μείωση της κυτταροφαγίας των βακτηρίων *E.coli* και *S.aureus* από τα ουδετερόφιλα κύτταρα του ανθρώπου, ενώ όσον αφορά στην παραγωγή του Η<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, φαίνεται ότι η αναστολή της φωσφορυλίωσης της ERK και της p38 την αναστέλλει ενώ της JNK την επάγει. Τέλος, παρατηρήσαμε με ανάλυση κατά western, ότι ο εξειδικευμένος αναστολέας Ν-εθυλεν-μαλεϊμίδιο (NEM), ο οποίος μειώνει την παραγωγή υπεροξεικών ανιόντων και κατά συνέπεια του Η<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, προκαλεί μείωση στην φωσφορυλίωση της p38, αύξηση της φωσφορυλίωσης της ERK, ενώ δείχνει να μην επηρεάζει την φωσφορυλίωση της JNK στα ουδετερόφιλα κύτταρα παρουσία των βακτηρίων *E.coli* και *S.aureus*.

**PARTICIPATION OF THE MAP KINASES IN THE PHAGOCYTOSIS OF  
BACTERIA FROM HUMAN NEUTROPHILS AND THEIR INTERACTION  
WITH PRODUCED H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

*Karagiannis F., Lampropoulou M., Marmaras V.J.*

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

In mammals, the main function of the blood neutrophils is phagocytosis. Phagocytosis is regulated, among others, from the mitogen activated protein kinases (MAPK). Recently we have demonstrated the involvement of MAP kinases in the regulation of phagocytosis by medfly *Ceratitis capitata* (Lamprou *et al.* 2007). Furthermore we have shown, that in the presence of bacteria *E.coli* and *S.aureus*, human neutrophils produce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, which appears to participate in the phagocytosis of these bacteria. In the present work, we explored the participation of the MAPKs (ERK, JNK, p38), in the phagocytosis of the bacteria *E.coli* and *S.aureus*, by human neutrophils and their interaction with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Using specific inhibitors of MAP kinases phosphorylation, we firstly studied the participation of the MAPK kinases in the phagocytosis of the bacteria *E.coli* and *S.aureus*, from human neutrophils and secondly their role in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production. Results showed, that the inhibition of phosphorylation for all three MAP kinases, decreases phagocytosis of the bacteria *E.coli* and *S.aureus*, from human neutrophils. In addition, inhibition of ERK and p38 phosphorylation blocks the production of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, while, inhibition of JNK phosphorylation induces it. Finally, we observed with western blot, that the specific inhibitor N-ethylen-maleimide (NEM), which reduces the production of superoxide anions, thereby reducing the production of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, decreases the phosphorylation of p38, increases the phosphorylation of ERK and has no effect in the phosphorylation of JNK in human neutrophils in the presence of the bacteria *E.coli* and *S.aureus*.

**ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΜΟΣ ΤΩΝ GABA<sub>A</sub> ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΧΡΟΝΗ  
ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ NMDA ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΤΡΟΠΟΠΟΙΕΙ ΤΙΣ  
ΕΠΙΛΗΠΤΟΕΙΔΕΙΣ ΕΚΦΟΡΤΙΣΕΙΣ ΣΕ ΤΟΜΕΣ ΙΠΠΟΚΑΜΠΟΥ ΕΠΙΜΥΟΣ**

**Καραμπά Α., Μικρούλης Α. και Κ. Ψαρροπούλου**

*Εργ. Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών,  
Σχολή Επιστήμης και Τεχνολογίας, Παν/μιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα, 45110, Ελλάδα.*

Συνθήκες που οδηγούν σε μειορύθμιση των GABA<sub>A</sub> υποδοχέων, όπως η μακροχρόνια κατανάλωση αιθανόλης, συσχετίζονται με κρίσεις σπασμών, όπως συμβαίνει κατά την περίοδο απεξάρτησης από τον αλκοολισμό. Η *in vitro* ενεργοποίηση των NMDA υποδοχέων αποτελεί ένα καθιερωμένο μοντέλο μελέτης της πρόκλησης ή/και της διάδοσης των επιληπτοειδών εκφορτίσεων. Για το σκοπό αυτό εξετάσαμε την επίδραση του ολικού ανταγωνισμού (μπλοκ) του GABA<sub>A</sub> υποδοχέα στις αυθόρμητες μεσοκριτικού τύπου εκφορτίσεις, που παρατηρούνται με την ενεργοποίηση των NMDA υποδοχέων σε τομές ιπποκάμπου επίμυος. Τομές ιπποκάμπου από ενήλικες Sprague-Dawley επίμυες τοποθετήθηκαν σε τεχνητό εγκεφαλονωτιαίο υγρό (τΕΝΥ) χωρίς πρόσθετο Mg<sup>2+</sup>. Οι συγχρονισμένες αυθόρμητες μεσοκριτικού τύπου εκφορτίσεις που προέκυψαν καταγράφηκαν εξωκυττάρια από τις περιοχές CA1 και CA3. Ο ανταγωνιστής των GABA<sub>A</sub> υποδοχέων bicuculline methiodide (BMI, 10μM) προστέθηκε για 15 λεπτά περίπου και μετά εκπλύθηκε. Σε ορισμένα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν τομές από ενήλικους επίμυες, οι οποίοι είχαν υποβληθεί σε μια παρατεταμένη (>20 min) γενικευμένη επιληπτική κρίση, μετά από ένεση πεντυλενετετραζόλης (PTZ τομές), σε ηλικία 20 ημερών. Με την προσθήκη της BMI, η συχνότητα των εκφορτίσεων μειώθηκε σημαντικά τόσο σε τομές από φυσιολογικούς όσο και PTZ επίμυες. Στην πρώτη κατηγορία, η μείωση της συχνότητας ήταν παρόμοια σε τομές από το κροταφικό άκρο (26.4 %, n=14) ή το διαφραγματικό άκρο (39.5%, n=5). Καταγραφές από τις περιοχές CA1 και CA3 έδειξαν παρόμοιες συχνότητες εκφορτίσεων, τόσο σε κατάσταση αναφοράς όσο και κατά την προσθήκη BMI. Η διάρκεια των εκφορτίσεων αυξήθηκε σημαντικά κατά την διαβροχή με BMI (26.65%, p=0.014, n=8). Αυτά τα ευρήματα δείχνουν ότι φραγή της GABA<sub>A</sub>-διαμεσολαβούμενης συναπτικής αναστολής κατά την ενεργοποίηση των NMDA υποδοχέων, (α) μειώνει την συχνότητα των αυθόρμητων συγχρονισμένων μεσοκριτικού τύπου εκφορτίσεων και ταυτόχρονα (β) παρατείνει τη διάρκειά τους, μιά αλλαγή ή οποία ενδεχομένως διευκολύνει την γένεση κριτικού τύπου εκφορτίσεων και άρα την επαγωγή σπασμών. Παρά τις διαφορές που έχουν αναφερθεί ως προς την αποτελεσματικότητα της συναπτικής αναστολής στα δύο άκρα του ιπποκάμπου, δεν διαπιστώσαμε σημαντική διαφορά μετά την άρση της αναστολής σε αυτό το μοντέλο.

**GABA<sub>A</sub> RECEPTOR ANTAGONISM DURING NMDA RECEPTOR  
ACTIVATION TRANSFORMS EPILEPTIFORM DISCHARGES IN RAT  
HIPPOCAMPAL SLICES**

*Karampa A., Mikroulis A., and C. Psarropoulou*

*Lab. of Animal & Human Physiology, Dept. Biological Applications and Technology,  
Faculty of Science and Technology, University of Ioannina, 45110 Ioannina, Greece.*

Conditions that lead to down regulation of GABA<sub>A</sub> receptors, like for example chronic alcohol consumption (alcohol acts as an agonist for GABA<sub>A</sub> receptors) correlate with the increased incidence of convulsions, as happens during Alcohol Withdrawal Syndrome (AWS). Activation of NMDA receptors *in vitro* is an established model for studying the generation and/or propagation of epileptiform discharges. We therefore studied the effect of GABA<sub>A</sub> receptor block on the interictal epileptiform discharges generated following activation of NMDA receptors in hippocampal slices. Hippocampal slices from adult (>P60) Sprague-Dawley rats were perfused with ACSF without added Mg<sup>2+</sup> and synchronous spontaneous interictal-like epileptiform discharges were recorded extracellularly from the CA1 and the CA3 areas. The GABA<sub>A</sub> receptor antagonist bicuculline methiodide (BMI, 10 μM) was added to the perfusion fluid for about 15 min and was subsequently washed out. In some of the experiments, we used slices from adult rats that had been submitted to a sustained (>20 min) generalized convulsion induced by pentylenetetrazole injection (70mg/kg) at postnatal day 20 (PTZ slices). BMI decreased significantly discharge frequency in naive and PTZ rats by about 30%. In slices from naive rats, the frequency decrease was similar in temporal (26.4%, p<0.05 n=14) and septal (39.5%, n=5) slices. Recordings from CA1 and CA3 did not reveal any differences in either the initial or the BMI-induced rates between the two areas. Synchronous discharge duration increased by BMI by about 26.65% compared to controls (n=8, p=0.014). These findings suggest that block of GABA<sub>A</sub>-mediated synaptic inhibition during NMDA receptor activation (a) reduces spontaneous synchronous discharge frequency but also (b) prolongs discharge duration, a change that could conceivably lead to the generation of ictal discharges, thus suggesting the increased probability of convulsion occurrence. Despite the reported differences in synaptic inhibition between temporal and septal hippocampus, we did not observe significant differences during GABA<sub>A</sub> receptor block in this model.

**ΜΕΙΩΜΕΝΗ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΠΡΩΤΕΑΣΩΜΑΤΟΣ ΣΤΑ ΠΡΟΓΟΝΙΚΑ  
CD34+ ΚΥΤΤΑΡΑ ΜΥΕΛΟΥ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΜΥΕΛΟΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΟ  
ΣΥΝΔΡΟΜΟ**

*Καραμπίνα Σ.<sup>1</sup>, Αθανασίου Σ.<sup>2</sup>, Θανοπούλου Ε.<sup>1</sup>, Συμεωνίδης Α.<sup>1</sup>, Ζούμπος Ν.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Αιματολογικό Εργαστήριο, Τμήμα Ιατρικής, <sup>2</sup>Εργαστήριο Βιοχημείας, Τμήμα  
Χημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών*

Τα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα (ΜΔΣ) αποτελούν μια ετερογενή ομάδα αιματολο-γικών διαταραχών και περιλαμβάνουν από τη πιο ήπια ανθεκτική αναιμία μέχρι το πλέον υψηλού κινδύνου για εκτροπή προς λευχαιμία νόσημα. Κύριο χαρακτηριστικό τους είναι οι βαριές αναιμίες του περιφερικού αίματος, ενώ συνήθως ο μυελός των ασθενών είναι είτε υπερκυτταρικός είτε φυσιολογικός ως προς τη κυτταροβρίθειά του. Ένας πολύ σημαντικός μηχανισμός διατήρησης της ομοιότητας των κυττάρων είναι το πρωτεάσωμα. Το πρωτεάσωμα είναι ένα πολυκαταλυτικό σύμπλεγμα το οποίο είναι υπεύθυνο για την αποικοδόμηση πολλών ενδοκυττάρων πρωτεϊνών στο κυτταρό-πλασμα και στον πυρήνα όλων των ευκαρυωτικών κυττάρων. Η ChT-L ενεργότητα είναι μία από τις τρεις ενεργότητες του πρωτεασώματος και είναι καθοριστική για την αποικοδόμηση πρωτεϊνών-στόχων, όπως οι οξειδωμένες, μεταλλαγμένες ή κατεστραμμένες πρωτεΐνες. Είναι εξακριβωμένος ο ρόλος της ανεπαρκούς ενεργότητας του πρωτεασώματος στη παθογένεση πολλών ασθενειών. Σκοπός της εργασίας αυτής είναι η διερεύνηση της ενεργότητας του πρωτεασώματος σε κύτταρα ασθενών με ΜΔΣ, σε μια προσπάθεια να προσεγγίσουμε την παθογένεση της μυελοδυσπλασίας. Στα πλαίσια της μελέτης αυτής, εξετάσαμε την ενεργότητα του πρωτεασώματος σε ανοσομαγνητικά διαχωρισμένα CD34+ προγονικά κύτταρα από δείγματα μυελού ασθενών με ΜΔΣ και η σύγκριση έγινε με αντίστοιχα κύτταρα κινητοποιημένου περιφερικού αίματος. Μετά από ήπια εκχύλιση των κυττάρων αυτών, πραγματοποιήθηκε επώαση παρουσία του πεπτιδίου LLVY-AMC, το οποίο φθορίζει μόνο όταν απελευθερωθεί η ομάδα AMC δηλαδή μόνο όταν το πρωτεάσωμα πέψει το πεπτίδιο. Ο φθορισμός λοιπόν είναι απευθείας ανάλογος της ενεργότητας του πρωτεασώματος. Η ενεργότητα του πρωτεασώματος βρέθηκε μειωμένη τόσο σε ολικά μονοπύρηνα κύτταρα όσο και στους CD34+ και CD34- πληθυσμούς σε σχέση με αντίστοιχα κύτταρα φυσιολογικών ατόμων. Παρατηρήθηκε επίσης, μεγαλύτερη μείωση της ενεργότητας σε ασθενείς υψηλού κινδύνου. Από αντίστοιχη μελέτη σε ολικά μονοπύρηνα κύτταρα περιφερικού αίματος, δε βρέθηκε κάποια διαφοροποίηση ανάμεσα στους ασθενείς και φυσιολογικά άτομα. Συμπερασματικά, η μειωμένη πρωτεολυτική ενεργότητα του πρωτεασώματος μπορεί να οδηγήσει σε συσσώρευση οξειδωμένων και κατεστραμμένων πρωτεϊνών με άμεσο επακόλουθο την εξέλιξη της νόσου.



**REDUCED PROTEASOMAL PROTEOLYTIC ACTIVITY IN PROGENITOR  
CD34+ MARROW CELLS FROM PATIENTS WITH MYELODYSPLASTIC  
SYNDROME**

*Karabina S.<sup>1</sup>, Athanasiou S.<sup>2</sup>, Thanopoulou E.<sup>1</sup>, Symeonidis A.<sup>1</sup>, Zoumbos N.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Hematology Division, Department of Internal Medicine, Medical School, <sup>2</sup>Laboratory of  
Biochemistry, Department of Chemistry, University of Patras*

MDS is a heterogeneous group of clonal stem cell disorders characterized by ineffective hematopoiesis and frequent evolution to acute myelogenous leukemia (AML). Patients usually have severe anaemia despite the hypercellular or normal, regarding the cellularity, bone marrow. The proteasome is a multicatalytic complex that is responsible for the degradation of many intracellular proteins in the cytoplasm and nucleus of all eukaryotic cells. The chymotryptic-like (ChT-L) activity is one of the three proteasomal activities and is rate-limiting in the degradation of intracellular proteins, such as oxidized, mutated or damaged proteins. The role of insufficient proteasomal activity to the pathogenesis of many diseases has been documented. The aim of this study is to investigate the proteasomal activity in cells from MDS patients, in an attempt to approach the pathogenesis of myelodysplasia. For this purpose, we examined the proteasomal proteolytic activity of immunomagnetically isolated CD34+ cells from marrow (BM) samples in comparison with CD34+ cells from mobilized peripheral blood (mPB) samples. For each sample, cells were mildly lysed and incubated with the fluorescent conjugated peptide LLVY-AMC. The fluorescence intensity was directly dependent to ChT-L activity within the cells because AMC can fluoresce only when it is released from the peptide. Proteasome activity was lower in MDS marrow mononuclear cells as well as in CD34+ / CD34- populations in comparison with corresponding cells. There was also observed a greater reduction in the high risk group of patients. When we used the same procedure to examine proteasome activity in peripheral blood mononuclear cells, we observe no alteration between the MDS and normal group, although the variation between patients was considerable. In conclusion, the reduced proteasome proteolytic activity in the marrow hematopoietic cells from MDS patients, may allow the accumulation of oxidized, damaged or mutated proteins within the cells with subsequent disease progression.

## ΣΠΟΡΙΟΚΤΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΚΑΡΒΑΚΡΟΛΗΣ

Καρίνου Ε. και Α. Σιβροπούλου

Εργαστήριο Γενικής Μικροβιολογίας, Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και  
Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών,  
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124.

Τα σπόρια των βακτηρίων είναι ιδιαίτερα ανθεκτικά στις περιβαλλοντικές πιέσεις (υψηλή θερμοκρασία, ακτινοβολία, ισχυρά οξέα, απολυμαντικά, κλπ.) και συνεπώς παράγοντες ικανοί να αδρανοποιήσουν τα σπόρια είναι μεγάλου ενδιαφέροντος για τη βιομηχανία τροφίμων και την ιατρική. Δεδομένου ότι το αιθέριο έλαιο της ρίγανης και τα κύρια συστατικά του (καρβακρόλη και θυμόλη) διαθέτουν ισχυρές αντιμικροβιακές ιδιότητες, στην παρούσα μελέτη ερευνήσαμε εάν η καρβακρόλη και η θυμόλη επιδεικνύουν σποριοκτόνο δράση ενάντια σε σπόρια του είδους *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. sphaericus*, *B. thuringiensis*). Η σποριοκτόνος δράση της θυμόλης ήταν σχεδόν αμελητέα σε όλα τα είδη που ελέγχθηκαν, ενώ η καρβακρόλη προκάλεσε σημαντική δόσο- και χρόνο-εξαρτώμενη μείωση της βιωσιμότητας των σπορίων. Από τα τρία είδη που εξετάστηκαν το *B. thuringiensis* ήταν το πιο ευαίσθητο στη δράση της καρβακρόλης, ενώ το *B. subtilis* ήταν το ανθεκτικότερο. Η ελάχιστη σποριοκτόνος συγκέντρωση της καρβακρόλης ήταν 3.1 mM, 25 mM και 100 mM για τα *B. thuringiensis*, *B. sphaericus*, *B. subtilis* αντίστοιχα. Η απομόνωση των πρωτεϊνών του καλύμματος των σπορίων των ανωτέρω ειδών έδειξε ότι η καρβακρόλη αδρανοποιεί τα ένζυμα που είναι υπεύθυνα για τη βλάστηση του κάθε είδους, τα οποία είναι η β-γλυκοσιδάση για το *B. thuringiensis*, και μια λιπάση για το *B. sphaericus* και το *B. subtilis*.

## SPORICIDAL ACTION OF CARVACROL

*Karinou E., and A. Sivropoulou*

*Laboratory of General Microbiology, Section of Genetics, Development and Molecular  
Biology, School of Biology, Aristotle University, Thessaloniki 54124, Greece.*

Bacterial spores are highly resistant to environmental stresses (high temperature, irradiation, strong acids, disinfectants, etc), and consequently agents able to inactivate spores is of great importance in food industry and in medicine. Since *origanum* essential oil and its main components (carvacrol and thymol) possess strong antimicrobial properties, in the present study we investigated if carvacrol and thymol exhibit sporicidal activity against spores of *Bacillus* species (*B. subtilis*, *B. sphaericus*, *B. thuringiensis*). The sporicidal action of thymol was almost negligible in all species tested, while carvacrol caused a time- and concentration-dependent considerable reduction in the viability of the spores. Of the three species tested *B. thuringiensis* was the most sensitive to the action of carvacrol, while *B. subtilis* was the most resistant. The minimal sporicidal concentration of carvacrol was 3.1 mM, 25 mM and 100 mM for *B. thuringiensis*, *B. sphaericus*, *B. subtilis* respectively. The isolation of spore coat proteins of the above species showed that carvacrol inactivates the enzymes that are responsible for germination for each species, which are the  $\beta$ -glucosidase for *B. thuringiensis*, and a lipase for *B. sphaericus* and *B. subtilis*.

**Η 17-AAG ΕΠΑΓΕΙ ΑΝΑΣΤΟΛΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΚΥΚΛΟΥ ΚΑΙ ΑΠΟΠΤΩΣΗ  
ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΕΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΣΕΙΡΕΣ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΗΣ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ  
ΚΥΣΤΗΣ ΛΟΓΩ ΜΕΙΟΡΥΘΜΙΣΗΣ ΠΟΛΛΑΠΛΩΝ «ΠΕΛΑΤΩΝ» ΤΗΣ Hsp90  
ΣΤΟ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΟ ΜΟΝΟΠΑΤΙ Akt**

*Καρκούλης Π.Κ.<sup>1</sup>, Στραβοπόδης Δ.Ι.<sup>2</sup>, Κωνσταντάκου Ε.Γ.<sup>2</sup>,  
Μαργαρίτης Α.Χ.<sup>2</sup> και Γ.Ε. Βουτσινάς<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Εργαστήριο Περιβαλλοντικής Μεταλλαξιγένεσης και Καρκινογένεσης,  
Ινστιτούτο Βιολογίας, Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος», Αγ. Παρασκευή 15310, Αθήνα;*

*<sup>2</sup>Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και  
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 15784,  
Αθήνα*

Το αντιβιοτικό 17-AAG (17-αλληλαμινο-17-δεμεθοξυγελδαναμυκίνη) είναι μια ανσαμυκίνη βενζοκινόνης, η οποία στοχεύει ειδικά στην Hsp90 (Πρωτεΐνη θερμικού σοκ 90), μια μοριακή συνοδό, που διατηρεί τη δομική και λειτουργική ακεραιότητα μεγάλης ποικιλίας πρωτεϊνών «πελατών» (clients) που ενέχονται σε κυτταρικά μονοπάτια μεταγωγής σήματος. Στη μελέτη αυτή, διερευνήσαμε την επίδραση της 17-AAG στην πρόοδο του κυτταρικού κύκλου και στην κυτταρική επιβίωση, καθώς και στη ρύθμιση του μονοπατιού Akt, σε ανθρώπινες καρκινικές κυτταρικές σειρές ουροδόχου κύστης διαφορετικού βαθμού κακοήθειας, χρησιμοποιώντας ανάλυση FACS, δοκιμές MTT, ανοσοσύτωση Western και ημι-ποσοτική RT-PCR τεχνολογία. Τα αποτελέσματα προτείνουν σαφώς ότι, μετά από επέμβαση με 17-AAG, τα ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα της ουροδόχου κύστης πρώτα αποκλείονται στις φάσεις G2 και G1 του κυτταρικού κύκλου και τελικά οδεύουν σε αποπτωτικό θάνατο με δόσο-εξαρτώμενο και βαθμο-ειδικό τρόπο, μέσω ενεργοποίησης κασπάσης-3 και πρωτεολυτικής διάσπασης υποστρωμάτων αυτής. Επιπροσθέτως, δείχτηκε ότι η 17-AAG επάγει σαφή μειορύθμιση πολλαπλών πρωτεϊνών «πελατών» της Hsp90 του μονοπατιού Akt, όπως των IGF1R, Akt, IKK-α και IKK-β. Η μειωμένη παρουσία των παραπάνω πρωτεϊνών βρέθηκε να συνδέεται με αντίστοιχη μείωση έκφρασης mRNA των μεταγραφικών στόχων του NF-κB survivin και XIAP. Συμπερασματικά, στην εργασία αυτή αποδείξαμε την δόσο-εξαρτώμενη και βαθμο-ειδική επίδραση της 17-AAG στην πρόοδο του κυτταρικού κύκλου και την επιβίωση ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων της ουροδόχου κύστης, λόγω στόχευσης πολλαπλών «πελατών» της Hsp90 στο μονοπάτι Akt.

**17-AAG INDUCES CELL CYCLE ARREST AND APOPTOSIS IN HUMAN  
URINARY BLADDER CANCER CELL LINES DUE TO DOWN-REGULATION  
OF MULTIPLE Hsp90 CLIENTS IN THE Akt SIGNALING PATHWAY**

*Karkoulis P.K.<sup>1,2</sup>, Stravopodis D.J.<sup>2</sup>, Konstantakou E.G.<sup>2</sup>,  
Margaritis L.H.<sup>2</sup>, and G.E. Voutsinas<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Laboratory of Environmental Mutagenesis and Carcinogenesis, Institute of Biology,  
N.C.S.R. "Demokritos", Ag. Paraskevi 15310, Athens; <sup>2</sup>Department of Cell Biology and  
Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Zografou 15784,  
Athens*

17-AAG (17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin) is a benzoquinone ansamycin antibiotic, which specifically targets Hsp90 (Heat shock protein 90), a molecular chaperone that maintains structural and functional integrity of various protein clients involved in a number of cellular signal transduction pathways. In this study, we have investigated the effect of 17-AAG on cell cycle progression and cell survival, as well as on the regulation of Akt pathway, in human urinary bladder cancer cell lines of different malignancy grade, using FACS analysis, MTT assays, Western blots and semi-quantitative RT-PCR reactions. Our results clearly suggest that, upon 17-AAG treatment, bladder cancer cells are first arrested in the G2 and G1 phase of the cell cycle and finally undergo apoptotic cell death in a dose-dependent and grade-specific manner, by caspase-3 activation and subsequent proteolytic cleavage of downstream substrates. Furthermore, we have shown that 17-AAG induced a pronounced down-regulation of multiple Hsp90 protein clients of Akt pathway, such as IGF1R, Akt, IKK- $\alpha$  and IKK- $\beta$ . Decreased presence of the above proteins was found to be associated with an equivalent decrease in mRNA expression of the NF-kappaB transcriptional targets survivin and XIAP. In conclusion, in this work we have clearly demonstrated the dose-dependent and grade-specific effect of 17-AAG on cell cycle progression and survival of human bladder cancer cells, due to the targeting of multiple Hsp90 clients in the Akt pathway.

**ΟΙ ΑΜΥΛΟΕΙΔΟΓΕΝΕΙΣ ΚΑΘΟΡΙΣΤΕΣ ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΣΥΝΗΘΩΣ  
‘ΚΡΥΜΜΕΝΟΙ’**

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

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο  
Αθηνών, Αθήνα 157 01, E-mail: [shamodr@biol.uoa.gr](mailto:shamodr@biol.uoa.gr)

Τα αμυλοειδή αποτελούν εξωκυτταρικές/ενδοκυτταρικές εναποθέσεις αδιάλυτων πρωτεϊνικών ινιδίων που δημιουργούνται από διαλυμένες πρωτεΐνες/πεπτίδια, όταν αυτά διπλώνονται κατά ανώμαλο τρόπο και αυτοσυγκροτούνται, προκαλώντας την καταστροφή κυττάρων και ιστών. Τα αμυλοειδή συσχετίζονται με πλήθος ασθενειών, που είναι γνωστές ως αμυλοειδώσεις, ωστόσο πολλές πρωτεΐνες που *in vivo* είναι σταθερές και μέχρι στιγμής δε σχετίζονται με αμυλοειδώσεις, έχουν βρεθεί ότι σχηματίζουν αμυλοειδή *in vitro*, όταν εκτεθούν σε συγκεκριμένες συνθήκες. Πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν ότι μικρά τμήματα της αλληλουχίας μιας πρωτεΐνης μπορεί να ευθύνονται για την αμυλοειδογένεση. Για την πρόγνωση των πιθανών αυτών περιοχών, που πιθανόν δρουν ως αμυλοειδογενείς καθοριστές, σε ένα σύνολο αμυλοειδογενών πρωτεϊνών που άμεσα σχετίζονται με αμυλοειδώσεις αλλά και σε ένα δεύτερο σύνολο πρωτεϊνών που σχηματίζουν αμυλοειδή *in vitro*, χρησιμοποιήθηκε μία συναινετική μέθοδος πρόγνωσης της ‘αμυλοειδογενούς προδιάθεσης’, το εργαλείο AMYLPRED, το οποίο αναπτύχθηκε πρόσφατα στο εργαστήριο μας. Χρησιμοποιώντας τον αλγόριθμο DSSP και προγράμματα μοριακών γραφικών, όπως το O και το PyMOL, για 12 και για 23 πειραματικά λυμένες δομές από το πρώτο και το δεύτερο σύνολο πρωτεϊνών αντίστοιχα, διαπιστώθηκε ότι το 92% και το 78% των πειραματικά γνωστών αμυλοειδογενών περιοχών από το πρώτο και το δεύτερο σύνολο αντίστοιχα, καθώς και το 70% και το 58% των θεωρητικά προβλεπόμενων από το AMYLPRED αμυλοειδογενών περιοχών από το πρώτο και το δεύτερο σύνολο αντίστοιχα, 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 παίξουν το ρόλο ‘διακόπτη’, για ενδεχόμενη αποδιάταξη της πρωτεΐνης, πριν από την δημιουργία αμυλοειδών ινιδίων. Οι παραπάνω παρατηρήσεις, σε συνδυασμό με πειραματικές μελέτες στους πιθανούς αμυλοειδογενείς καθοριστές, ίσως βοηθήσουν στην κατανόηση των ιδιοτήτων και των μηχανισμών της δημιουργίας αμυλοειδών ινιδίων και, κατά συνέπεια, των αμυλοειδώσεων.

## AMYLOIDOGENIC DETERMINANTS ARE USUALLY NOT BURIED

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

Dept of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens  
15701,

E-mail: [carolinamaria05@gmail.com](mailto:carolinamaria05@gmail.com) ; [npapand@biol.uoa.gr](mailto:npapand@biol.uoa.gr) ; [veconom@biol.uoa.gr](mailto:veconom@biol.uoa.gr) ;  
[shamodr@biol.uoa.gr](mailto: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. Moreover, proteins that are stable *in vivo* with no known pathological role in disease have been shown to form amyloids *in vitro* under certain conditions. Recent studies suggest that short peptides may be responsible for the amyloidogenicity of several proteins. For the prediction of these potential amyloidogenic regions, a consensus method for amyloid propensity, the tool AMYLPRED which was developed in our lab, was used in two sets of proteins, one including pathological amyloidogenic proteins and the other proteins that form amyloids *in vitro* with no known pathological role in disease. A close examination of 12 solved protein structures from the first set of proteins and 23 solved protein structures from the second one, using molecular graphics programs such as O and PyMOL and also utilizing the algorithm DSSP, reveals that ca. 92% and ca. 78% of the experimentally determined amyloidogenic determinants from the first and the second set of proteins respectively, reside on the proteins' surface. The same observation was made about ca. 70% and ca. 58% of theoretically predicted by AMYLPRED amyloidogenic determinants from the first and the second set of proteins respectively. 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.

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΦΥΛΟΥ ΣΤΟ ΕΡΜΑΦΡΟΔΙΤΟ ΕΙΔΟΣ *Spicara flexuosa* (Rafinesque, 1810) ΜΕ ΕΞΩΤΕΡΙΚΑ ΓΝΩΡΙΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΜΗΚΟΥΣ**

**Καρύδας Θ., Αργυρίδης Ν. και Γ. Μίνος**

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

E-mail: [karidas@aqua.teithe.gr](mailto:karidas@aqua.teithe.gr); [gminos@aqua.teithe.gr](mailto:gminos@aqua.teithe.gr)

Στο διαδοχικό ερμαφροδιτισμό, τα ψάρια αλλάζουν φύλο ανάλογα με την ηλικία, το μέγεθος και τη σύνθεση του κοπαδιού. Η επίδραση των παραγόντων αυτών στη διαμόρφωση του φύλου αποτελεί σημαντικό εργαλείο στην αλιευτική και βιολογική διαχείριση. Το μήκος αποτελεί αξιόπιστο και εύκολα μετρήσιμο παράγοντα καθώς ενέχει τις μικρότερες πιθανότητες λάθους. Η παρούσα εργασία διενεργήθηκε τον Απρίλιο και τον Μάιο του 2008 και εξετάστηκαν ως προς το ολικό μήκος και το φύλο, άτομα του είδους *Spicara flexuosa* Rafinesque, 1810 (τσέρουλα) που αλιεύθηκαν στο Θερμαϊκό κόλπο με τη χρήση μεταλλικής ιχθυοπαγίδας (ανοίγματος 20mm). Στα συνολικά 606 άτομα που έγινε η ταυτοποίηση του φύλου με μακροσκοπική αναγνώριση των γονάδων τους, το εύρος μήκους ήταν 9,6-18,1cm (μέση τιμή 13,8cm ±1,84). Από αυτά, 236 ήταν θηλυκά, μήκους 9,6-15,4cm (μέση τιμή 12,16cm ±1,045) και 370 αρσενικά, μήκους 10,5-18,1cm (μέση τιμή 14,85cm ±1,42). Η ανάλυση των στοιχείων έδειξε ότι όλα τα άτομα (100%) μικρότερα από 10,5cm ήταν θηλυκά, ενώ σε μήκη 10,5-12,9cm το ποσοστό τους ήταν 89,66%. Το μήκος στο οποίο τα αρσενικά και τα θηλυκά εμφάνισαν την ίδια αναλογία (L50%), εκτιμήθηκε στο 13,24cm. Αυξανόμενου του μήκους (>14cm) το ποσοστό των θηλυκών ήταν μόλις 1,17%. Η εκτιμώμενη αναλογία θηλυκών προς αρσενικά ήταν 1:1,5, αλλά πιθανόν να μην χαρακτηρίζει την πραγματική σύνθεση του πληθυσμού στη περιοχή αλιείας, καθώς τα μικρότερα άτομα που αλιεύθηκαν (θηλυκά) ήταν ήδη γεννητικά ώριμα υποδεικνύοντας ωρίμανση σε μικρότερο μέγεθος από το συλλαμβανόμενο. Κατά την αναπαραγωγική περίοδο του είδους, τα αρσενικά άτομα εμφάνισαν φυλετικό διμορφισμό, όπου ο χρωματισμός του σώματος γίνεται γαλαζοπράσινος με εμφάνιση ιριδιζών μπλε παράλληλων σειρών που διατρέχουν όλο το σώμα και τα άζυγα πτερύγια. Ο χρωματισμός γίνεται πιο έντονος όσο προχωρά η γεννητική ωρίμανση και εξασθενεί με την ολοκλήρωση της.



**SEX IDENTIFICATION ON HERMAPHRODITE PICAREL *Spicara flexuosa*  
(Rafinesque, 1810) BASED ON EXTERNAL CHARACTERISTICS AND  
LENGTH FREQUENCY ANALYSIS**

*Karidas Th., Argiridis N., and G. Minos*

*Alexander Technological Educational Institute Thessalonikis, Department of Aquaculture  
and Fisheries Technology, P.O. Box: 157, N. Moudania 63200.*

*E-mail: [karidas@aqua.teithe.gr](mailto:karidas@aqua.teithe.gr) ; [gminos@aqua.teithe.gr](mailto:gminos@aqua.teithe.gr)*

In the successive hermaphroditism, fishes change sex depending on the age, the size and the composition of school. The effect of these factors in the configuration of sex constitutes an important tool in the fisheries and biological management. The length constitutes a reliable and easily measurable factor since it has the smaller probabilities of bias. The present work was conducted in April and May 2008 and the total length and sex were examined, in individuals of *Spicara flexuosa* Rafinesque, 1810 (picarel) that were fished in the Thermaikos gulf with the use of metal traps (mesh opening 20mm). In a total of 606 individuals that were collected, whose sex was identified macroscopically from their gonadal recognition, the length range was 9.6-18.1cm (mean value 13.8 cm  $\pm$ 1.84). 236 individuals were female, length range 9.6-15.4 cm (mean 12.16cm  $\pm$ 1.045) and 370 male, length range 10.5-18.1 cm (mean 14.85cm  $\pm$ 1.42). The analysis showed that all the individuals (100%) smaller than 10.5 cm were female, while in lengths 10.5 –12.9 cm their percentage was 89.66%. The length in which the male and female appeared in the same proportion (L50%), was estimated in 13.24cm. In longer individuals (> 14cm) the percentage of females was only 1.17%. The estimated proportion of females to males was 1:1.5, but it may not characterize the real composition of population in the region of fishery, since the smaller individuals that were fished (females) were already sexual mature indicating maturation in smaller size than collected. During the reproduction period, the male individuals presented sexual dimorphism, where the coloration of body becomes aquamarine with appearance of opalescent blue parallel rows that run not only through the whole body but the single fins as well. The coloration becomes more intense for as long as the sexual maturation exists and disappears with its completion.

**ΦΥΛΟΕΞΑΡΤΩΜΕΝΗ ΚΑΙ ΧΡΟΝΟΕΞΑΡΤΩΜΕΝΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ  
ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΚΙΝΗΤΟΥ ΤΗΛΕΦΩΝΟΥ ΣΕ ΜΥΣ *Mus musculus***

**Κατσούδη Γ.Μ., Κασιουλή Χ.Μ., Γαβριήλ Α., Φραγκοπούλου Α.Φ.,  
Κουσουλάκος Σ., Μαργαρίτης Α.Χ.**

*Εργ. Βιοφυσικής Ακτινοβολιών, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής,  
Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη 157 84, Αθήνα.  
E-mail: [madofrag@biol.uoa.gr](mailto:madofrag@biol.uoa.gr), [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)*

Σκοπός της εργασίας μας, είναι η μελέτη της επίδρασης της ακτινοβολίας κινητών τηλεφώνων στη βραχυπρόθεσμη μνήμη μυών *Mus musculus*, με τη «δοκιμασία αναγνώρισης αντικειμένων», σύμφωνα με συγκεκριμένο πρωτόκολλο (Pitsikas N. Et al, Behav Brain Res. 183(2):141-6, 2007). Τρεις αρσενικοί και τρεις θηλυκοί μύες, που η μητέρα τους είχε ακτινοβοληθεί με συμβατικό κινητό τηλέφωνο 3h ημερησίως κατά την κύηση (21 ημέρες), δοκιμάστηκαν χωρίς, καθώς και με παράλληλη ακτινοβολία κατά τη διάρκεια της διαδικασίας. Επιπλέον σε άλλη σειρά πειραμάτων εξετάστηκαν έξι θηλυκοί μύες, που δέχονταν ακτινοβολία κινητού τηλεφώνου, από τη γέννησή τους, 1h/day, επί 8 μήνες, καθώς και κατά τις ημέρες της δοκιμασίας, όπου η ακτινοβολία πραγματοποιείται πριν την έναρξη του πειράματος. Η παράμετρος που μελετήθηκε ήταν ο χρόνος εξερεύνησης του κάθε αντικειμένου και αξιολογήθηκε με τους εξής δείκτες: Δείκτης Αναγνώρισης  $RI = N - F / N + F$ , Δείκτης Προτίμησης  $PI = N / N + F$ , όπου N: ο χρόνος ενασχόλησης με το νέο αντικείμενο, F: ο χρόνος ενασχόλησης με το παλαιό. Από τις τιμές των δεικτών συμπεραίνουμε ότι η ακτινοβολία κατά την κύηση δεν επιδρά στους αρσενικούς μύς, ενώ η ταυτόχρονη, με τη διεξαγωγή της δοκιμασίας, ακτινοβολία φαίνεται να επηρεάζει τη βραχυπρόθεσμη μνήμη τους. Ανεξάρτητα από το χρόνο και τον τρόπο ακτινοβολίας, τα θηλυκά άτομα εμφάνισαν ποικιλότητα στη συμπεριφορά τους, γεγονός που το αποδίδουμε στον κύκλο ορμονών τους (οιστρογόνα) που φαίνεται να βελτιώνει την ικανότητα της μνήμης τους (Luine et al., Horm. Behav. 34, 149-162, 1998; Morgan and Pfaff, Horm. Behav 40, 472-482, 2001). Για τα ίδια πειραματόζωα ιστολογικά πειράματα βρίσκονται σε εξέλιξη.

*Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς την Ερευνητική Ομάδα του Καθηγητή Α.Χ. Μαργαρίτη.*

**SEX-RELATED AND TIME-RELATED EFFECT OF RADIATION FROM A  
MOBILE TELEPHONE IN MICE *Mus musculus***

***Katsoudi G.M., Kashouli C.M., Gabriel L., Fragopoulou A.F.,  
Koussoulakos S., Margaritis L.H.***

*Radiation Biophysics Lab, Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology,  
University of Athens, Panepistimiopolis 157 84, Athens.  
E-mail: [madofrag@biol.uoa.gr](mailto:madofrag@biol.uoa.gr) , [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)*

The aim of our project, is to study the effect of irradiation emitted from a mobile phone, to the short-term memory of mice *Mus musculus*, by means of Object Recognition Tasks (ORT), according to a specific protocol (Pitsikas N. Et al. Behav Brain Res. 183 (2): 141-6, 2007). Three male and three female mice from the same mother, who was irradiated during gestation (21 days), 3h daily, were tested in the ORT with and without parallel radiation throughout the task. In a different series of experiments 6 more female mice were examined, irradiated since their birth, 1h/day, throughout an 8 month period. The task was performed immediately after their daily irradiation. The parameter studied was the exploration time at each object, and was evaluated using the following indicators: Recognition Index  $RI = N-F/N+F$ , Preference Index  $PI = N/N+F$ , where N: time spent exploring the new object, F: time spent exploring the familiar object. From the values of the indicators we conclude that irradiation during gestation does not affect male mice, while simultaneous irradiation during the conduct of an ORT, appears to affect their short-term memory. The female mice presented diversity in their behavior independently of the radiation time, which we attribute to their hormone cycle (estrogenic) that appears to improve their non-spatial memory (Luine et al., Horm. Behav. 34, 149-162, 1998; Morgan and Pfaff, Horm. Behav 40, 472-482, 2001). Histological experiments on brain tissues are also being conducted to the above population.

*This study was financed by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to the Research Group of Professor L.H. Margaritis.*

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΩΓΟΥ ΤΟΛΦΕΝΑΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ  
ΣΤΗΝ ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ ΣΕ ΕΠΙΜΥΣ****Καφαλά Ν.<sup>1</sup> Τέστα Θ.<sup>1</sup>, Κουρουνάκη Α.<sup>2</sup> και Μ. Γιάγκου<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης & Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ<sup>2</sup>Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, ΕΚΠΑ

Η πειραματική αρθρίτιδα (ΠΑ) αποτελεί το ζωικό μοντέλο της ρευματοειδούς αρθρίτιδας (ΡΑ) στον άνθρωπο. Επάγεται στους επίμυς με χορήγηση ανοσοενισχυτικού του Freund (FCA). Χαρακτηρίζεται από φλεγμονές στις αρθρώσεις και με αύξηση της συγκέντρωσης και αλλαγές του προτύπου γλυκοσυλίωσης της α1-όξινης γλυκοπρωτεΐνης (AGP) του ορού. Τα Μη Στεροειδή Αντιφλεγμονώδη Φάρμακα (ΜΣΑΦ) είναι η κύρια κατηγορία φαρμάκων που δίνονται για την αντιμετώπιση των χρόνιων φλεγμονωδών παθήσεων, όπως η ΡΑ, με κύρια όμως παρενέργεια γαστρεντερική τοξικότητα. Το αμιδικό παράγωγο του τολφεναμικού οξέος με τον αιθυλεστέρα της L-κυστεΐνης (Α) παρουσιάζει αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση και παράλληλα μειωμένη γαστρεντερική τοξικότητα. Μελετήθηκε η επίδραση του παραγώγου αυτού στην εξέλιξη της ΠΑ σε επίμυς. Τα πρώτα συμπτώματα αρθρίτιδας φαίνονται 12-14 ημέρες μετά τη χορήγηση και μεγιστοποιείται στις 23 ημέρες. Προσδιορίστηκε ότι η δόση των 0,30 mmol/kg του (Α) παρουσιάζει τη μεγαλύτερη αντιαρθρική δράση. Στη δόση αυτή το (Α) οδηγεί σε αποκατάσταση της μειωμένης μιτογονικής απόκρισης των σπληνοκυττάρων των 7-ΠΑ και 23-ΠΑ επίμυων. Διαπιστώθηκε ότι η αγωγή των ΠΑ επίμυων με (Α) αποκαθιστά το μειωμένο αριθμό κυττάρων στο μυελό των οστών (ολικά κύτταρα, μονοκύτταρα και κοκκιοκύτταρα) των ΠΑ επίμυων χωρίς αγωγή. Τα επίπεδα της 40-44 KDa AGP στο πλάσμα και της 50-60 KDa AGP στο εκχύλισμα τόσο των κοκκιοκυττάρων όσο και των μονοκύτταρων του μυελού των οστών των ΠΑ επίμυων είναι αυξημένα. Το (Α) μειώνει τα επίπεδα της AGP σε όλα τα παραπάνω δείγματα και η AGP πιθανά να αποτελεί βιοδείκτη για την εκτίμηση της ΡΑ στον άνθρωπο. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι το (Α) μειώνει την επαγωγή αρθρίτιδας ως αντιφλεγμονώδες και όχι ως ανοσοκατασταλτικό.

Η κα Τέστα είναι υπότροφος του Κρατικού Ιδρύματος Υποτροφιών (Ι.Κ.Υ.).

**EFFECT OF TOLPHENAMIC ACID DERIVATIVE ON THE  
DEVELOPMENT OF ADJUVANT ARTHRITIS IN RATS**

*Kapsala N.<sup>1</sup>, Testa T.<sup>1</sup>, Kourounakis A.<sup>2</sup>, and M. Yiangou<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Dept. of Genetics, Dev. & Mol. Biol., School of Biol., Aristotle Univ. of Thess/niki*

*<sup>2</sup>Div. of Medicinal Chemistry, Dept. of Pharmacy, University of Athens*

Adjuvant arthritis (AA) is considered to be an 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 serum  $\alpha_1$ -acid glycoprotein (AGP). Non Steroidal Antiinflammatory Drugs (NSAIDs) are mainly used in the treatment of chronic inflammatory diseases such as rheumatoid arthritis, their main undesirable effect being gastrointestinal ulceration. The amide derivative of tolfenamic acid with L-cysteine ethyl ester (A) shows antioxidant, anti-inflammatory activity as well as greatly reduced gastrointestinal toxicity. We hereby studied the effect of derivative A on the development of AA in rats. The onset of AA observed 12-14 post FCA administration reaching maximum by day 23. Dose response experiments revealed that the dose of 0,30 mmol/kg of A exhibited the highest remission of arthritis development. At that dose, A leads to the restoration of the reduced mitogenic response of 7AA and 23AA spleen cells. It was also determined how derivative A affects the bone marrow (BM) cell populations (whole cells, mononuclear cells and granulocytes). It was established that treatment of AA rats with A reconstitutes the reduced number of cells in the BM non-treated AA rats. Western blot analysis showed increased levels of 40-44 KDa AGP isoform in the plasma and 50-60 KDa AGP isoform in the extracts of BM granulocytes as well as BM mononuclear cells of AA rats. A reduces the AGP levels in all of the above samples suggesting that AGP may potentially be used as a biomarker for the assessment of RA in human. Our data indicate that the antioxidant derivative A exerts its antiarthritic effect as an anti-inflammatory agent.

*Ms Testa is a recipient of a State Scholarships Foundation Fellowship.*

**ΕΝΑ ΣΥΝΘΕΤΙΚΟ ΠΕΠΤΙΔΙΟ ΤΟΥ ΑΥΞΗΤΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ HARP,  
ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΕΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΑΝΤΙΘΕΤΕΣ ΑΠΟ ΑΥΤΕΣ ΤΟΥ  
ΟΛΟΚΛΗΡΟΥ ΜΟΡΙΟΥ**

*Καψάλη Α. και Π. Κατσώρης*

*Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή  
Θετικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26 500 Πάτρα.  
E-mail: akapsali@upatras.gr*

Η HARP (Heparin Affin Regulatory Peptide) είναι ένας αυξητικός παράγοντας με Μ.Β. 18 kDa που ανήκει στην οικογένεια των αυξητικών παραγόντων που έχουν συγγένεια με την ηπαρίνη. Εμπλέκεται στην ανάπτυξη των νευριτών, την επούλωση πληγών και φαίνεται να παίζει σημαντικό επαγωγικό ρόλο στις διαδικασίες της ογκογένεσης, καθώς επάγει την αγγειογένεση και εμφανίζεται σε υψηλές συγκεντρώσεις τόσο σε καρκινικούς ιστούς, όσο και σε κυτταρικές σειρές καρκινικών κυττάρων. Στο πλαίσιο μελέτης της σχέσης δομής/δράσης του αυξητικού αυτού παράγοντα, χρησιμοποιήθηκαν τόσο συνθετικά πεπτιδία, όσο και ανασυνδυασμένες τροποποιημένες μορφές του αυξητικού αυτού παράγοντα. Σε φυσιολογικές συνθήκες, η εκκρινόμενη HARP πέπτει από ένζυμα του κυτταρικού μικροπεριβάλλοντος και προκύπτουν πεπτιδία που παρουσιάζουν βιολογικές δράσεις παρόμοιες ή και αντίθετες από αυτές της HARP. Φαίνεται λοιπόν πως η δράση του αυξητικού αυτού παράγοντα ρυθμίζεται τόσο στο επίπεδο βιοσύνθεσης και έκκρισης, όσο και από τη δράση ενζύμων του εξωκυττάρου χώρου. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η δράση ενός συνθετικού πεπτιδίου το οποίο βρίσκεται στην καρβοξυτελική περιοχή της HARP. Με δεδομένο ότι το πεπτιδίο αυτό εμφανίζει αντιαγγειογενετική δράση, πραγματοποιήθηκαν χρονοεξαρτώμενα και δοσοεξαρτώμενα πειράματα, με σκοπό τη μελέτη της δράσης του στον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και την επούλωση πληγών. Στο πλαίσιο αυτών των μελετών, ελέγξαμε τη δράση του στην έκφραση των μεταλλοπρωτεϊνών MMP-2 και MMP-9, των αναστολέων τους TIMP-1 και TIMP-2 καθώς και του κολλαγόνου και της ελαστίνης σε πρωτογενείς καλλιέργειες ενδοθηλιακών κυττάρων από ομφάλιο λώρο (HUVEC cells).

## **A HARP SYNTHETIC PEPTIDE COUNTER BALANCING ITS BIOLOGICAL ACTIONS**

*Kapsali A., and P. Katsoris*

*Division of Genetics, Cellular Biology and Development, School of Natural Sciences,  
Department of Biology, University of Patras, 26 500 Patras, E-mail: akapsali@upatras.gr*

Heparin affin regulatory peptide (HARP) is an 18 kDa secreted growth factor that has a high affinity for heparin and a potent role on tumor growth and angiogenesis. HARP was originally described as a neurite outgrowth promoting molecule, which appears to increase during recovery from injury. It is involved in angiogenesis, playing a major role in the cell growth and differentiation that are associated with regeneration of several tissues. HARP is expressed in several human tumors and tumor cell lines and is found in high levels in serum of patients with different types of cancer. In order to investigate the action of HARP, we have synthesized peptides and recombinant forms of this growth factor. The secreted HARP is digested by enzymes of cell microenvironment, generating peptides with the same or opposite actions of HARP. Thus, it seems that the biological actions of HARP are regulated by biosynthetic and secretion procedures, as well as by the activity of enzymes secreted to the extracellular space. In this project, we investigated the role of a synthetic peptide corresponding to the carboxy-terminal region of HARP. Since the peptide shows an anti-angiogenic activity, we carried out time- and dose-dependent experiments to investigate its implication in proliferation, migration and wound healing procedures. Additionally, we studied the expression of MMP-2, MMP-9 and their inhibitors TIMP-1 and TIMP-2, as well as the expression of collagen and elastin in "in vitro" cultured human umbilical vein endothelial cell (HUVEC).

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΚΥΚΛΟΥ ΖΩΗΣ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *Gambusia holbrooki* ΣΤΗΝ  
ΛΙΜΝΗ ΠΑΜΒΩΤΙΔΑ****Κιοσσέ Θ., Γκένας Χ., Λεονάρδος Ι.**

Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών,  
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110, Ιωάννινα, E-mail: [ileonard@cc.uoi.gr](mailto:ileonard@cc.uoi.gr)

Το κουνουπόψαρο, *Gambusia holbrooki*, είναι ένα ενδημικό είδος της Ανατολικής και Βόρειας περιοχής των ΗΠΑ το οποίο ανήκει στην οικογένεια Poeciliidae. Το είδος αυτό εισήχθη στα εσωτερικά ύδατα της Ευρώπης στις αρχές του 20<sup>ου</sup> αιώνα για την καταπολέμηση της ελονοσίας, εξαιτίας τη φήμης του ότι τρέφεται κυρίως με υδρόβιες προνύμφες και ενήλικα άτομα κουνουπιών. Από οικολογικής άποψης, η εισαγωγή του είδους αυτού στα υδάτινα οικοσυστήματα είχε βλαβερές επιπτώσεις στους υδρόβιους οργανισμούς. Στην παρούσα έρευνα, μελετήθηκε η δομή πληθυσμών και ορισμένες παράμετροι της βιολογίας του είδους, σε δύο διαφορετικές τοποθεσίες στη Λίμνη Παμβώτιδα. Οι σταθμοί δειγματοληψίας (Βοτανικός, Ντραμπάτοβα) διέφεραν μεταξύ τους ως προς το βάθος του νερού, τη βλάστηση καθώς και τη μορφή και κάλυψη του πυθμένα. Οι μηνιαίες δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν στο διάστημα μεταξύ Απριλίου 2007 και Ιουνίου 2008 με τη χρήση απόχης. Μελετήθηκαν και καταγράφηκαν για κάθε φύλο σε μηνιαία βάση η αναλογία φύλου, η κατά μήκος σύνθεση των πληθυσμών του είδους, η σχέση μήκους-βάρους των ατόμων, ο ηπατοσωματικός και γοναδοσωματικός δείκτης. Η αναλογία θηλυκών-αρσενικών βρέθηκε να είναι 2:1. Η κατά μήκος σύνθεση του είδους βασίστηκε σε μετρήσεις του ολικού μήκους και εμφάνισε δύο ηλικιακές κλάσεις. Η μελέτη της σχέσης ολικού μήκους – ολικού βάρους έδειξε ότι τα θηλυκά (βοτανικός  $b=3.17$ , Ντραμπάτοβα  $b=3.07$ ) ήταν μεγαλύτερου μεγέθους των αρσενικών (βοτανικός  $b=2.43$ , Ντραμπάτοβα  $b=2.85$ ) παρουσιάζοντας στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p<0.01$ ) και στους δυο σταθμούς. Το κουνουπόψαρο παρουσιάζει φυλετικό διμορφισμό ως προς το μέγεθος αλλά και την παρουσία γονοποδίου στο εδρικό πτερύγιο των αρσενικών. Το είδος εμφανίζει παρατεταμένη ζωοτοκία με την αναπαραγωγική του ακμή να κυμαίνεται από τον Απρίλιο μέχρι τον Ιούλιο.



**LIFE-HISTORY PATTERN OF *Gambusia holbrooki* IN LAKE PAMVOTIS,  
IOANNINA**

*Kiosse Th., Gkenas Chr., Leonardos I.D.*

*Laboratory of Ichthyology, Department of Biological Applications and Technologies,  
University of Ioannina, 45110, Ioannina E-mail: [ileonard@cc.uoi.gr](mailto:ileonard@cc.uoi.gr)*

The mosquitofish, *Gambusia holbrooki*, is native to the Eastern and Southern United States and belongs to the family Poeciliidae. *Gambusia holbrooki* were introduced in the inland waters of Europe in the beginning of the 20<sup>th</sup> century to fight against malaria because they feed mainly on the aquatic larval and adult stages of mosquitoes. From an ecological point of view, the introduction of the species had been highly damaging to the endemic aquatic life. In the present study, the population structure and dynamics as well as certain biological parameters of *Gambusia holbrooki* are studied in two locations in the Lake Pamvotis. Sampling stations (Votanikos, Ntrambatova) differed in terms of the depth of the water, vegetation and the composition of the bottom. Monthly samples were collected from April 2007 to June 2008 using a hand net. The sex ratio, size frequency distributions, the total length – total weight relationship, hepatosomatic and gonadosomatic index for male and female specimens were monthly studied and recorded. Sex ratio was found to be 2:1. The size frequency distribution presented two length classes. The total length – total weight relationship showed that females (Votanikos  $b=3.17$ , Ntrambatova  $b=3.07$ ) were significant bigger than males (Votanikos  $b=2.43$ , Ntrambatova  $b=2.85$ ) in both locations ( $p<0.01$ ). The species shows sex dimorphism not only regarding the size but also the presence of gonopodium in the males' anal fin. The spawning period of the species is extended reaching its reproductive peak from April to July.

**ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ DQA ΚΑΙ DRB1 ΤΟΥ  
ΜΕΙΖΟΝΟΣ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ ΙΣΤΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ (MHC) ΤΑΞΗΣ II  
ΣΕ ΚΑΘΑΡΟΑΙΜΕΣ, ΕΚΤΡΕΦΟΜΕΝΕΣ ΦΥΛΕΣ ΧΟΙΡΩΝ**

*Κόκκαλη Χ., Κουτσογιαννούλη Ε., Σταμάτης Κ., Μούτου Κ., Σαραφίδου Θ.,  
Μαμούρης Ζ.*

*Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πλούτωνος 26  
και Αιόλου, 41221 Λάρισα, E-mail: [evkoutis@gmail.com](mailto:evkoutis@gmail.com)*

Ο μεγάλος γενετικός πολυμορφισμός που διατηρείται λόγω επιλογής είναι ένα από τα θεμελιώδη ενδιαφέροντα της εξελικτικής βιολογίας, η οποία μελετά τόσο την προέλευση και τη διατήρησή του όσο και τους μηχανισμούς που προκαλούν αλλαγές στις αλληλομορφικές συχνότητες. Λίγα γενετικά συστήματα έχουν χαρακτηριστεί τόσο καλά σε γενωμικό, πληθυσμιακό και λειτουργικό επίπεδο, όπως το MHC. Σε όλα τα σπονδυλωτά που έχουν μελετηθεί μέχρι σήμερα τα γονίδια του MHC είναι τα πλέον πολυμορφικά. Όλα τα παραπάνω καθιστούν το MHC μοντέλο ελέγχου υποθέσεων για τις αιτίες και τις συνέπειες της επιλογής. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η μελέτη του MHC σε μικρούς πληθυσμούς εξημερωμένων ειδών καθώς και σε είδη που έχουν υποστεί έντονη ανθρώπινη μεταχείριση, παράγοντες που επηρεάζουν τη γενετική ποικιλομορφία. Ένα είδος που συγκεντρώνει τα παραπάνω χαρακτηριστικά είναι ο οικόσιτος χοίρος του οποίου η εξημέρωση συνέβη πριν 9.000 χρόνια. Η συγκεκριμένη μελέτη αφορά τη μελέτη των γονιδίων DQA και DRB1 στις φυλές Leicoma (18 άτομα), Pietrain (14 άτομα) και Landrace (40 άτομα). Η ανάλυση έγινε με τη μέθοδο SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) σε συνδυασμό με άμεση αλληλούχιση. Συνολικά βρέθηκαν 6 αλληλόμορφα του DRB1 και 4 αλληλόμορφα του DQA. Ορισμένα από αυτά, χαρακτηριστικά για την κάθε φυλή. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η φυλογενετική μελέτη των αλληλομόρφων και η σύγκρισή τους με αλληλόμορφα των γονιδίων που ήδη έχουν δημοσιευτεί. Τα αποτελέσματα αυτά αναλύονται σε σχέση με το γενετικό υπόβαθρο καθώς και την εξελικτική θέση του είδους.

**MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *DQA* AND *DRB1* GENES OF  
MAJOR HISTO-COMPATIBILITY COMPLEX (MHC) IN PUREBLOOD  
LIVESTOCK PIGS RACES**

*Kokkali Chr., Koutsogiannouli E., Stamatis C., Moutou K., Sarafidou Th.,  
Mamuris Z.*

*University of Thessaly, Department of Biochemistry and Biotechnology, Ploutonos 26 &  
Aiolou street, Larissa, E-mail: [evkouts@gmail.com](mailto:evkouts@gmail.com)*

High genetic polymorphism maintained by natural selection is one of the fundamental issues of evolutionary biology that focuses on the origin and maintenance of polymorphism as well as the mechanisms differentiating allelic frequencies. Few genetic systems are as thoroughly characterized at the genomic, population, and functional levels as the MHC genes. In all vertebrate studied so far MHC genes are the most polymorphic. All these make MHC a potential model for testing hypotheses on the causes and consequences of selection. Of great interest are MHC studies in small populations of domesticated species and in species under strong human manipulation, factors that affect genetic variation. A species that accumulate these characteristics is domestic pig, for which domestication occurred 9.000 years ago. This study concerns the analysis of *DQA* and *DRB1* genes in the races Leicoma (18 individuals), Pietrain (14 individuals) and Landrace (40 individuals). Analysis was performed using SSCP method (Single Strand Conformation Polymorphism) combined with direct sequencing. In total, six *DRB1* and four *DQA* alleles were detected. Some of these were characteristic within each race. Furthermore, our data were phylogenetically analysed and compared with alleles previously published. These results are discussed with respect to genetic background and the evolutionary place of the species.

**ΟΣΤΕΟΕΝΣΩΜΑΤΩΣΗ ΟΣΤΙΚΩΝ ΕΜΦΥΤΕΥΜΑΤΩΝ. ΜΙΑ ΠΟΛΥΠΛΕΥΡΗ  
ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ**

*Κόκκινος Π.Α., Δεληγιάννη Δ.Δ.*

*Εργαστήριο Εμβιομηχανικής και Βιοϊατρικής Τεχνολογίας, Τμήμα Μηχανολόγων  
και Αεροναυπηγών Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πανεπιστημιούπολη  
26500 Ρίο*

Εξαιτίας της αύξησης του προσδόκιμου μέσου όρου ζωής, καθώς και της συνεχόμενης αύξησης των περιστατικών οστικών καταγμάτων, η ανάγκη για οστικά εμφυτεύματα αυξάνεται συνεχώς. Υπολογίζεται ότι πραγματοποιούνται ετησίως 1.000.000 περίπου χειρουργικές επεμβάσεις παγκοσμίως, με σκοπό την εισαγωγή εμφυτευμάτων ισχίου και γονάτου, ενώ τα οδοντικά εμφυτεύματα ξεπερνούν κατά πολύ αυτό το νούμερο. Η βελτιστοποίηση των ορθοπεδικών εμφυτευμάτων αποτελεί ένα σημαντικό στόχο, δεδομένου ότι ο η αναμενόμενη διάρκεια ζωής τους είναι σήμερα 10-15 χρόνια περίπου. Τα ορθοπεδικά εμφυτεύματα πρέπει να χαρακτηρίζονται πλέον εκτός από πολύ καλές μηχανικές ιδιότητες και βιοσυμβατότητα και από επιπρόσθετες ιδιότητες επαγωγής σχηματισμού οστικού ιστού, με στόχο την επίτευξη μίας γρήγορης και αποτελεσματικής οστεοενσωμάτωσης μακράς διάρκειας. Στα πλαίσια της παρούσας ερευνητικής προσέγγισης, έγινε προσπάθεια κατανόησης του ρόλου της μηχανικής φόρτισης, με τη μελέτη της απόκρισης ανθρώπινων οστεοβλαστικών κυττάρων μυελού των οστών, τα οποία αναπτύχθηκαν σε ορθοπεδικό κράμα τιτανίου (Ti-6Al-4V), υπό δυναμικές συνθήκες. Επίσης, σχεδιάστηκαν πειράματα για την κατανόηση του ρόλου της επιφανειακής μικροτοπογραφίας του εμφυτεύματος, στη διαδικασία της οστεοενσωμάτωσης. Για το σκοπό αυτό, μελετήθηκε η συμβολή ιντεγκρινικών υποονάδων στη δύναμη προσκόλλησης οστεοβλαστών σε ορθοπεδικά βιοϋλικά με διαφορετική επιφανειακή τραχύτητα, ενώ μελετήθηκε ακόμα ο ρόλος της οργανωμένης επιφανειακής μικροτοπογραφίας (παράλληλων μικροαυλακώσεων), οι οποίες παράχθηκαν με χρήση μικροκατασκευαστικών τεχνικών. Ερευνήθηκε ακόμα η δυνατότητα ανάπτυξης συστήματος χορήγησης φαρμάκου, με το συνδυασμό τεχνολογιών παραγωγής λιποσωμικών οχημάτων και χημείας PLL-g-PEG. Τέλος, μελετήθηκε η ενεργοποίηση του συστήματος του συμπληρώματος από μικροσωματίδια προϊόντα φθοράς ορθοπεδικών υλικών. Τα σωματίδια αυτά προκαλούν την λεγόμενη ασηπτική οστεόλυση και αποτελούν μία από τις κύριες αιτίες αστοχίας των εμφυτευμάτων.

## **OSSEOINTEGRATION OF BONE IMPLANTS: A MULTIDISCIPLINARY APPROACH**

*Kokkinos P.A., Deligianni D.D.*

*Laboratory of Biomechanics and Biomedical Engineering, Department of Mechanical  
Engineering and Aeronautics, University of Patras, University Campus, GR 26 500 Rio,  
Greece*

The need for bone implants is continuously increased, mainly due to an increase in human average lifespan, and to a continuous increase of bone fractures. It is estimated that 1.000.000 knee and hip implants are implanted annually worldwide, and the number of the implanted dental implants is much higher. Today, the mean life of orthopedic implants ranges between 10 and 15 years, and their development is a main aim for both academia and industry. For a rapid and effective long term osseointegration, orthopedic implants have to be characterized not only by very good mechanical properties and biocompatibility, but also by bone tissue induction properties. In the present study, we have focused on the role of mechanical loading on the osseointegration process, through the study of the responses of human bone marrow derived osteoblasts growing on an orthopedic alloy of titanium (Ti-6Al-4V) under dynamic conditions. We have also studied the role of implant surface microtopography, by estimating the contribution of different intergrin subunits on the attachment force of osteoblasts growing on orthopedic implant materials with different surface roughness. The role of highly organized surface microtopography (parallel microgrooves) which were produced by microfabrication techniques, has also been studied. For the development of a novel drug delivery system, the combination of production technologies of liposomic vehicles and the chemistry of PLL-g-PEG has been investigated. Finally, it has been studied the complement system activation by orthopedic prosthetic particulates. Particulate wear debris from prosthetic materials or bone cement cause aseptic osteolysis and is the main reason of implant failure.

**ΜΟΡΦΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ ΤΩΝ ΩΟΚΥΤΤΑΡΩΝ  
ΣΕ ΕΚΤΡΕΦΟΜΕΝΟΥΣ ΓΕΝΝΗΤΟΡΕΣ ΤΟΥ ΦΑΓΚΡΙΟΥ, *Pagrus pagrus*  
(Linnaeus, 1758)**

**Κοκοκύρης Λ., Κιάκη Κ., Μονοκρούσος Ν.<sup>1</sup>**

Τμήμα Τεχνολογίας Αλιείας και Υδατοκαλλιέργειών, Αλεξάνδρειο  
Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης,<sup>1</sup>Τμήμα Βιολογίας,  
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Στην εργασία αυτή περιγράφηκαν τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των ωοκυττάρων του φαγκριού σε υποκυτταρικό επίπεδο και το μέγεθος των ωοκυττάρων σε σχέση με το μέγεθος των θηλυκών ατόμων, για την καλύτερη κατανόηση του προτύπου ανάπτυξης των ωοκυττάρων σ' αυτό το ερμαφρόδιτο και εμπορικό είδος ψαριού. Μετρήθηκε η διάμετρος σε 27.800 ωοκύτταρα από παρασκευάσματα 137 ωοθηκών, προερχόμενων από ισάριθμα θηλυκά σταθερού μήκους (SL) από 19 έως 40cm. Τα αποτελέσματα συσχετίστηκαν με το μήκος των θηλυκών, μετά από ομαδοποίηση των θηλυκών σε πέντε κλάσεις μεγέθους. Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά αλλά και το μέγεθος των ωοκυττάρων ενός συγκεκριμένου σταδίου δεν μεταβάλλονται σε σχέση με το μέγεθος των θηλυκών. Μοναδική εξαίρεση αποτελούν τα προλεκιθογόνα ωοκύτταρα, το μέγεθος των οποίων αυξάνεται σημαντικά. Σε αντίθεση με τα μορφολογικά χαρακτηριστικά και το μέγεθος, η αφθονία των δευτερογενών ωοκυττάρων (λεκιθικά) είναι μικρή κατά την πρώτη γεννητική ωρίμανση (κλάση μεγέθους 2) και σταθεροποιείται μόνο μετά από αυτήν, δηλαδή κατά τη δεύτερη ωρίμανση, αυξάνοντας την δυναμική γονιμότητα του είδους. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ενώ μπορούμε να ομαδοποιήσουμε τα ωοκύτταρα του φαγκριού σε ομάδες, με κριτήριο τα ιστολογικά χαρακτηριστικά τους, δεν μπορούμε να τα ομαδοποιήσουμε με κριτήριο τη διάμετρος τους και αυτό γιατί υπάρχει μια μεγάλη ποικιλία μεγεθών για κάθε στάδιο ανάπτυξης αλλά και αλληλεπικαλύψεις μεταξύ των διαφορετικών σταδίων. Αυτά τα δεδομένα αναδεικνύουν νέα και χρήσιμα δεδομένα για την αναπαραγωγική βιολογία των Σπαροειδών.

**FOLLICULAR DIAMETER RANGE BASED ON MORPHOLOGICAL  
FEATURES IN REAR FEMALE RED PORGY, *Pagrus pagrus* (Linnaeus, 1758)**

*Kokokiris L., Kiaki K., Monokroussos N.<sup>1</sup>*

*Department of Fisheries Technology and Aquaculture, Alexandre Technological and  
Educational Institute of Thessaloniki, <sup>1</sup>Department of Biology, Aristotle University of  
Thessaloniki*

The morphological characteristics of the red porgy oocytes in various developmental stages were described and the size of oocytes was analyzed in relation to the female length for an accurate interpretation of the oocytes frequency pattern in this hermaphroditic and economically valuable fish species. The diameter was measured in 27.800 oocytes, on histological sections from 137 fish ovaries, belonging to females measured from 19 to 40 cm of standard length (SL). These values were correlated to standard fish length, after grouping all individuals in five size classes. The morphological characteristics and the size of oocytes in a determined developmental stage do not change during the female growth, with the exception of previtellogenic oocytes, which significantly increase their size. On the contrary, the frequency of the secondary phase oocytes (vitellogenic) is significantly lower at the first sexual maturity (size class 2) but tends to stabilize at the third and fourth sexual maturities by increasing the potential fecundity of this species. It is possible to group oocytes by stages according to histological characteristics but not according to morphometric diameter as there was a wide variation in diameter in each stage and overlap between different maturation stages. These data make available new information on the reproductive biology of Sparidae.

**ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΟΥ ΚΛΑΔΟΚΕΡΩΤΟΥ *Daphnia magna*  
(Straus, 1820) ΣΕ ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΩΣ ΚΑΙ ΤΡΙΤΟΓΕΝΩΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΑ  
ΑΠΟΒΛΗΤΑ ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΙΧΘΥΟΝΥΜΦΩΝ**

**Κοκοκύρης Α., Κρασσάκου Μ., Πεταλά Μ.<sup>1</sup>**

Τμήμα Τεχνολογίας Αλιείας και Υδατοκαλλιέργειών, Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό  
Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης, <sup>1</sup>Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Αριστοτέλειο  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Ο σκοπός της εργασίας ήταν να αξιολογήσει υγρά απόβλητα δευτερογενούς και τριτογενούς επεξεργασίας, στην αύξηση και την αναπαραγωγή ατόμων του κλαδοκερωτού, *Daphnia magna*. Για το σκοπό αυτό αναπτύχθηκαν δύο πειράματα. Στο πρώτο πείραμα αξιολογήθηκαν τέσσερα υγρά απόβλητα (Α: δευτερογενής επεξεργασία, Ακ: κροκιδωμένο απόβλητο, Αο: οζονισμένο απόβλητο και Ακο: κροκιδωμένο και οζονισμένο απόβλητο) συγκριτικά με το φυσικό νερό (Φ), σε δύο διαφορετικά πρωτόκολλα σίτισης (διατροφή με πίτουρο ρυζιού, Δπ ή με το χλωροφύκος *Chlorella sp*, Δch.). Στο δεύτερο πείραμα, αναπτύχθηκε η καλλιέργεια του καταλληλότερου απόβλητου (Ακ) με το αποτελεσματικότερο πρωτόκολλο σίτισης (Δπ). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα απόβλητα δευτερογενούς επεξεργασίας (Α) ευνοούν σημαντικά λιγότερο την καλλιέργεια συγκριτικά με τα τριτογενώς επεξεργασμένα (Ακ, Αο και Ακο) ενώ γενικά η καλλιέργεια σε απόβλητα υπολείπονταν σε αποδόσεις της καλλιέργειας στο φυσικό νερό. Συγκριτικά με τα άλλα απόβλητα, η κροκιδώση αύξησε σημαντικά τη γονιμότητα και το μέγεθος των ατόμων ενώ η διατροφή με πίτουρο συνέβαλε στην παραγωγή πιο μεγαλόσωμων ατόμων συγκριτικά με το φυτοπλαγκτό και ως εκ τούτου σε μεγαλύτερη τελική βιομάζα. Η τελική βιομάζα στην καλλιέργεια με φυσικό νερό ήταν 91 mg ξβ/lt (788 άτομα/lt) ενώ στο Ακ ήταν μόλις 16 mg ξβ/lt (129 άτομα/lt). Αν και οι αποδόσεις της καλλιέργειας στο κροκιδωμένο απόβλητο αντιστοιχούν στο 20% αυτών στο φυσικό νερό, τα κροκιδωμένα απόβλητα ίσως θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στα πλαίσια ανάκτησης των υγρών αποβλήτων για την εναλλακτική καλλιέργεια της *D. magna*.



**EXPERIMENTAL CULTURE OF THE CLADOCERAN *Daphnia magna* (Straus,  
1820) IN SECONDARILY AND TERTIARY WASTEWATERS FOR THE  
FEEDING OF FISH LARVAE**

*Kokokiris L., Krassakou M., Petala M.*<sup>1</sup>

*Department of Fisheries Technology and Aquaculture, Alexandre Technological and  
Educational Institute of Thessaloniki, <sup>1</sup>Department of Chemical Engineering, Aristotle  
University of Thessaloniki*

The aim of this study was to evaluate the effects of secondarily and tertiary wastewaters to growth and reproduction of the cladoceran *Daphnia magna* and to develop the test culture into the optimal effluent medium. Two experiments, twenty one days long each, were performed. During the first experiment four types of effluents were analyzed (A: secondary effluent, A<sub>K</sub>: tertiary effluent treated by coagulation, A<sub>O</sub>: tertiary effluent treated by ozonation and A<sub>KO</sub>: tertiary treated effluent by coagulation and ozonation) comparing to the natural water (Φ) as medium. Moreover, two standard food regimes (wheat bran, *Wb* or algae, *Chlorella sp*, *Ch*) were used. During the second experiment, the *D. magna* cultured in the A<sub>K</sub> medium with the more effective food regime (*Wb*) The results showed that the secondary effluents (A), encouraged considerably least the culture comparatively with the tertiary effluents (A<sub>K</sub>, A<sub>O</sub>, A<sub>KO</sub>) but the culture in natural water (Φ) surpassed that of effluents, especially after the feeding with bran. Among tertiary effluents the A<sub>K</sub> practised the most favourable effect improving considerably the fertility and the size of individuals. The diet *Wb* resulted in the production of bigger individuals comparatively with algae and contributed in the production of higher biomass. The final biomass in the natural water as medium (Φ) was 91 mg dw/lit (788 ind/lit) while in the tertiary treated A<sub>K</sub> was only 16 mg dw/lit (129 ind/lit). Even if the yields of culture in the coagulated effluent corresponded roughly in 20% those of natural water it could be used in the frame of reclamation of wastewaters for the alternative culture of *D. magna*.

**ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΚΙΝΑΣΗΣ ΤΗΣ ΚΑΖΕΪΝΗΣ 2 (CK2) ΤΟΥ  
ΜΥΔΙΟΥ *Mytilus galloprovincialis*****Κολαΐτη Ρ.-Μ.<sup>1</sup>, Szyszka R.<sup>2</sup> και Σ. Κουγιανού-Κουτσούκου<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας  
Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστημιόπολις, Αθήνα 15701, Ελλάδα<sup>2</sup>John Paul II Catholic University of Lublin, Department of Molecular Biology, Al.  
Krasnicka 102, 20-718 Lublin, Poland

Η αντιστρεπτή φωσφορυλίωση των ριβοσωμικών Ρ-πρωτεϊνών, που συνιστούν τον ριβοσωμικό μίσχο  $P0(P1)_2(P2)_2$  της μεγάλης ριβοσωμικής υπομονάδας, ρυθμίζει την μεταφραστική ενεργότητα των ριβοσωμάτων. Η Κινάση της Καζεΐνης 2 (CK2) είναι μία πλειοτροπική κινάση που φωσφορυλιώνει θέσεις Σερίνης/ Θρεονίνης σε πολλά υποστρώματα, μεταξύ των οποίων και τις Ρ-πρωτεΐνες του ριβοσωμικού μίσχου. Η CK2 έχει δομή τετραμερούς και αποτελείται από δύο καταλυτικές υπομονάδες (α ή α') που συνδυάζονται με μία διμερή β ρυθμιστική υπομονάδα. Για να λειτουργήσει μια πρωτεΐνη ως υπόστρωμα της CK2 πρέπει απαραίτητα να περιλαμβάνει την αλληλουχία πεπτιδίων S/T-x-x-E/D. Στην μελέτη αυτή παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της απομόνωσης της CK2 του μυδιού *Mytilus galloprovincialis* με ιοντοανταλλακτική χρωματογραφία και χρωματογραφία συγγένειας και του ελέγχου της ενεργότητας της κινάσης (kinase assay). Η απομόνωση έγινε αρχικά με ανιονανταλλακτική χρωματογραφία (DEAE-cellulose), συνεχίστηκε με κατιονανταλλακτική χρωματογραφία (Phospho-cellulose) και ολοκληρώθηκε με χρωματογραφία συγγένειας (Heparin affinity). Ο έλεγχος της ενεργότητας της καταλυτικής α υπομονάδας της κινάσης (MgCK2α) έγινε με υποστρώματα τις ανασυνδυασμένες ριβοσωμικές πρωτεΐνες rMgP1 και rMgP2 του μυδιού (Kolaiti et al., 2009) και την rScP2β του ζυμομύκητα *Saccharomyces cerevisiae*. Επίσης, έγινε σύγκριση της ενεργότητας της MgCK2α με την rHsCK2α του ανθρώπου, ως προς τα ίδια υποστρώματα. Η ενεργότητα της MgCK2α μελετήθηκε περαιτέρω παρουσία αναστολέων όπως η σπερμίνη, η ηπαρίνη, το TBBt και η ανασυνδυασμένη Υπεροξειδική Δισμουτάση (rMgSOD), που απομονώθηκε από την ομάδα μας σε ενεργή μορφή: η rMgSOD και η σπερμίνη καταστέλλουν μερικώς την κινάση, ενώ η ηπαρίνη και το TBBt την καταστέλλουν πλήρως.

Το πρόγραμμα αυτό χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΛΚΕ 2008, 70/4/7803 στην Σ.Κ) και το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών (ΙΚΥ στην Ρ.Μ.Κ.).

**PURIFICATION AND STUDY OF CASEIN KINASE 2 (CK2) IN THE MUSSEL  
*Mytilus galloprovincialis***

**Kolaiti R.-M.<sup>1</sup>, Szyszka R.<sup>2</sup>, and S. Kouyanou-Koutsoukou<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>National and Kapodistrian University of Athens, Faculty of Biology, Department of  
Genetics and Biotechnology, Panepistimiopolis, Athens 15701

<sup>2</sup> John Paul II Catholic University of Lublin, Department of Molecular Biology, Al.  
Krasnicka 102, 20-718 Lublin, Poland

Reversible phosphorylation of ribosomal P1/P2 proteins controls the ribosomal activity during protein synthesis. Ribosomal acidic P1 and P2 proteins, together with P0 protein consist the pentameric protuberance or stalk, P0(P1/P2)<sub>2</sub>, of the large ribosomal subunit. Casein Kinase 2 (CK2) is a highly conserved Ser/Thr protein Kinase that phosphorylates in vitro proteins sharing with casein the consensus sequence S/T-XX-/D/E. The mammalian enzyme is isolated as an aa'b<sub>2</sub>, a<sub>2</sub>b<sub>2</sub> or a'<sub>2</sub>b<sub>2</sub> tetramer. The ribosomal P-proteins are phosphorylated by CK2 at the equivalent position in the amino acid sequence, namely at the serine residue closest to the C-terminal end of polypeptides. In this study we present the purification of CK2 of the mussel *Mytilus galloprovincialis* with ion exchange chromatography and affinity chromatography, as well as, the control of the kinase activity (kinase assay). The purification was performed at first with anion-exchange chromatography (DEAE-cellulose), followed with cation-exchange chromatography (Phospho-cellulose) and completed with affinity chromatography (Heparin affinity). The activity of the catalytic subunit  $\alpha$  of kinase (MgCK2 $\alpha$ ) was tested using as substrates the purified recombinant ribosomal proteins rMgP1 and rMgP2 of *M. galloprovincialis* (Kolaiti et al., 2009) and the rScP2 $\beta$  protein of *Saccharomyces cerevisiae*. The activity of MgCK2 $\alpha$  was also compared against human rHsCK2 $\alpha$ , with the same substrates. Spermine, Heparin, TBBt and recombinant Superoxide Dismutase (rMgSOD) purified in active form from our team, was successfully used as an inhibitor of CK2a. rMgSOD and Spermine caused partial inhibition of MgCK2 $\alpha$ , while Heparin and TBBt totally inhibited the activity of MgCK2 $\alpha$ .

*This project has been supported by the Special Account for Research Grants of Athens University (SARG 2008, 70/4/7803 to SK) and by the National Fellowship Foundation (IKY), (fellowship to RMK).*

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΥΝΕΧΩΣ ΕΚΠΕΜΠΟΜΕΝΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΤΟΥ  
BLUETOOTH ΜΕ ΚΑΛΩΔΙΟ ΣΤΗΝ ΩΟΓΕΝΕΣΗ ΤΟΥ ΔΙΠΤΕΡΟΥ  
ENTOMOY *Drosophila melanogaster***

**Κόλλια Ι., Χαβδούλα Ε. και Α.Χ. Μαργαρίτης**

*Εργ. Βιοφυσικής Ακτινοβολιών, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής,  
Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη 157 84, Αθήνα.  
E-mail: [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)*

Το Bluetooth θεωρείται ως ένα βιομηχανικό πρότυπο για ασύρματη τηλεπικοινωνιακή τεχνολογία μικρών αποστάσεων, η οποία μπορεί να μεταδώσει σήματα μέσω μικροκυμάτων σε ψηφιακές συσκευές όπως κινητά τηλέφωνα, PDA, υπολογιστές, μέσω ασφαλούς, φθηνής και παγκοσμίως διαθέσιμης, χωρίς ειδική άδεια, ραδιοσυχνότητας μικρής εμβέλειας. Το Bluetooth λειτουργεί στο «αδέσμευτο» φάσμα συχνοτήτων των 2,4 GHz. Σε προηγούμενη μελέτη του εργαστηρίου μας δείξαμε ότι η ακτινοβολία από το «κλασσικό» Bluetooth επηρεάζει την αναπαραγωγική ικανότητα της *D. melanogaster*. Στην παρούσα μελέτη θελήσαμε να εξετάσουμε εάν το «Bluetooth με καλώδιο» είναι ασφαλέστερο για τους χρήστες. Έτσι μελετήσαμε συγκριτικά την επίδραση της ακτινοβολίας που εκπέμπεται κατά την ομιλούσα εκπομπή, α) από το ακουστικό του Bluetooth, β) από το ίδιο το Bluetooth και γ) από το κινητό τηλέφωνο με το οποίο είναι σε επικοινωνία το Bluetooth, στην ωογένεση του εντόμου. Για την εξακρίβωση του βαθμού της επίδρασης αυτής, σχεδιάστηκαν πειράματα ακτινοβολήσης αναισθητοποιημένων και μη εντόμων. Ο βαθμός της επίδρασης διερευνήθηκε μέσω ανίχνευσης αποδομημένου DNA στα ωοθυλάκια του εντόμου, με τη μέθοδο χρώσης με πορτοκαλί της ακριδίνης. Διαπιστώθηκε αύξηση του ποσοστού των ωοθυλακίων με θρυμματισμένο DNA στα έντομα που εκτέθηκαν τόσο στο Bluetooth όσο και στο κινητό τηλέφωνο, σε αντίθεση με τα έντομα που εκτέθηκαν μόνο στο ακουστικό. Η αυξημένη επίδραση του Bluetooth που παρατηρήθηκε σε αναισθητοποιημένα έντομα με την εμφάνιση ωοθυλακίων απροσδιορίστου σταδίου με θετικό σήμα ακριδίνης παραμένει υπό διερεύνηση. Συνιστάται η χρήση του Bluetooth με καλώδιο με παράλληλη χρήση θήκης προστασίας για το κινητό.

*Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς την Ερευνητική Ομάδα του Καθηγητή Α.Χ. Μαργαρίτη.*

**THE EFFECTS OF RADIATION CONTINUOUSLY EMITTED BY A WIRED  
BLUETOOTH TO THE OOGENESIS OF THE DIPTERAL INSECT *Drosophila  
melanogaster***

*Kollia I., Chavdoula E., and L.H. Margaritis*

*Radiation Biophysics Lab, Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology,  
University of Athens, Panepistimiopolis 157 84, Athens. E-mail: [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)*

Bluetooth is considered an industrial standard for small distance wireless telecommunication technology. It transmits signals through microwaves to digital appliances, such as mobile telephones, PDAs, and computers, through an economical, safe and worldwide available, small range radiofrequency, without requiring any special authorisation. Bluetooth functions in the “non-bound” spectrum of 2,4 GHz frequencies. Previous studies, conducted by our laboratory, have shown that radiation from a «conventional Bluetooth» affects the reproductive capacity of *D.melanogaster*. The purpose of the present study was to examine the hypothesis that a «wired Bluetooth» is safer to users than the conventional one. Therefore, using speaking emission, we made a comparative study on the effects of the radiation emitted, a) from the earphone of the Bluetooth, b) from the Bluetooth itself and c) from the mobile phone which is connected to the Bluetooth, to the oogenesis of the insect. In order to verify the impact of this effect, we designed experiments irradiating both moving and anaesthetised insects. The impact was examined based on the detection of fragmented DNA in the follicles of the insect, using the orange of acridine staining method. As a result, we detected that insects that were exposed to the Bluetooth and to the mobile phone, presented an increase in the percentage of fragmented DNA in their follicles, contrary to the insects that were exposed to the earphone of the Bluetooth. Furthermore, insects that were immobilised (through anaesthetisation), were highly affected by the Bluetooth radiation as they exhibited follicles of unspecified stages and had a high positive signal of acridine staining. This observation is being looked further. Therefore, we recommend the use of a wired Bluetooth in addition to using a protective case for the mobile phone.

*This study was financed by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to the Research Group of Professor L.H .Margaritis.*

**Η ΩΡΙΜΑΝΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΠΡΟΦΑΣΙΚΗΣ ΖΩΝΗΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΣΩΛΗ-  
ΝΙΣΚΩΝ ΣΤΑ ΠΤΕΡΙΔΟΦΥΤΑ ΔΕΝ ΕΛΕΓΧΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ F-ΑΚΤΙΝΗ**

*Κομπότης Κ., Παντερής Εμ.*

*Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,  
541 24 Θεσσαλονίκη, E-mail: [epanter@bio.auth.gr](mailto:epanter@bio.auth.gr)*

Η προπροφασική ζώνη των μικροσωληνίσκων αποτελεί ορατή εκδήλωση της καθιέρωσης του επιπέδου διαίρεσης των φυτικών κυττάρων, καθώς στην πρώην θέση της γίνεται η σύντηξη της κυτταρικής πλάκας με τα πατρικά τοιχώματα κατά την κυτοκίνηση. Αρχικά, η προπροφασική ζώνη είναι φαρδιά και ωριμάζοντας στενεύει, καθώς οι μικροσωληνίσκοι που την αποτελούν συνδέονται σε πυκνότερη διάταξη μεταξύ τους. Η ωρίμανση της προπροφασικής ζώνης των μικροσωληνίσκων συμβαδίζει με τον βαθμό συσπείρωσης της χρωματίνης στον πυρήνα, καθώς τα κύτταρα προχωρούν στην πρόφαση. Κατά συνέπεια, φαρδιές προπροφασικές ζώνες παρατηρούνται σε κύτταρα με χρωματίνη ελαφρά συσπειρωμένη, ενώ οι πιο στενές σε κύτταρα με χρωμοσώματα. Πειραματική αποδιοργάνωση της F-ακτίνης με κυτοχλασίνη-B σε ακρόρριζα των φυτών *Pinus brutia* (γυμνόσπερμο), *Vigna sinensis* (δικοτυλήδοιο) και *Hordeum vulgare* (μονοκοτυλήδοιο) είχε ως αποτέλεσμα να παρεμποδισθεί η ωρίμανση της προπροφασικής ζώνης, χωρίς να επηρεαστεί η πορεία συσπείρωσης της χρωματίνης. Παρατηρήθηκαν κύτταρα με φαρδιά προπροφασική ζώνη μικροσωληνίσκων ενώ, όπως πρόδιδε η παρουσία χρωμοσωμάτων στον πυρήνα, βρίσκονταν στη πρόφαση. Αντίθετα, στα πτεριδόφυτα *Adiantum capillus-veneris* και *Asplenium nidus* η αποδιοργάνωση των μικρονηματίων της F-ακτίνης δεν επηρέασε την ωρίμανση της προπροφασικής ζώνης των μικροσωληνίσκων, αφού το εύρος της ήταν πάντα το αναμενόμενο με βάση τον βαθμό συσπείρωσης της χρωματίνης. Τα παραπάνω αποτελέσματα επιβεβαιώθηκαν και από μετρήσεις, σύμφωνα με τις οποίες η αναλογία των κυττάρων με στενή προπροφασική ζώνη ελαττωνόταν σημαντικά μετά από αποδιοργάνωση της F-ακτίνης στα *Pinus brutia*, *Vigna sinensis* και *Hordeum vulgare* ενώ κάτι τέτοιο δεν συνέβαινε στο *Adiantum capillus-veneris*. Προκύπτει συνεπώς ότι στα πτεριδόφυτα η προπροφασική ζώνη των μικροσωληνίσκων ωριμάζει χωρίς τη συμμετοχή της F-ακτίνης, με μηχανισμό διαφορετικό από εκείνον των άλλων τραχεοφύτων.

**THE MATURATION OF THE PREPROPHASE MICROTUBULE BAND  
IN FERNS IS NOT CONTROLLED BY F-ACTIN**

*Kobotis C., Panteris Em.*

*Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki  
GR- 541 24 Thessaloniki, E-mail: [epanter@bio.auth.gr](mailto:epanter@bio.auth.gr)*

The preprophase microtubule band is a visible manifestation of division plane establishment in plant cells. During cytokinesis, the cell plate fuses with parent walls during at the cortical site formerly occupied by the preprophase band. Initially, the the preprophase band is broad and it matures by narrowing, as its microtubules become tightly interconnected. Preprophase band maturation keeps pace with chromatin condensation in the nucleus, as cells proceed to prophase. Consequently, broad preprophase bands are observed in cells exhibiting slight chromatin condensation, while narrower ones in cells with chromosomes. Experimental disruption of F-actin with cytochalasin-B in root tips of the plants *Pinus brutia* (gymnosperm), *Vigna sinensis* (dicot) and *Hordeum vulgare* (monocot) resulted in inhibition of preprophase band maturation without interfering with the process of chromatin condensation. Prophase cells, as estimated by the presence of chromosomes in the nucleus, were observed, displaying a broad preprophase band. On the contrary, in the ferns *Adiantum capillus-veneris* and *Asplenium nidus* actin microfilament disruption did not affect preprophase band maturation. In the above plants, the width of the preprophase band was always as expected in combination with the respective chromatin condensation. The above observations were also confirmed by quantitative study, according to which the percentage of cells with narrow preprophase bands was significantly reduced after F-actin disruption in *Pinus brutia*, *Vigna sinensis* and *Hordeum vulgare*, while this was not observed in *Adiantum capillus-veneris*. In conclusion, preprophase band maturation in ferns is achieved by a mechanism different than that of other tracheophytes, without the contribution of F-actin.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΜΙΚΡΟ- ΚΑΙ ΝΑΝΟ-ΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ  
ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ**

*Κομσέλη Ειρ.-Στ.<sup>1</sup>, Μαυροφρύδη Όλ.<sup>1</sup>, Ελευθεριάδης Κ.<sup>2</sup>, Χουσιάδας Χρ.<sup>2</sup>,  
Παπαζαφείρη Π.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό &  
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, <sup>2</sup>Ινστιτούτο Πυρηνικής Τεχνολογίας και  
Ακτινοπροστασίας, Ε.Κ.Ε.Φ.Ε “Δημόκριτος”*

Επιδημιολογικά δεδομένα των τελευταίων δεκαετιών έχουν συσχετίσει την σωματιδιακή ύλη με σοβαρά προβλήματα υγείας, κυρίως όσον αφορά στο αναπνευστικό σύστημα. Εντούτοις, οι μοριακοί μηχανισμοί, που ευθύνονται για την τοξικότητα των σωματιδίων δεν έχουν αποσαφηνιστεί πλήρως. Η σωματιδιακή ύλη μπορεί να είναι φυσικής, ανθρωπογενούς ή τεχνητής προέλευσης και αποτελείται από το μικρο- και νανο-σωματιδιακό κλάσμα, ανάλογα με την αεροδυναμική διάμετρο των συστατικών της. Επιπλέον, κάποια νανοσωματίδια χρησιμοποιούνται σήμερα ως φορείς φαρμάκων για διαγνωστικούς ή θεραπευτικούς σκοπούς, γεγονός το οποίο κάνει περισσότερο επιτακτική την ανάγκη διερεύνησης της πιθανής τοξικότητάς τους. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν μικροσωματίδια από φιλτραρισμένο αέρα βιομηχανικής περιοχής καθώς και τα τεχνητά νανοσωματίδια PLGA προκειμένου να εξεταστεί η επίδρασή τους στην ανθρώπινη κυτταρική σειρά καρκινώματος πνεύμονα, A549. Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν: η βιωσιμότητα των κυττάρων, η πιθανή επίπτωση των σωματιδίων στο μονοπάτι επιβίωσης της Akt και στα επίπεδα του παράγοντα HIF-1a. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι, όσον αφορά στα μικροσωματίδια, τόσο το οργανικό, όσο και το υδατοδιαλυτό κλάσμα τους, αλλά και ο συνδυασμός τους, προκάλεσαν μείωση της βιωσιμότητας των κυττάρων, μερική απενεργοποίηση της Akt και πτώση των πρωτεϊνικών επιπέδων του HIF-1a μετά από 24 ώρες επίδρασης. Το PLGA προκάλεσε μια παροδική μείωση στην φωσφορυλίωση της Akt, η οποία επανήλθε μετά από 2 ώρες επίδρασης. Αντίθετα, ο παράγοντας HIF-1a, αρχικά αυξήθηκε, με μέγιστο στη μια ώρα, και ακολούθως επανήλθε στα επίπεδα του μάρτυρα. Συνεπώς, οι μηχανισμοί δράσης των δύο κατηγοριών σωματιδίων, αν και πρέπει να διερευνηθούν περαιτέρω, φαίνεται ότι, τουλάχιστον εν μέρει, διαφοροποιούνται.

*Η εργασία αυτή χρηματοδοτήθηκε από τη Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας (ΕΠΑν, ΦΠ5) και από το πρόγραμμα «Καποδιστριας» του Πανεπιστημίου Αθηνών.*



**EFFECT OF MICRO- AND NANO-PARTICLES ON HUMAN PULMONARY  
CELLS**

*Komseli E.-S.<sup>1</sup>, Mavrofydi O.<sup>1</sup>, Housiadas C.<sup>2</sup>, Eleftheriadis K.<sup>2</sup>,  
Papazafiri P.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Department of Animal & Human Physiology, National & Kapodistrian University of  
Athens*

*<sup>2</sup>Institute of Nuclear Technology & Radiation Protection, NCSR, "Demokritos"*

Epidemiological data of the last decades have linked particulate matter with serious health problems, especially as far as the respiratory system is concerned. However, the responsible molecular mechanisms for this toxicity have not been clarified thoroughly, yet. Particulate matter can be natural, anthropogenic or engineered and consists of micro- and nano-particulate fractions according to the aerodynamic diameter of the particles. Some nanoparticles are used nowadays as drug vectors for diagnostic and therapeutical purposes. As a result, it is necessary to investigate their possible toxicity. In the present research we used microparticles collected from an industrial environment and engineered nanoparticles, PLGA, in order to assess their effect on human lung carcinoma cell line, A549. We examined cellular viability and the effect of nano- and micro-particles on Akt survival pathway and HIF-1a protein levels. Concerning micro-particles, our data indicate that, both their organic and water-soluble fractions, either individually or mixed, had negative effect on cellular viability, caused partial inactivation of Akt and reduced HIF-1a protein levels after 24 hours. Exposure to PLGA resulted in a transient reduction in Akt phosphorylation, which was reverted after 2 hours. On the other hand, HIF-1a protein levels were increased showing a pick in 1 hour and reached control state after 4 hours of treatment. In conclusion, although further study is required, the two fractions of particulate matter seem to have, partially at least, different mechanisms of action on cell survival pathways.

*This work was funded by the General Secretariat of Research and Technology, Athens, Greece (ΕΠΑν,ΦΠ5 ) and the "Kapodistriasis" program of the University of Athens.*

**ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΣΥΧΝΟΤΗΤΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ  
GSTP1, MTR ΚΑΙ MTHFR ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ**

**Κοτσίφης Α.\*, Κοντοπούλου Χ.\*, Σταμάτης Κ., Σαραφίδου Θ., Μαμούρης Ζ.**

Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πλούτωνος 26,  
41221, Λάρισα, E-mail: [zmamur@bio.uth.gr](mailto:zmamur@bio.uth.gr)

\*ισάξια συμμετοχή

Στόχος της μελέτης ήταν ο προσδιορισμός της συχνότητας πολυμορφισμών γονιδίων που συμμετέχουν στον αντιοξειδωτικό μηχανισμό του οργανισμού και στο μεταβολισμό του φυλλικού οξέος. Εξετάστηκαν 50 άτομα ελληνικής καταγωγής για τους πολυμορφισμούς 1) A313G και C341T (Ile105Val και Ala114Val αντίστοιχα) του γονιδίου p1 της τρανσφεράσης S της γλουταθειόνης (GSTP1), που εντοπίζονται στο ενεργό κέντρο του ενζύμου και σχετίζονται με μειωμένη ενζυμική δραστηριότητα για συγκεκριμένα υποστρώματα και με τροποποιημένη θερμοσταθερότητα 2) C677T (Ala222Val) της αναγωγάσης του 5, 10 μεθυλο-τετραϋδροφυλλικού οξέως (MTHFR) που έχει ως αποτέλεσμα μία θερμοασταθή ισομορφή με μειωμένη ενεργότητα και 3) A2756G (Asp919Gly) της συνθάσης της μεθειονίνης (MTR) που εντοπίζεται στην περιοχή ενεργοποίησης και πιθανώς επηρεάζει τη δευτεροταγή δομή και τη λειτουργία του ενζύμου. Η ανίχνευση των παραπάνω πολυμορφισμών πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο PCR-RFLP. Ταυτοποιήθηκαν οι ακόλουθες γονοτυπικές συχνότητες: GSTP1 (A313G): GG: 4%, AG: 52%, AA: 44%, GSTP1 (C341T): CC: 82%, CT: 18%, TT: 0%, MTR (A2756G): AA:78%, AG:22%, GG: 0%, MTHFR (C677T): CC: 34%, CT: 55%, TT: 11%. Η παραπάνω έρευνα μπορεί να αξιοποιηθεί στο σχεδιασμό μελετών συσχέτισης των πολυμορφισμών αυτών με πολυπαραγοντικές διαταραχές.

**POLYMORPHISM FREQUENCIES OF GSTP1, MTR AND MTHFR GENES IN  
GREEK POPULATION**

*Kotsifis A.\*, Kondopoulou Chr.\*, Stamatis C., Sarafidou Th., Mamuris Z.*

*Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Ploutonos 26,  
41221 Larissa, E-mail: [zmamur@bio.uth.gr](mailto:zmamur@bio.uth.gr)*

*\*equally contributed*

The aim of this study was to assess the polymorphism of genes involved in antioxidant defense and in folate metabolism. We tested 50 individuals of Greek origin for 1) glutathione S-transferase pi gene (GSTP1) A313G and C341T polymorphisms (Ile105Val and Ala114Val respectively) which are located within the active site of the enzyme and are associated with reduced enzymatic activity for certain substrates as well as altered thermostability 2) 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T (Ala222Val) which results in a thermo labile variant of the enzyme with decreased activity and c) methionine synthase (MTR) A2756G (Asp919Gly) polymorphism which lies in the activating domain of the enzyme and has been postulated that could affect the secondary structure of the protein and therefore have functional consequences. The detection of all these polymorphisms has been performed applying the PCR-RFLP method. The genotype frequencies observed were the following: GSTP1 (A313G): GG: 4%, AG: 52%, AA: 44%, GSTP1 (C341T): CC: 82%, CT: 18%, TT: 0%, MTR (A2756G): AA: 78%, AG: 22%, GG: 0%, MTHFR (C677T): CC: 34%, CT: 55%, TT: 11%. This report for Greek population may serve as a reference study for programming case-control association studies regarding multifactorial disorders.

**ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ ΛΑΚΚΑΣΗ ΣΕ  
ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΑ ΣΤΕΛΕΧΗ ΒΑΣΙΔΙΟΜΥΚΗΤΩΝ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ**

**Κουλουμπής Σ.Χ.<sup>1</sup>, Γκόνου-Ζάγκου Ζ.<sup>1</sup>, Καψανάκη-Γκότση Ε.<sup>1</sup>  
και Δ.Γ. Χατζηνικολάου<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Τομέας Οικολογίας και Ταξινομικής, <sup>2</sup>Τομέας Βοτανικής, Πανεπιστήμιο Αθηνών,  
Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα 157 84. E-mail: [xatzdim@biol.uoa.gr](mailto:xatzdim@biol.uoa.gr)

Η λιγνίνη είναι μια ετερογενής, πολυμερής ένωση, αρωματικού χαρακτήρα, η οποία αντιπροσωπεύει το 25-30% της μάζας του ξύλου. Η μικροβιακή αποικοδόμηση της λιγνίνης επιτυγχάνεται με τη δράση εξειδικευμένων εξωκυτταρικών ενζύμων, το σημαντικότερο από τα οποία αποτελεί η λακκάση (φαινολική οξειδάση). Η λακκάση παράγεται κυρίως από βασιδιομυκήτες λευκής σήψης και δρα οξειδώνοντας τα λιγνινούχα υποστρώματα, ανάγοντας παράλληλα τα άτομα χαλκού που περιέχει. Σκοπός της εργασίας ήταν η διερεύνηση της παρουσίας και η αξιολόγηση της δραστηριότητας λακκάσης σε 12 στελέχη βασιδιομυκήτων από τη Συλλογή Καλλιεργειών Μυκήτων ATHUM του Πανεπιστημίου Αθηνών, που προέρχονται από φυσικά οικοσυστήματα της Ελλάδος. Τα στελέχη αυτά είχαν ήδη αξιολογηθεί σε στερεές καλλιέργειες ως προς τη γενική λιγνινολυτική τους ικανότητα με τη χρήση της χρωστικής Poly R-478. Πραγματοποιήθηκαν στερεές καλλιέργειες σε τρυβλία Petri με θρεπτικό υπόστρωμα BM (Basal Medium) και προσθήκη της χρωμογόνου ουσίας ABTS, ως ενζυμικό υπόστρωμα για τη γρήγορη ανίχνευση της λακκάσης μέσω χρωματικής αντίδρασης. Η παρουσία του ενζύμου διαπιστώθηκε και στα 12 στελέχη ενώ παράλληλα καταγράφηκε η εξέλιξη της δραστηριότητάς του ανάλογα με το χρόνο καλλιέργειας. Επιπλέον, τα στελέχη αναπτύχθηκαν σε υγρές καλλιέργειες με ελάχιστο θρεπτικό υπόστρωμα αλάτων και 2% κ.β. πίτυρο σίτου ως πηγή άνθρακα και ενέργειας. Μετρήθηκε πολύ υψηλή ενεργότητα λακκάσης στο εξωκυτταρικό υγρό των καλλιεργειών των 11 εκ των 12 στελεχών, γεγονός που καταδεικνύει την έντονη λιγνινολυτική ικανότητα των επιλεγμένων μικροοργανισμών.

## **PRODUCTION OF LACCASE FROM SELECTED GREEK BASIDIOMYCES STRAINS**

*Kouloumpis S.C.<sup>1</sup>, Gonou-Zagou Z.<sup>1</sup>, Kapsanaki-Gotsi E.<sup>1</sup>,  
and D.G. Hatzinikolaou<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>Department of Ecology and Systematics, <sup>2</sup>Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, GR-157 84 Athens. E-mail: [xatzdim@biol.uoa.gr](mailto:xatzdim@biol.uoa.gr)*

Lignin is a heterogeneous, aromatic, polymer that represents 25-30% of the wood biomass. Lignin is degraded through the action of several extracellular enzymes, the most important of which is the phenoloxidase laccase. Laccase is mainly produced by white rot Basidiomycetes and degrades the lignin substrates through reduction-oxidation reactions. The aim of the present work was to detect the presence and record the activity of laccase in 12 strains of Basidiomycetes originating from the Culture Collection of Fungi, ATHUM, of the University of Athens, all isolated from Greek natural ecosystems. The strains had already been evaluated for their general ligninolytic activity with the use of the dye Poly R-478. Solid cultures of the strains were performed in Petri dishes with BM (Basal Medium) and the addition of the chromogen ABTS. The plates were examined for the formation of dark-green zones in the medium under and around the fungal colony, indicating the production of laccase. The enzyme was detected in all 12 basidiomycetous strains, while the time course of color intensity was recorded as indicative for the enzyme activity. In addition, the strains were also grown in liquid cultures in minimal salt medium using wheat bran at a concentration of 2% w/v as sole carbon and energy source. Very high laccase activities were determined in the culture supernatants for the 11 out of the 12 selected strains, indicating the lignin degradation suitability of the selected microorganisms.

**ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΣΥΜΒΙΩΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ  
ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΟΥ ΔΑΚΟΥ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ (*BACTROCERA OLEAE*)**

**Κουννατίδης Η.<sup>1</sup>, Γιαννούση Κ.<sup>1</sup>, Πασχαλίδου Α.<sup>1</sup>, Καραγιάννη Α.<sup>1</sup>,  
Μπούρτζης Κ.<sup>2</sup>, Μαυραγάνη-Τσιπίδου Π.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή  
Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124  
Θεσσαλονίκη, <sup>2</sup>Τμήμα Διαχείρισης Περιβάλλοντος και Φυσικών Πόρων,  
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Σεφέρη 2, 30100 Αγρίνιο

Το έντομο *Bactrocera oleae*, είναι ο κυριότερος εχθρός της ελιάς και συγκαταλέγεται ανάμεσα στα έντομα μεγάλης οικονομικής σημασίας για τον Ελλαδικό και ευρύτερο Μεσογειακό χώρο. Παρά τις προσπάθειες για την ανεύρεση μεθόδων πληθυσμιακού ελέγχου αυτού του βλαβερού εντόμου, η μέχρι σήμερα αντιμετώπιση του περιορίζεται στη χρήση χημικών εντομοκτόνων, με όλες τις βλαβερές συνέπειες που ενέχει η χρήση τους. Ανάμεσα στις νέες ιδέες που αναπτύσσονται πρόσφατα για την καταπολέμηση του δάκου, συγκαταλέγεται η χρήση των συμβιωτικών βακτηρίων του ίδιου του εντόμου. Στη παρούσα μελέτη, πραγματοποιήθηκε συλλογή εντόμων από 10 περιοχές της Ελλάδας με σκοπό τη διερεύνηση της μικροβιακής χλωρίδας των φυσικών πληθυσμών του δάκου της ελιάς. Συγκεκριμένα, απομονώθηκε ολικό DNA (εντόμου και μικροοργανισμών) από δύο ενήλικα άτομα, από τη περιοχή Χαλκιδικής, ενισχύθηκε με PCR το γονίδιο 16S rRNA με τη χρήση παγκόσμιων εκκινητών (63F // 1387R) και το PCR προϊόν χρησιμοποιήθηκε για την κατασκευή βιβλιοθηκών. Στην εργασία αυτή, θα παρουσιαστούν τα αποτελέσματα της ανάλυσης αυτών των βιβλιοθηκών καθώς και η κατανομή διαφορετικών συμβιωτικών βακτηρίων στους φυσικούς πληθυσμούς με τη χρήση ειδικών PCR εκκινητών.

**CHARACTERIZATION OF BACTERIAL SYMBIONTS IN NATURAL  
POPULATIONS OF THE OLIVE FRUIT FLY *BACTROCERA OLEAE***

***Kounatidis I.<sup>1</sup>, Giannousi K.<sup>1</sup>, Pasxalidou A.<sup>1</sup>, Karagianni A.<sup>1</sup>,  
Bourtzis K.<sup>2</sup>, Mavragani-Tsipidou P.<sup>1</sup>***

<sup>1</sup>*Department of Genetics, Development and Molecular Biology School of Biology, Faculty of  
Sciences, Aristotle University of Thessaloniki (AUTH), 54124 Thessaloniki*

<sup>2</sup>*Department of Environmental and Natural Resources Management, University of  
Ioannina, 30100 Agrinio, Greece*

*Bactrocera oleae* is the major enemy of the olive tree and belongs to insects of great economic importance for Greece and the wider Mediterranean area. Despite the considerable interest in developing procedures and methods for the biological control of this pest, its control up to now is based mainly on chemical insecticides. Recently, new concepts are emerging, among which the symbiotic control approach is particularly noteworthy. Aiming to investigate the *B. oleae* symbiotic flora, in present study ten natural populations were collected from different areas of Greece. One male and one female from Chalkidiki natural population were randomly chosen for the establishment of 16S rRNA libraries. DNA was extracted using a QIAamp DNA minikit (Qiagen) and used as a template in PCRs with the universal bacterial primers 63F and 1387R. 16S rRNA gene products were cloned into the pGEM-T Easy Vector (Promega) and transformed into JM109 competent cells. Gene clones from each library were fully sequenced and analyzed. Consequently the distribution of different symbiotic bacteria in natural populations was examined using specific PCR primers.

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΣΥΜΒΙΩΤΙΚΗΣ ΧΛΩΡΙΔΑΣ ΔΥΟ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΗΣ  
ΜΥΓΑΣ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΟΥ (CERATITIS CAPITATA)**

**Κουνατίδης Η.<sup>1</sup>, Γιαννούση Κ.<sup>1</sup>, Πασχαλίδου Α.<sup>1</sup>, Αμανατίδης Γ.<sup>1</sup>,  
Παπαδόπουλος Ν.<sup>2</sup>, Μπούρτζης Κ.<sup>3</sup>, Μαυραγάνη-Τσιπίδου Π.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή  
Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124  
Θεσσαλονίκη, <sup>2</sup>Τμήμα Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού  
Περιβάλλοντος Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, 38 446 Φυτόκου., Ν. Ιωνία, Βόλος  
<sup>3</sup>Τμήμα Διαχείρισης Περιβάλλοντος και Φυσικών Πόρων, Πανεπιστήμιο  
Ιωαννίνων, Σεφέρη 2, 30100 Αγρίνιο

Η μεσογειακή μύγα, *Ceratitis capitata*, αποτελεί το κύριο παράσιτο πολλών καλλιεργούμενων φρούτων. Προσβάλλει περισσότερα από 350 είδη φρούτων προκαλώντας ετησίως τεράστιες καταστροφές στις γεωργικές καλλιέργειες σε όλο τον κόσμο και οικονομικές απώλειες της τάξης εκατοντάδων εκατομμυρίων δολαρίων. Παρά τις προσπάθειες για την ανεύρεση μεθόδων πληθυσμιακού ελέγχου του εντόμου, η καταπολέμησή του εξακολουθεί να βασίζεται κυρίως στη χρήση χημικών εντομοκτόνων. Στην παρούσα εργασία, μελετήθηκε η συμβιωτική χλωρίδα δυο απομακρυσμένων φυσικών πληθυσμών Μεσογειακής μύγας, με απώτερο σκοπό τη πιθανή χρήση των συμβιωτικών βακτηρίων του ίδιου του εντόμου ως εργαλείων πληθυσμιακού ελέγχου του. Οι πληθυσμοί που χρησιμοποιήθηκαν προέρχονται ο ένας από τον Ελλαδικό χώρο (Χίος) και ο δεύτερος από τη Βραζιλία. Μετά τη συλλογή των νυμφών από τη φύση καλλιεργήθηκαν για δυο γενεές στο εργαστήριο και ακολούθησε απομόνωση ολικού DNA (εντόμου και μικροοργανισμών) από ένα ενήλικο άτομο από κάθε πληθυσμό. Στη συνέχεια ενισχύθηκε με PCR το γονίδιο 16S rRNA με τη χρήση παγκόσμιων εκκινητών και το PCR προϊόν χρησιμοποιήθηκε για την κατασκευή βιβλιοθηκών. Από την αρχική ανάλυση 32 κλώνων για κάθε άτομο διαπιστώθηκε η παρουσία τουλάχιστον δύο διακριτών βακτηριακών ειδών, του *Paenibacillus glycanolyticus* και του *Klebsiella oxytoca*.



**SYMBIOTIC FLORA OF TWO NATURAL POPULATIONS OF CERATITIS  
CAPITATA**

**Kounatidis I.<sup>1</sup>, Gianousi K.<sup>1</sup>, Pasxalidou A.<sup>1</sup>, Amanatidis G.<sup>1</sup>, Bourtzis K.<sup>3</sup>,  
Mavragani-Tsipidou P.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Department of Genetics, Development and Molecular Biology School of Biology, Faculty of  
Sciences, Aristotle University of Thessaloniki (AUTH), 54124 Thessaloniki, Greece,

<sup>2</sup>Laboratory of Entomology and Applied Zoology, Department of Agriculture, Crop  
Production and Rural Environment, University of Thessaly, 38 446 Fytokou St., N. Ionia  
(Volos), Greece, <sup>3</sup>Department of Environmental and Natural Resources Management,

University of Ioannina, Seferi St. 2, 30100 Agrinio, Greece

The Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*, is one of the world's most destructive fruit pests. The "medfly" attacks more than 350 different fruits and its wide range of hosts results in extensive damage of fruit crops with enormous economic losses all over the world. Despite the considerable interest in developing methods for the biological control of this pest, its control up to now is based mainly on the application of chemical insecticides. Among the new concepts of pest management the symbiotic control approach is particularly noteworthy. In this study, the symbiotic flora of two distant wild populations, one from Greece (Xios Island) and another from Brazil were examined. Pupae were cultivated for two generations in the laboratory and DNA was extracted from an adult insect of each population. 16S rRNA gene was amplified with universal bacterial primers FD1 and RP2. 16S rRNA gene products were cloned into the pGEM-T Easy Vector (Promega) and transformed into JM109 (Promega) competent cells. Initially, 32 clones of each insect were analyzed and the results indicated the presence of two bacteria, *Paenibacillus glucanolyticus* and *Klebsiella oxytoca*.

**ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΙΑ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ *DQA* ΚΑΙ *DRB1* ΤΟΥ  
ΜΕΙΖΟΝΟΣ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ ΙΣΤΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ (MHC) ΤΑΞΗΣ II  
ΣΕ ΕΥΡΩΠΑΪΚΟΥΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΑΓΡΙΟΧΟΙΡΩΝ (*SUS SCROFA SCROFA*)**

*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](mailto:evkouts@gmail.com)*

Λόγω της εμπλοκής του MHC σε ανοσολογικές απαντήσεις και των υψηλών ποσοστών ποικιλομορφίας του, τα γονίδια του προβάλλουν ως αξιόλογα μοντέλα για τη μελέτη και κατανόηση της φυσικής επιλογής και τη διαμόρφωση της γενετικής ποικιλομορφίας. Ο Ευρωπαϊκός αγριόχοιρος έχει υποστεί τοπικούς αφανισμούς και μετεγκαταστάσεις στο παρελθόν. Τελευταία ωστόσο, εξαπλώνεται ραγδαία και υπάρχουν υποψίες για πιθανά φαινόμενα υβριδισμού του με εξημερωμένους χοίρους. Συνεπώς, αποτελεί έναν ενδιαφέροντα οργανισμό για τη μελέτη των σχετικών επιδράσεων των διάφορων δημογραφικών και εξελικτικών γεγονότων στο MHC. Αναλύθηκαν 215 άτομα από διάφορες χώρες της Ευρώπης (Ελλάδα, Ιταλία, Ισπανία, Γαλλία, Πολωνία, Λουξεμβούργο, Αυστρία και Γερμανία) χρησιμοποιώντας τη μέθοδο SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) σε συνδυασμό με άμεση αλληλούχιση. Βρέθηκαν οχτώ αλληλόμορφα του *DRB1* και 5 αλληλόμορφα του *DQA*. Η κατασκευή των φυλογενετικών δέντρων επέτρεψε τον προσδιορισμό των εξελικτικών σχέσεων των αλληλομόρφων ενώ ταυτόχρονα υπολογίστηκαν η αναμενόμενη και παρατηρούμενη ετεροζυγωτία, η ένδειξη για θετική επιλογή και η διαφοροποίηση μεταξύ των πληθυσμών. Τα παραπάνω αποτελέσματα αναλύθηκαν σε σχέση με την ιστορία του πληθυσμού, πιθανά φαινόμενα υβριδισμού και τη σύγκριση με αντίστοιχη μελέτη εξημερωμένων χοίρων.

**GENETIC VARIATION OF DQA AND DRB1 GENES OF MAJOR HISTO-  
COMPATIBILITY COMPLEX (MHC) IN EUROPEAN WILD BOAR (*SUS  
SCROFA SCROFA*) POPULATIONS**

*Koutsogiannouli E., Stamatis C., Moutou K., Sarafidou Th., Mamuris Z.*

*Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Ploutonos 26 &  
Aiolou street, Larissa, E-mail: [evkouts@gmail.com](mailto:evkouts@gmail.com)*

Several MHC genes provide a remarkable model for the study and comprehension of natural selection, as well as the formation and maintenance of genetic variation because of the implication of MHC molecules in immunological responses and their high polymorphism. European wild boars (*Sus scrofa scrofa*) were subjected to local extinctions and translocations in the past throughout Europe. However, nowadays wild boars are widely expanded and there are hints for possible hybridization phenomena with domestic pigs (*Sus scrofa domestica*). Hence, they constitute an interesting species for the study of the interactions between different demographic and evolutionary events. In this study, 215 individuals from different European countries (Greece, Italy, Spain, France, Poland, Luxemburg, Austria and Germany) were analysed, using SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) method combined with direct sequencing. Eight *DRB1* and 5 *DQA* alleles were found. The phylogenetic tree allowed the determination of evolutionary relationships between the alleles. The observed and expected heterozygosity, the evidence for positive selection and differentiation among populations were also determined. These findings are discussed in relation to populations' life history, possible hybridization phenomena and the comparison with an equivalent study of domestic pigs.

**ΜΟΡΦΟΜΕΤΡΙΑ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *BYTHINELLA* MOQUIN-TANTON 1856  
(MOLLUSCA: HYDROBIIDAE) ΣΕ ΚΡΗΝΟΒΙΟΥΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΚΑΙ  
ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΖΩΙΚΗ ΜΙΚΡΟΧΛΩΡΙΔΑ ΤΟΥ ΚΕΛΥΦΟΥΣ**

*Κουτσομήτρου Δ., Ραδέα Κ., Λούβρου Ι., Οικονόμου-Αμίλλη Α.*

Τομέας Οικολογίας & Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ,  
Πανεπιστημιούπολη, 15784 Αθήνα

Η οικογένεια Hydrobiidae περιλαμβάνει γονοχωριστικά υδρόβια γαστερόποδα μικρού μεγέθους με το γένος *Bythinella* Moquin-Tanton, 1856 ως χαρακτηριστικό εκπρόσωπο των κρηνόβιων μορφών. Το μικρό δυσδιάκριτο κέλυφος των ειδών *Bythinella* παρουσιάζει μεγάλη μορφολογική ποικιλομορφία που αποδίδεται στη σημαντική φαινοτυπική και γονοτυπική διαφοροποίηση εντός του γένους. Στην ευρύτερη περιοχή των Βαλκανίων έχουν αναγνωρισθεί 12 είδη, ενώ τελευταίες μελέτες στηριζόμενες σε μοριακούς δείκτες καταδεικνύουν μονοφυλετικότητα σε πολλά αλλοπάτρια είδη με συνέπειες στη συστηματική και οικολογία τους. Η προσάρτηση μικροοργανισμών (βιομεμβράνη) σε κελύφη υδρόβιων γαστεροπόδων είναι ένα γνωστό φαινόμενο εξειδικευμένου ενδιαφέροντος και έχει μελετηθεί κυρίως σε θαλάσσια οικοσυστήματα. Συχνά προκαλεί σοβαρές επιπτώσεις στην ανάπτυξη και αναπαραγωγή του 'ξενιστή' και πρέπει να λαμβάνεται υπόψη σε σχετικές μελέτες της βιολογίας του. Η συγκεκριμένη μελέτη αποτελεί μέρος της διπλωματικής εργασίας της πρώτης συγγραφέως. Στοχεύει στη διερεύνηση των μορφομετρικών χαρακτηριστικών σε διαφορετικούς πληθυσμούς *Bythinella* και στην αναγνώριση των πλέον άφθονων μελών της φωτοσυνθετικής μικροχλωρίδας που προσαρτάται ως βιομεμβράνη στα κελύφη. Έγινε συλλογή ατόμων *Bythinella* από 4 πηγές σε περιοχές της ηπειρωτικής Ελλάδας (Καισαριανή, Λίμνη Δόξα, Νέα Πεύκη). Μετρήθηκαν οι διαστάσεις και λοιπά μορφολογικά χαρακτηριστικά του κελύφους και έγινε στατιστική επεξεργασία των δεδομένων με τη χρήση μη παραμετρικών ελέγχων. Ακολούθησε ο προσδιορισμός των αντιπροσώπων της φωτοσυνθετικής μικρο-χλωρίδας που επιβιώνουν προσαρτημένοι στα κελύφη, ελέγχθηκαν βάσει βιβλιογραφίας οι οικολογικές απαιτήσεις για την ένταξή τους μεταξύ των αποκλειστικά ή προαιρετικά περιφυτικών (ενδεχομένως επιζωικών) ειδών και αξιολογήθηκε η επίδραση των συσσωματωμάτων τους στην ανάπτυξη του γαστεροπόδου ('οπισθέλκουσα δράση').

**MORPHOMETRY OF GENUS *BYTHINELLA* MOQUIN-TANTON 1856  
(MOLLUSCA: HYDROBIIDAE) IN CRENOBIOTIC POPULATIONS AND  
DATA ON ITS EPIZOIC MICROFLORA**

*Koutsomitrou D., Radea C., Louvrou I., Economou-Amilli A.*

*Department of Ecology and Systematics, Faculty of Biology, School of Sciences, University  
of Athens, 15784, Athens*

Hydrobiidae include gonochoristic aquatic gastropods of small size with *Bythinella* Moquin-Tanton, 1855 as a characteristic genus of the crenobiotic forms. The small and indistinct shells of *Bythinella* species exhibit high morphological variation attributed to the significant phenotypic and genotypic divergence within the genus. In the wider region of the Balkans 12 species have been recorded, while recent studies based on molecular indicators reveal that many allopatric species are monophyletic with subsequent challenges in taxonomy and ecology. Adhesion of microorganisms (biofilm) on the shell surface of aquatic gastropods is a well-known phenomenon of special interest, documented mainly in marine ecosystems. Biofilm development has serious impacts on the basibiont growth and reproduction, and it should be taken into consideration in relevant studies on its biology. The aim of this study is the elucidation of morphometric characteristics from different crenobiotic populations of *Bythinella*, and the identification of the most abundant members of the photosynthetic microbial community attached in the form of a biofilm on the examined shells. Adequate number of living specimens of *Bythinella* has been collected from 4 springs of continental Greece (Kaisariani-Attica, Doxa Lake-Peloponnisos, Nea Peuki-Trikala). Shell dimensions and other shell characteristics were measured and the data were statistically analyzed by the use of non-parametric tests. Further on, representatives of the photosynthetic microflora surviving attached (as epibionts) on the shells were indentified, their ecological requirements were checked based on bibliography data for their integration among the exclusively or optionally periphytic (potentially epizoic) species, and the 'drag effect' induced by the algal assemblages on the growth of the gastropod was evaluated.

**ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΗΣ *Atherina boyeri* ΜΕ ΒΑΣΗ  
ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΣΗ ΤΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΤΟΥ ΒΡΟΓΧΟΥ ΕΚΤΟΠΙΣΗΣ (D-LOOP)  
ΤΟΥ ΜΤ-DNA**

Κράιτσεκ Σ.<sup>1</sup>, Κλώσσα-Κίλια Ε.<sup>2</sup> και Γ. Κίλιας<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Πανεπιστήμιο Πατρών,  
GR-26500 Πάτρα, Ελλάδα, E-mail: [kilias@upatras.gr](mailto:kilias@upatras.gr)

<sup>2</sup>Τομέας Βιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, GR-26500  
Πάτρα, Ελλάδα, E-mail: [elkilia@upatras.gr](mailto:elkilia@upatras.gr)

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η γενετική ποικιλότητα και οι φυλογενετικές σχέσεις 23 πληθυσμών της *Atherina boyeri*. Οι πληθυσμοί έχουν συλλεχθεί από 10 λίμνες/λιμνοθάλασσες καθώς και από 12 παράκτιες περιοχές του ελλαδικού χώρου, τόσο από την περιοχή του Αιγαίου όσο και του Ιονίου πελάγους, ενώ στη μελέτη συμπεριλήφθηκε και ένας πληθυσμός από τη λίμνη Iznik της Τουρκίας. Συγκεκριμένα, πολλαπλασιάστηκε με την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) και προσδιορίστηκε η αλληλουχία ενός τμήματος του βρόγχου εκτόπισης (D-loop) του μιτοχονδριακού DNA. Το σύνολο των βάσεων που προέκυψε ήταν περίπου 500bp. Με βάση τα αποτελέσματα αυτά υπολογίστηκαν οι γενετικές αποστάσεις και κατασκευάστηκαν φυλογενετικά δένδρα με τρεις διαφορετικές μεθόδους (Neighbor Joining, Maximum Parsimony και Bayesian Inference). Τα φυλογενετικά δένδρα που προέκυψαν αποτελούνται από δύο κύριους κλάδους στους οποίους γίνεται σαφής διαχωρισμός των πληθυσμών σε «λιμναίου» και «θαλάσσιου» τύπου, επιβεβαιώνοντας παλαιότερα αποτελέσματα του εργαστηρίου που είχαν εξαχθεί με RFLP ανάλυση. Επιπλέον, υπάρχει σαφής διαφοροποίηση μεταξύ των λιμναίων πληθυσμών που απαντώνται στην περιοχή του Αιγαίου σε σχέση με αυτούς του Ιονίου. Η έρευνα συνεχίζεται τόσο με τη χρήση περισσότερων μοριακών δεικτών όσο και με τη συλλογή περισσότερων πληθυσμών.

**GENETIC VARIATION AMONG *Atherina boyeri* POPULATIONS IN GREECE  
DERIVED FROM SEQUENCES OF MT-DNA D-LOOP PORTIONS**

*Kraitsek S.<sup>1</sup>, Klossa-Kilia E.<sup>2</sup>, and G. Kiliass<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Division of Genetics, Cell Biology and Development, Department of Biology, University of Patras, GR-26500 Patra, Greece, E-mail: [kiliass@upatras.gr](mailto:kiliass@upatras.gr)*

<sup>2</sup>*Division of Animal Biology, Department of Biology, University of Patras, GR-26500 Patra, Greece, E-mail: [elkilia@upatras.gr](mailto:elkilia@upatras.gr)*

The phylogenetic relationships and genetic divergence of 23 *Atherina boyeri* populations were investigated in the present study. The populations were collected from 10 lagoons/lakes and 12 marine sites in Greece, including the Aegean and the Ionian Sea regions. A population from lake Iznik in Turkey was also studied. Amplification using the polymerase chain reaction (PCR) of the mt-DNA control region (D-loop) was followed by the partial sequencing of that segment. After sequencing, 500bp were studied. The genetic distances were estimated and phylogenetic trees were constructed using three different methods (Neighbor Joining, Maximum Parsimony and Bayesian Inference). The phylogenetic trees consist of two basic clades which separate the populations in "lagoon" and "marine" types, supporting previous observations using RFLP analysis. Moreover, there is a clear differentiation between the populations from the Aegean region and those from the Ionian Sea. This research is been continued by collecting more samples as well as by the use of additional molecular markers.

**ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΜΕΤΑΛΛΑΓΕΣ ΤΟΥ ΠΑΤΡΙΚΟΥ mtDNA ΚΑΤΑ ΤΗΝ  
ΟΝΤΟΓΕΝΕΣΗ ΤΟΥ *Mytilus galloprovincialis*****Κυριακού Ε.<sup>1</sup>, Ζούρος Ε.<sup>2</sup> και Γ.Κ. Ροδάκης<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και  
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 157 01 Αθήνα, <sup>2</sup>Τμήμα Βιολογίας,  
Πανεπιστήμιο Κρήτης, 714 09 Ηράκλειο, Κρήτη

Σε αντίθεση προς τον γενικό κανόνα της κληρονομησης του μιτοχονδριακού DNA (mtDNA) μόνο από την μητέρα, σε ορισμένα δίθυρα μαλάκια παρατηρείται το φαινόμενο της Διπλής Μονογονεϊκής Κληρονομικότητας (ΔΜΚ). Σύμφωνα με αυτό, το μητρικό mtDNA (τύπος F) συναντάται στους σωματικούς ιστούς αρσενικών και θηλυκών ατόμων, καθώς και στα ωάρια των θηλυκών ατόμων, ενώ το πατρικό mtDNA (τύπος M) εμφανίζεται μόνο στα σπερματοζωάρια του αρσενικού ατόμου. Όμως, ενδιαφέρον παρουσιάζει η μη αναμενόμενη παρουσία τύπου M μορίων και στους σωματικούς ιστούς κάποιων αρσενικών ατόμων. Δυο υποθέσεις θα μπορούσαν να εξηγήσουν αυτό το φαινόμενο. Η πρώτη αναφέρεται σε διαρροή του M τύπου από το σπερματοζωάριο κατά τη γονιμοποίηση, ενώ η δεύτερη, προϋποθέτει παρουσία είτε δύο τύπων M στο σπέρμα είτε δύο τύπων (F και M) σε κάποια ωάρια, με αποτέλεσμα τη δημιουργία τριπλασμικών ατόμων. Για τον έλεγχο αυτών των υποθέσεων, πραγματοποιήθηκε σύγκριση των αλληλουχιών μιας εκ των πλέον μεταβλητών περιοχών του M μορίου (VD1) από σωματικό ιστό (πόδι) και από σπέρμα σε 10 άτομα του είδους *M. galloprovincialis*. Σε τέσσερα από τα 10 άτομα παρατηρήθηκαν μικρές διαφορές μεταξύ των αλληλουχιών από πόδι και από σπέρμα, οι οποίες πρακτικά περιορίζονται σε προσθήκες ή ελλείψεις ενός έως τριών νουκλεοτιδίων. Η συγκριτική ανάλυση του βαθμού απόκλισης (νουκλεοτιδικές αντικαταστάσεις και ελλείψεις/παρεμβολές -indels) υποδεικνύει ότι οι διαφορετικοί τύποι M δημιουργήθηκαν επιγενετικά κατά την οντογένεση, υποστηρίζοντας έτσι την πρώτη από τις δύο πιο πάνω υποθέσεις.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτείται από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών (Κ.Ε. 70/4/7805).



**MUTATIONS OF THE PATERNAL mtDNA DURING ONTOGENESIS OF  
*Mytilus galloprovincialis***

***Kyriakou E.<sup>1</sup>, Zouros E.<sup>2</sup>, and G C. Rodakis<sup>1</sup>***

*<sup>1</sup>Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, 157 01 Athens, <sup>2</sup>Department of Biology, University of Crete, 714 09, Heraklion, Crete*

Contrary to the general rule of maternal inheritance of mitochondrial DNA (mtDNA), in some bivalve mollusks we observe the phenomenon of Doubly Uniparental Inheritance (DUI), according to which the maternal mtDNA (F-type) is present in the somatic tissues of male and female individuals and the eggs of females, whereas the paternal mtDNA (M-type) appears only in the spermatozoa of males. However, the M-type may also be found in small quantities in somatic tissues of some individuals. Two kinds of explanations could be given for this phenomenon. The first is leakage of the sperm mtDNA into blastomeres that will produce somatic tissues during first cell divisions, and the second is that either the egg or the sperm contained two types of mtDNA. In order to test the two hypotheses, we compared the sequences of one of the most variable domains of the M molecule in a somatic tissue (foot) and in the sperm of 10 individuals of *M. galloprovincialis*. The results showed that the sequences were identical in the foot and the sperm, except in four individuals in which few small indels were observed. Given the fact that the surveyed region differs from individual to individual at a much higher degree, we conclude that the first hypothesis is more likely, and that the observed differences between foot and sperm in the same individual resulted from epigenetic mutations during development.

*Financially supported by the Special Account for Research Grants of the National and Kapodistrian University of Athens (K.E. 70/4/7805).*

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΗΣ Β ΛΑΜΙΝΗΣ (LAMIN B RECEPTOR) ΚΑΤΑ  
ΤΗ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΕΜΒΡΥΟΝΙΚΩΝ ΒΛΑΣΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ**

*Κυρίτσης Ν., Γιαννιός Ι., Γεωργάτος Σ.*

*Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, Πανεπιστημιόπολη Ιωάννινα  
E-mail: [nikyritis@gmail.com](mailto:nikyritis@gmail.com)*

Στον πυρήνα των εμβρυονικών βλαστικών κυττάρων παρατηρείται μεγάλη αναδιοργάνωση, κατά τη διάρκεια που τα κύτταρα μετατρέπονται από την αδιαφοροποίητη κατάσταση στη διαφοροποιημένη. Αυτή η μετάβαση αντικατοπτρίζεται στην τοπολογία συγκεκριμένων γενωμικών περιοχών, στην επιγενετική κατάσταση των ιστονών, στα επίπεδα έκφρασης των πυρηνικών λαμινών και στην αφθονία ή στον εντοπισμό συγκεκριμένων μεταγραφικών παραγόντων. Σαν πρώτο βήμα στην προσπάθειά μας να κατανοήσουμε το ρόλο των πρωτεϊνών του πυρηνικού φακέλου σε αυτή τη διαδικασία, δημιουργήσαμε σταθερές κυτταρικές σειρές που εκφράζουν τον LBR, μία διαμεμβρανική πρωτεΐνη της εσωτερικής πυρηνικής μεμβράνης, σε E14 εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα ποντικού και μελετήσαμε τη δυναμική του πριν και μετά τη διαφοροποίηση.

**ROLE OF THE INNER NUCLEAR MEMBRANE PROTEIN LAMIN B  
RECEPTOR (LBR) DURING STEM CELL DIFFERENTIATION**

*Kyritsis N., Giannios I., Georgatos S.*

*Medical School, University of Ioannina, Panepistimiopolis Ioannina, Greece  
E-mail: [nikyritsis@gmail.com](mailto:nikyritsis@gmail.com)*

The nucleus of embryonic stem cells (ES cells) undergoes major remodelling, as the cells switch from the undifferentiated to the differentiated state. This transition is reflected in the positioning of specific genomic loci, the epigenetic status of histone proteins, the expression pattern of nuclear lamins and the abundance or localization of specific transcription factors. As a first step in deciphering the role of nuclear envelope proteins in this process, we developed stable lines expressing LBR, an integral protein of the inner nuclear membrane, in E14 mouse ES cells and studied its dynamics before and after differentiation.

**Η ΔΙΑ ΜΕΣΟΥ ΤΗΣ CISPLATIN ΕΠΑΓΟΜΕΝΗ ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ  
ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΜΕ p53-  
ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΕΣ ΚΑΙ p53-ΑΝΕΞΑΡΤΗΤΕΣ ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ**

*Κωνσταντάκου Ε.Γ.<sup>1</sup>, Βουτσινάς Γ.Ε.<sup>2</sup>, Καρκούλης Π.Κ.<sup>2</sup>, Αραβαντινός Γ.<sup>3</sup>,  
Μαργαρίτης, Λ.Χ.<sup>1</sup> και Δ.Ι. Στραβοπόδης <sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και  
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 15784,  
Αθήνα; <sup>2</sup>Εργαστήριο Περιβαλλοντικής Μεταλλαξιγένεσης και Καρκινογένεσης,  
Ινστιτούτο Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», Αγία Παρασκευή 15310, Αθήνα; <sup>3</sup>η  
Ογκολογική-Παθολογική Κλινική, Ογκολογικό Νοσοκομείο «Άγιοι Ανάργυροι»,  
Ίλιον 13122, Αθήνα*

Η cisplatin αποτελεί έναν ισχυρό χημειοθεραπευτικό παράγοντα των συμβατικών πρωτοκόλλων αντιμετώπισης αρκετών ανθρώπινων κακοηθειών, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου της ουροδόχου κύστης. Η κυτταρική τοξικότητα και επαγωγή της απόπτωσης φαίνεται ότι προκαλούνται από τον σχηματισμό ειδικών μορφών δια-μοριακών συμπλόκων (adducts) τύπου DNA-Pt. Στην παρούσα μελέτη, και δια μέσου της χρήσης τεχνικών τύπου MTT, ανοσο-στυπώματος Western και ημιποσοτικής αντίδρασης RT-PCR, εξετάσθηκαν οι αποπτωτικές αποκρίσεις στη cisplatin δύο ανθρώπινων καρκινικών κυτταρικών σειρών ουροδόχου κύστης (RT4 και T24), που διέφεραν τόσο στο βαθμό κακοήθειας όσο και στο γενετικό υπόβαθρο του γονιδίου p53. Όπως αποκαλύφθηκε από τα πρότυπα πρωτεόλυσης των πρωτεασών Caspase-3, Caspase-8 και Caspase-9, καθώς και των υποστρωμάτων-στόχων PARP και Lamin A/C, και οι δύο κυτταρικοί τύποι ενεργοποιούν ισχυρά φαρμακοεπαγόμενα προγράμματα απόπτωσης, με την T24 κυτταρική σειρά να εμφανίζεται περισσότερο ανθεκτική από την RT4. Η διαφορική ευαισθησία των RT4 και T24 κυττάρων στην αποπτωτική δράση της cisplatin συσχετίζεται ισχυρά με RT4-ειδικά πρότυπα φωσφορυλίωσης της πρωτεΐνης p53 στις θέσεις Ser<sup>15</sup> και Ser<sup>392</sup>, καθώς και με φαινόμενα τόσο δομικού ακρωτηριασμού των Akt και XIAP αντι-αποπτωτικών ρυθμιστών όσο και ρυθμιζόμενης, μέσω του Granzyme B, πρωτεόλυσης της μοριακής συνοδού Hsp90. Με στόχο τη δημιουργία λειτουργικών δικτύων, αναλύθηκαν τα προφίλ έκφρασης ενός σημαντικού αριθμού συναφών γονιδίων, αποκαλύπτοντας, ως εκ τούτου, την καταλυτική συμμετοχή p53-εξαρτώμενων και p53-ανεξάρτητων μεταγραφικών αποκρίσεων στον από την cisplatin-επαγόμενο αποπτωτικό θάνατο των ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων ουροδόχου κύστης.

**CISPLATIN-INDUCED APOPTOSIS OF HUMAN BLADDER CANCER CELLS  
IS ASSOCIATED WITH p53-DEPENDENT AND p53-INDEPENDENT  
REGULATORY RESPONSES**

**Konstantakou E.G.<sup>1</sup>, Voutsinas G.E.<sup>2</sup>, Karkoulis P.K.<sup>2</sup>, Aravantinos G.<sup>3</sup>,  
Margaritis L.H.<sup>1</sup> and D.J. Stravopodis <sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens,  
Panepistimiopolis, Zografou 15784 Athens, Greece; <sup>2</sup>Laboratory of Environmental  
Mutagenesis and Carcinogenesis, Institute of Biology, NCSR "Demokritos", Aghia  
Paraskevi 15310, Athens, Greece; <sup>3</sup>3<sup>rd</sup> Clinic of Pathology-Oncology, "Agiou Anargyroi"  
Oncology Hospital, Ilion 13122, Athens, Greece

Cisplatin is a first-line chemotherapeutic agent and a powerful component of standard treatment regimens for several human malignancies, including bladder cancer. DNA-Pt (Platinum) adducts produced by cisplatin are mainly responsible for cellular toxicity and induction of apoptosis. Identification of the mechanisms that control sensitivity to cisplatin is central to improving its therapeutic index and to successfully encountering the acquired resistance frequently emerged during therapy. In the present study, using MTT-based assays, Western blotting and semi-quantitative RT-PCR, we examined the apoptosis-related cellular responses to cisplatin exposure in two human urinary bladder cancer cell lines characterized by different malignancy grade and *p53* genetic status. Both RT4 (grade I; wild-type *p53*) and T24 (grade III; mutant *p53*) cell types proved to be vulnerable to cisplatin apoptotic activity, albeit in a grade-dependent and drug dose-specific manner, as demonstrated by the proteolytic processing profiles of Caspase-3, Caspase-8, Caspase-9, and the Caspase repertoire characteristic substrates PARP and Lamin A/C, as well. The differential resistance of RT4 and T24 cells to cisplatin-induced apoptosis was associated with a RT4-specific phosphorylation (Ser15; Ser392) pattern of p53, together with structural amputations of the Akt and XIAP anti-apoptotic regulators. Furthermore, cisplatin administration resulted in a Granzyme B-mediated proteolytic cleavage of Hsp90 molecular chaperone, exclusively occurring in RT4 cells. To generate functional networks, expression analysis of a number of genes, including *Bik*, *Bim*, *Bcl-2*, *FAP-1*, *Fas*, *FasL*, *TRAIL*, *Puma*, *Caspase-10*, *ATP7A*, *ATP7B*, *MRP1* and *CTR1*, was performed, strongly supporting the role of p53-dependent and p53-independent transcriptional responses in cisplatin-induced apoptosis of bladder cancer cells.

**ΑΝΑΠΤΥΞΗ PDLF ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟΥ ΤΥΠΟΥ ΙΚΡΙΩΜΑΤΑ**

**Κωνσταντινίδου Κ.<sup>1</sup>, Θεοχαρίδου Α.<sup>2</sup>, Τσιόπτσας Κ.<sup>3</sup>, Παναγιώτου Κ.<sup>3</sup>,  
Κοΐδης Π.<sup>2</sup>, Σιβροπούλου Α.<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Γενικής Μικροβιολογίας, Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και  
Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΣΘΕ, <sup>2</sup>Οδοντιατρική Σχολή,  
<sup>3</sup>Πολυτεχνική Σχολή, Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο  
Θεσσαλονίκης, 54124

Οι συνηθέστεροι λόγοι αποτυχίας των σταθερών οδοντικών προσθετικών αποκαταστάσεων είναι η έκθεση της οστεΐνης και η μικροβιακή διείσδυση προκαλώντας τερηδόνα ή τραυματισμό του πολφού. Συνεπώς, η πλήρης σφράγιση της οριακής εγκοπής μεταξύ του δοντιού-κορώνας μέσω της οστεΐνικης αναγέννησης, θα ήταν ευεργετική για την γενική πρόγνωση της αποκατάστασης. Σε μια προσπάθεια προσέγγισης της οστεΐνικης αναγέννησης, απομονώθηκαν κύτταρα από ανθρώπινο περιοδοντικό σύνδεσμο (PDLF), δεδομένου ότι έχουν την δυνατότητα αναγέννησης της οστεΐνης, η οποία αποτελείται κυρίως από υδροξυαπατίτη  $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$  και οστεΐνοβλάστες. Στη συνέχεια μελετήθηκε η βιωσιμότητα των κυττάρων PDLF σε διαφορετικά ικρίωματα κατά τη διάρκεια εκτεταμένης επώασης (20 ημέρες), χρησιμοποιώντας ικρίωματα 2 τύπων: (i) τύπος I: τριδιάστατοι σπόγγοι χιτίνης και (ii) τύπος II: σύνθετα ικρίωματα που αποτελούνται από πορσελάνη, βιοενεργή ύαλο, επειδή προάγει την κατακρύμνηση ιόντων Ca-P, και σπόγγους που αποτελούνται είτε από χιτίνη είτε από χιτοζάνη-ζελατίνη. Τα κύτταρα επιβίωσαν και στους 2 τύπους ικριωμάτων για 20 ημέρες, αλλά στα ικρίωματα τύπου II με επικάλυψη χιτοζάνης-ζελατίνης, τα PDLF κύτταρα αφού πολλαπλασιάστηκαν ο πληθυσμός τους παρέμεινε σταθερός μέχρι το τέλος της επώασης. Επειδή τα παραπάνω αποτελέσματα είναι ελπιδοφόρα παράχθηκαν αντισώματα ενάντια στην οστεΐνική πρωτεΐνη πρόσφυσης (CAP), που αποτελεί μοναδικό δείκτη οστεΐνοβλαστών προκειμένου να μελετηθεί εάν τα κύτταρα PDLF διαφοροποιούνται προς οστεΐνοβλάστες στα παραπάνω ικρίωματα.

## **GROWTH OF PDLF IN DIFFERENT TYPES OF SCAFFOLDS**

***Konstantinidou K.<sup>1</sup>, Theocharidou A.<sup>2</sup>, Tsiptsas K.<sup>3</sup>, Panagiotou K.<sup>3</sup>,  
Koidis P.<sup>2</sup>, Sivropoulou A.<sup>1</sup>***

*<sup>1</sup>Laboratory of General Microbiology, Department of Genetics, Development & Molecular Biology, School of Biology, Faculty of Sciences and Mathematics, <sup>2</sup>School of Dentistry, <sup>3</sup>Department of Chemical Engineering, School of Engineering, 54124, Aristotle University of Thessaloniki.*

One of the commonest reasons for the failure of fixed prosthetic restorations is the exposure of the cement line and micropenetration leading to secondary caries or pulp injury. Consequently, the complete sealing of the marginal gap between tooth and crown through the regeneration of cementum, would be beneficial for the overall prognosis of the restoration. In an attempt to approach the cementum regeneration we isolated cells from human periodontal ligament (PDLF) since they are able to regenerate cementum, a tissue composed mainly from hydroxyapatite [Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub>] and cementoblasts. Next, we studied the viability of PDLF cells in different scaffolds over a long period of incubation (20 days), using the following types of scaffolds: (i) type I: three-dimensional sponges which are consisting of chitin and (ii) type II: complex scaffolds which are consisting of porcelain, bioactive glass as it promotes the precipitation of Ca-P ions, and sponges consisting of either chitin or chitosan-gelatin. Both types of scaffolds supported cell survival for twenty days, but in type II scaffolds coated with chitosan-gelatin, the PDLF cells were initially proliferated and then the cell population remained constant until the end of incubation. Since the above results are promising, antibodies were raised against cementum attachment protein (CAP), a unique marker for cementoblasts, in order to study if PDLF cells are differentiated to cementoblasts in the above scaffolds.

**ΕΚΦΡΑΣΗ ΚΑΙ ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ  $\alpha 5$  ΙΝΤΕΓΚΡΙΝΗΣ ΣΤΟ ΠΡΩΙΜΟ ΕΜΒΡΥΟ**

*Κωνσταντόπουλος Κ., Δημηρόπουλος Α., Χριστοπούλου Μ., Ζάγκρης Ν.*

*Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Τμήμα Βιολογίας,  
Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα. E-mail: [zagris@upatras.gr](mailto:zagris@upatras.gr)*

Οι ιντεγκρίνες είναι ετεροδιμερείς διαμεμβρανικοί υποδοχείς που αποτελούνται από μια  $\alpha$  και μία  $\beta$  υπομονάδα. Οι ιντεγκρίνες λειτουργούν ως αμφίδρομα μόρια-σηματοδότες και συνδέουν πρωτεΐνες της εξωκυττάριας ουσίας με τον κυτταροσκελετό και με πρωτεΐνες των μονοπατιών μετα-γωγής σημάτων από και προς τον πυρήνα. Η  $\alpha 5\beta 1$  ιντεγκρίνη είναι υποδοχέας της ινονεκτίνης. Στην παρούσα εργασία μας, με τη μέθοδο της RT-PCR και του ανοσοφθορισμού, μελετήσαμε πότε αρχίζει να εκφράζεται και σε ποιους κυτταρικούς πληθυσμούς εκφράζεται η  $\alpha 5$  ιντεγκρίνη κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του πρώιμου εμβρύου όρνιθας από το στάδιο του μοριδίου (στάδιο X) ως το στάδιο των 29 σωματίων (στάδιο HH17, οργανογένεση). Το mRNA της  $\alpha 5$  ιντεγκρίνης αρχικά ανιχνεύτηκε σε χαμηλά επίπεδα στο στάδιο X και η έκφραση του ρυθμίζεται αναπτυξιακά. Η  $\alpha 5$  ιντεγκρίνη εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα στα μεταναστευτικά μεσενχυματικά κύτταρα και στα ενδοδερμικά κύτταρα κατά το στάδιο του γαστρίδιου (HH3-4). Αργότερα στην ανάπτυξη, η  $\alpha 5$  ιντεγκρίνη εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα στο διεγκέφαλο, στο μυελεγκέφαλο, στο νευρικό σωλήνα, στο οπτικό κυστίδιο, στα κύτταρα των νευρικών κρηπίδων, στα φαρυγγικά και αορτικά τόξα, στη ραχιαία αορτή και στο δερμομυοτόμο στους σωματίτες, στο μυοκάρδιο και στο ενδοκάρδιο στην καρδιά, στον πεπτικό σωλήνα και στο ήπαρ. Επίσης, μελετήσαμε το ρόλο της  $\alpha 5$  ιντεγκρίνης, μέσω αναστολής της λειτουργίας της, με τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι αυτής. Τα πειραματικά έμβρυα έδειξαν βραχύ προσθιοπίσθιο εμβρυικό άξονα που εμφάνιζε σημαντικές ανωμαλίες στη μορφογένεση του εγκεφάλου, της καρδιάς και των σωματίων. Οι πιο σοβαρές ανωμαλίες παρουσιάστηκαν στο οπίσθιο τμήμα του εμβρυικού άξονα που ήταν παραμορφωμένος ή απουσίαζε.

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



**DEVELOPMENTALLY REGULATED EXPRESSION AND FUNCTIONAL  
ROLE OF  $\alpha 5$  INTEGRIN IN THE EARLY EMBRYO**

*Konstantopoulos K., Dimiropoulos A., Christopoulos M., Zagris N.*

*Division of Genetics and Cell and Developmental Biology, Department of Biology,  
University of Patras, Patras, Greece. E-mail: [zagris@upatras.gr](mailto:zagris@upatras.gr)*

Integrins are  $\alpha\beta$  heterodimeric receptors that serve as bidirectional signaling molecules linking extracellular matrix ligands or counter receptors to the cytoskeletal network and signaling proteins.  $\alpha 5\beta 1$  integrin is a fibronectin receptor. We studied the expression pattern of  $\alpha 5$  integrin subunit in the chick embryo from stage X (morula) to stage HH17 (29 somites/ early organogenesis) by RT-PCR and immunofluorescence.  $\alpha 5$  integrin mRNA was first detectable at low levels at stage X and its expression was developmentally regulated.  $\alpha 5$  integrin was expressed strongly in the mi-grating mesenchymal cells and in the cells of the lower layer during the gastrula stage (stage HH3-4). Later in development,  $\alpha 5$  was expressed strongly in the diencephalon, myelencephalon, neural tube, optic stalk, neural crest cells, pharyngeal and aortic arches, dorsal aorta and precardinal vein walls, in the dermomyotome in somites, myocardium and endocardium in heart, gut and liver. Inhibition of function of the  $\alpha 5$  integrin by blocking antibodies showed short anteroposterior embryonic axis that displayed severe defects in the neuroepithelium, heart and blood vessels and somite morphogenesis. The defects were more severe in the posterior trunk region of the embryonic axis that was deformed or missing.

*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. Karatheodori" grant B.397).*

**ΕΝΔΟΜΟΡΙΑΚΗ ΣΥΝΕΡΓΕΙΑ ΚΑΙ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΗ ΠΡΟΣΛΗΨΗ  
ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ ΣΕ ΠΡΟΤΥΠΟ ΜΕΤΑΦΟΡΕΑ ΠΟΥΡΙΝΩΝ**

*Κωστή Β., Παπαγεωργίου Γ., Διαλλινάς Γ.*

*Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών,  
E-mail: [diallina@biol.uoa.gr](mailto:diallina@biol.uoa.gr)*

Ο UapA, ο οποίος ανήκει στην οικογένεια μεταφορέων πουρινών-ασκορβικού (NAT/NCS2), είναι ένας υψηλής συγγένειας και μεταφορικής ικανότητας συμ-μεταφορέας ξανθίνης-ουρικού οξέος/H<sup>+</sup> στο νηματοειδή ασκομύκητα *Aspergillus nidulans*. Η προβλεπόμενη δευτεροταγής δομή του αποτελείται από 12 δια-μεμβρανικές α-έλικες (TMS) με τα N- και C- άκρα του να εντοπίζονται κυτταρο-πλασματικά. Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι συγκεκριμένα αμινοξέα στην περιοχή TMS8-9 παίζουν σημαντικό ρόλο στη λειτουργία του μεταφορέα. Περαιτέρω κινητικές μελέτες λειτουργικών μεταλλαγμένων μορφών του UapA έδειξαν ότι η περιοχή αυτή φαίνεται να περιλαμβάνει το κέντρο πρόσδεσης υποστρωμάτων. Επιπρόσθετες κλασσικές γενετικές προσεγγίσεις οδήγησαν στην αναγνώριση διακριτών αμινοξέων στα TMS1 & TMS12 που δρουν ως εξωκυτταρικά δυναμικά φίλτρα (ή στοιχεία ελεγχόμενης πρόσβασης στο κέντρο πρόσδεσης υποστρωμάτων) που καθορίζουν την εξειδίκευση του UapA. Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήσαμε μία νέα γενετική προσέγγιση επιλογής μεταλλαγμένων μορφών του UapA με τροποποιημένη εξειδίκευση. Στην προσέγγιση αυτή χρησιμοποιήθηκε μία μορφή του μεταφορέα με ήδη «χαλαρωμένη» εξειδίκευση (UapA-F528S), η οποία μεταφέρει αδενίνη μόνο όταν αυτή παρέχεται σε υψηλές συγκεντρώσεις (>1mM). Από τα 65 μεταλλαγμένα στελέχη που απομονώθηκαν σε χαμηλές συγκεντρώσεις αδενίνης (0.5 mM) χαρακτηρίστηκαν πλήρως τα 28, τα οποία οδήγησαν στην ταυτοποίηση αντικαταστάσεων σε 6 αμινοξικά κατάλοιπα στις περιοχές TMS1 (Q113), TMS8-9 θηλιά (F406), TMS9 (A441), TMS10 (V463, A469) και TMS10-11 θηλιά (R481). Παρόλο που κάποιες από τις μεταλλαγές βελτίωσαν ελαφρώς τη συγγένεια δέσμευσης του μεταφορέα για την αδενίνη, δεν δικαιολογείται πλήρως η παρατηρούμενη σημαντική βελτίωση στη μεταφορά της από τον UapA. Τα αποτελέσματά μας υποστηρίζουν ότι η θηλιά TMS10-11 μπορεί να δρα ως ενδοκυτταρική δομή ελεγχόμενης πρόσβασης στο κέντρο πρόσδεσης υποστρωμάτων, αναδεικνύουν για πρώτη φορά τη σημασία των TMS9 και TMS10 και επιβεβαιώνουν τη μοριακή «συνομιλία» των TMS1 και TMS12 με την περιοχή TMS8-9.

## **INTERDOMAIN SYNERGY AND GATING IN A PROTOTYPE PURINE TRANSPORTER**

*Kosti V., Papageorgiou I., and G. Diallinas*

*Faculty of Biology, University of Athens, Greece, E-mail: diallina@biol.uoa.gr*

UapA, the prototype of the ubiquitous Nucleobase-Ascorbate Transporter (NAT/NCS2) family, is a well studied high affinity, high capacity xanthine-uric acid/H<sup>+</sup> co-transporter in the filamentous fungus *Aspergillus nidulans*. Its predicted structure consists of 12 transmembrane  $\alpha$ -helices (TMS) with cytoplasmic N- and C- termini. Previous experiments have shown that specific amino acid residues within the TMS8-9 region play an important role in UapA function. In addition, kinetic analysis of functional mutants showed that this region should contain the substrate binding site of the transporter. Random genetic approaches have further identified distinct residues in TMS1 & TMS12 which act as extracellular-facing dynamic filters or gating elements, which play a critical role in determining UapA specificity. Here we use a novel genetic approach to select mutants with modified substrate specificity. This approach makes use of a UapA version with already 'relaxed' specificity (UapA-F528S) which can transport adenine only when this purine is provided at high concentrations (>1mM). Among 65 novel mutants isolated at lower adenine concentration (0.5 mM), 28 were fully characterized and shown to concern 6 residues mapping in TMS1 (Q113), TMS8-9 loop (F406), TMS9 (A441), TMS10 (V463, A469) and TMS10-11 loop (R481). Some of the mutations studied increased moderately the affinity for adenine, but this could not fully account for the increase in UapA-mediated adenine transporter capacity. Our results rather suggest that the TMS10-11 loop might act as an intracellular-facing gating domain, identify a previously unnoticed importance of TMS9 and TMS10, and confirm the synergistic interaction of the TMS1 and TMS12 domains with the substrate binding site in TMS8-9.

**ΗΘΙΚΗ ΚΑΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΣΜΟΣ ΜΕ ΖΩΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ***Κωστομητσόπουλος Ν.\***Κέντρο Πειραματικής Χειρουργικής, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών  
Ακαδημίας Αθηνών*

Η χρησιμοποίηση ζώων στη βιοϊατρική έρευνα αποτελεί επιστημονική πρακτική που έχει συμβάλει καθοριστικά στην κατανόηση βασικών βιολογικών λειτουργιών αλλά και στη βελτίωση της ποιότητας της ζωής των ανθρώπων και των ζώων. Για πολλά χρόνια η χρησιμοποίηση των ζώων είχε ανθρωποκεντρικό χαρακτήρα οι δε ερευνητές που χρησιμοποιούσαν ζώα εργαστηρίου τεκμηριώναν την αναγκαιότητα του πειραματισμού τους βασιζόμενοι κυρίως στα προσδοκούμενα για τον άνθρωπο οφέλη. Κατά τη διάρκεια της τελευταίας εικοσαετίας, η ευαισθητοποίηση της κοινής γνώμης αλλά και το ενδιαφέρον των επιστημόνων που ασχολούνται με την υγεία και την ευζωία των ζώων εργαστηρίου έχουν καταστήσει σαφές ότι η χρησιμοποίηση ζώων στη βιοϊατρική έρευνα θα πρέπει να ακολουθεί συγκεκριμένους νομοθετικούς, επιστημονικούς αλλά και ηθικούς κανόνες. Η ηθική τεκμηρίωση της ερευνητικής πρότασης θα πρέπει ουσιαστικά να δίνει απαντήσεις σε ερωτήματα που αφορούν στην αναγκαιότητα της χρησιμοποίησης ζώων εργαστηρίου καθώς και στη λήψη των απαραίτητων μέτρων για την ορθή χρησιμοποίηση των ζώων αυτών. Ο ακριβής ορισμός των στόχων του ερευνητικού πρωτοκόλλου, η επιλογή του κατάλληλου ζωικού προτύπου, η αποφυγή επανάληψης πειραμάτων, η δυνατότητα επίτευξης των ιδίων αποτελεσμάτων με άλλες μεθόδους που δεν απαιτούν τη χρησιμοποίηση ζώων, η ανάλυση της σχέσης μεταξύ του οφέλους που θα προκύψει από την έρευνα και της βλάβης που θα προκληθεί στα ζώα αποτελούν μερικά από τα σημεία που θα πρέπει να τεκμηριώνονται σχετικά. Η ηθική τεκμηρίωση αποτελεί δυναμική διαδικασία που αρχίζει από τη φάση του σχεδιασμού του ερευνητικού πρωτοκόλλου και ολοκληρώνεται με την αξιολόγηση και επεξεργασία των αποτελεσμάτων. Στη διαδικασία αυτή οφείλουν να συμμετέχουν ενεργά όλα τα μέλη της ερευνητικής ομάδας. Ζώντας σε ένα παγκοσμιοποιημένο περιβάλλον όπου τα μέσα ενημέρωσης έχουν εκμηδενίσει τόπο και χρόνο, το κύριο μήνυμα που θα πρέπει να διαχέεται προς την κοινωνία είναι ότι εφ' όσον η χρησιμοποίηση των ζώων εργαστηρίου είναι αναπόφευκτη αυτή θα πρέπει να γίνεται με βάση συγκεκριμένα νομοθετικά, επιστημονικά, και ηθικά κριτήρια. Με τον τρόπο αυτό θα οικοδομηθεί η σχέση αμοιβαίας εμπιστοσύνης αλλά και εκτίμησης μεταξύ της ερευνητικής κοινότητας και του κοινωνικού συνόλου.

*(\*) προσκεκλημένος ομιλητής*

## ETHICS AND ANIMAL EXPERIMENTATION

*Kostomitsopoulos N.\**

*Centre for Experimental Surgery, Biomedical Research Foundation of the Academy of  
Athens.*

Despite all the benefits, the use of animals in biomedical research was, and still is, a subject of debate with respect to its true usefulness. The sensitivity of the community and the interest of scientists working in the field of laboratory animal science and welfare have clearly demonstrated that the use of animals in biomedical research must be conducted under specific scientific and legal rules. During the last decades, animal experimentation is also considered as an important ethical issue. The ethical justification of a research project is starting from the initial designing phase of the project until the completion of the study and the review of the obtained results. Main considerations of an ethical documentation are: the precise definition of the goals of the project and the existing probabilities for its success, the selection of the appropriate animal model, the use of alternative methods, the benefits for science and society with direct consideration to the harm created to animals, the implementation of the 3Rs' concept for replacement, reduction and refinement, the availability of the appropriate facilities, equipment and expertise to guarantee high standards of animal accommodation, husbandry, care and use. The ethical documentation of a project by scientists themselves involves team work and a sustainable rather than a one-off procedure. The ethical justification of the laboratory animal research protocols reflects the interest and the responsibility of scientists for reduction and refinement of animal experimentation. This process built a trust relationship between scientists and the society.

*(\*) invited speaker*

**ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΡΥΘΜΟΓΕΝΕΣΗΣ ΣΤΟΝ ΕΓΚΕΦΑΛΟ ΚΑΤΑ ΤΟΝ ΥΠΝΟ:  
ΝΕΩΤΕΡΑ ΗΛΕΚΤΡΟΕΓΚΕΦΑΛΟΓΡΑΦΙΚΑ ΚΑΙ ΜΑΓΝΗΤΟΕΓΚΕΦΑΛΟ-  
ΓΡΑΦΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ***Κωστόπουλος Γ.Κ.\***Εργαστήριο Φυσιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών*

Το ηλεκτροεγκεφαλογράφημα (ΗΕΓ) κατά τον ύπνο χωρίς ταχείες οφθαλμικές κινήσεις (NREM) χαρακτηρίζεται από μεγάλα αργά κύματα όπως τα συμπλέγματα-K (ΣΚ, διάρκειας ~500 msec) και τα κύματα δέλτα (0.5-3.5 Hz) αντίστοιχα κατά το 2<sup>ο</sup> και το 4<sup>ο</sup> NREM στάδιο. Δύο πειράματα υποδεικνύουν ότι τα δύο αυτά αργά κύματα συμβάλουν στην δημιουργία ρυθμών υψηλότερης συχνότητας: (α) Αναλύοντας σε ολονύκτια ΗΕΓ 10 εθελοντών την ισχύ των συχνοτήτων στο χρόνο πριν και μετά την αρνητική κορυφή των ΣΚ παρατηρήσαμε ότι τα ΣΚ συχνά (812/1130) ακολουθούνται από ατράκτους συχνότητας (~15Hz) υψηλότερης εκείνης των ταχέων κεντροβρεγματικών ατράκτων (~14Hz,  $p < 0.00002$ ) και των βραδέων μετωπιαίων ατράκτων (~12Hz). Όταν τα ΣΚ εκλύονται παρουσία ταχέων ατράκτων ( $14.11 \pm 0.71$ ,  $n=403$ ), τις σταματούν (100%) και συνήθως (322/403) τις αντικαθιστούν με ένα βραχείας διάρκειας βραδύτερο ρυθμό ( $8.82 \pm 1.20$ Hz), και στη συνέχεια συνήθως (238/403) «εκλύουν» ατράκτους πάντοτε ταχύτερες (κατά  $m=1.17$ Hz) εκείνων που διέκοψαν. (β) Εντοπίσαμε με “Τομογραφία Μαγνητικού Πεδίου” τις πηγές ρεύματος στον εγκέφαλο κατά μία ολονύκτια καταγραφή 4 εθελοντών. Κατά τις «ήσυχες» περιόδους του “προτύπου κυκλικής εναλλαγής” (CAP-B) στον NREM παρατηρήσαμε ισχυρή γάμμα (>25Hz) δραστηριότητα στον αριστερό έσω ραχιαίο μετωπιαίο φλοιό, η οποία αναπτυσσόταν παράλληλα με τα 1-4 στάδια του NREM, έφτανε μέγιστο κατά το 4<sup>ο</sup> στάδιο και επεκτεινόταν πλάγια κατά τον REM. Οι άτράκτοι και οι γάμμα ρυθμοί βηματοδοτούνται από θαλαμοφλοιϊκά κυκλώματα λόγω των χωρο-χρονικών χαρακτηριστικών τους, αποδίδουμε τα δύο φαινόμενα σε φλοιϊκή δυσαναστολή επί του θαλάμου: αναπήδηση στο χρόνο μετά την αναστολή κατά την αρνητική φάση του ΣΚ (στο α) και πλάγια δυσαναστολή που ευνοεί την ανάδυση γάμμα δραστηριότητας στο μέσο των περιοχών με μέγιστη βραδεία δραστηριότητα (στο β). Η χωρο-χρονική δυναμική των ΗΕΓ ρυθμών ίσως αντιπροσωπεύει σημαντικούς μηχανισμούς κωδικοποίησης κατά τον ύπνο NREM και τον πρόσφατα αναδειχθέντα ρόλο του στην απομνημόνευση.

*(\*) προσκεκλημένος ομιλητής*

**MECHANISMS OF BRAIN RHYTHMOGENESIS IN SLEEP: NEW EVIDENCE  
FROM EEG AND MEG**

*Kostopoulos G.K.\**

*<sup>1</sup>Physiol. Dep., Med. Sch., Univ. of Patras, Patras, Greece*

Brain activity during Non-Rapid-Eye-Movement (NREM) sleep is characterized by widely synchronous large slow waves, like K-complexes (KCs ~500 msec duration) and delta waves (0.5 – 3.5 Hz) prevailing respectively in the 2<sup>nd</sup> and 4<sup>th</sup> stage of NREM sleep. Two new phenomena suggest that these slow waves may contribute to the generation of rhythmical activity of higher frequencies: (a) Using EEG time frequency analysis centred around the negative peak of the KC revealed that KCs usually (in 812/1130) “trigger” spindles, which have significantly higher frequency (~15Hz) than that of spontaneously occurring fast centroparietal spindles (~14Hz,  $P < 0.00002$ ) and that of slow frontal spindles (~12Hz). When KCs occur during spontaneously running fast spindles ( $14.11 \pm 0.71$ ,  $n=403$ ) they invariably interrupt them and usually (322/403) replace them by a short slower rhythm ( $8.82 \pm 1.20$ Hz) before they “trigger” (238/403) a new spindle rhythm of invariably higher frequency (by  $m=1.17$ Hz). (b) Magnetic Field Tomography analysis of MEG records during NREM sleep “core” (i.e. CAP-B) periods revealed very high (higher than awake) gamma frequency (>25Hz) activations, localized in the left dorsomedial prefrontal cortex, developing in parallel to the NREM stages, culminating in NREM-4 and expanding laterally in REM. Both spindles and gamma frequency rhythms are considered to be paced by thalamocortical circuits. The time (a and b) and space (b) characteristics of the two described phenomena suggest that both may develop from a mechanism of cortical disinhibition affecting these thalamocortical pacing circuits and expressed as a rebound in time after the inhibitory negative phase of the KC (in a) or as lateral disinhibition in space promoting the generation of gamma activity in the centre of areas with highest delta activity (in b). Time-space dynamics of EEG rhythms may represent important coding mechanisms in NREM sleep and its recently revealed role in memory consolidation.

*(\*) Invited speaker*

**ΈΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΤΟΥ PURKAIT ΣΤΗΝ ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΣΚΕΛΕΤΙΚΗ  
ΣΥΛΛΟΓΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ**

*Κωστοπούλου Ε., Ηλιόπουλος Κ., Κοίλιας Χ.\* και Σ.Κ. Μανώλης*

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό &  
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 84 Αθήνα  
\*Τμήμα Πληροφορικής, ΤΕΙ Αθήνας, Οδός Αγ. Σπυρίδωνος Αιγάλεω Αττικής  
E-mail: [smanol@biol.uoa.gr](mailto:smanol@biol.uoa.gr) , [ckoilias@teiath.gr](mailto:ckoilias@teiath.gr)*

Αφήνοντας τις παραδοσιακές μετρήσεις των μακρών οστών, για τον προσ-διορισμό του φύλου, η παρούσα μελέτη χρησιμοποιεί μετρήσεις επί του ανώτερου τμήματος του μηριαίου (περιοχή κεφαλής – τροχαντήρα). Τα 3 αυτά σημεία περιγράφουν μια τριγωνική περιοχή (τρίγωνο Purkait). Σκοπός της εργασίας είναι να μελετήσουμε το βαθμό φυλετικού διμορφισμού σε αυτή τη συγκεκριμένη περιοχή του μηριαίου και να εξάγουμε εξισώσεις διαχωριστικής ανάλυσης, οι οποίες θα μπορούν να προσδιορίζουν το φύλο. Οι εξισώσεις αυτές είναι πολύ χρήσιμες στις περιπτώσεις αποσπασματικών μηριαίων. Μετρήθηκαν οι αποστάσεις των τριών πλευρών του τριγώνου σε σκελετικό δείγμα, γνωστού φύλου και ηλικίας θανάτου από την σύγχρονη συλλογή αναφοράς (Athens Collection), το οποίο αποτελείται από 107 άνδρες και 83 γυναίκες [181 αριστερά μηριαία (101 άνδρες και 80 γυναίκες) και 170 δεξιά μηριαία (96 άνδρες και 74 γυναίκες)]. Αρχικά υπολογίστηκαν τα περιγραφικά στατιστικά (μέσες τιμές, τυπικές αποκλίσεις κλπ) για το σύνολο των διαθέσιμων μηριαίων αλλά και για τα δεξιά και αριστερά. Στη συνέχεια τα βιομετρικά δεδομένα αναλύθηκαν με Διαχωριστική Ανάλυση (Discriminant Analysis) και εξάχθηκαν δύο εξισώσεις (αριστερό και δεξιό μηριαίο) προσδιορισμού του φύλου. Η εφαρμογή των εξισώσεων στο δείγμα μας έδωσε ένα γενικό ποσοστό σωστής ταξινόμησης 72,90%. Πιο συγκεκριμένα για το αριστερό μηριαίο η ταξινόμηση ήταν μόλις 70,30% για τους άνδρες και 76,25% για τις γυναίκες ενώ για το δεξιό μηριαίο 68,80% για τους άνδρες και 77,00% για τις γυναίκες. Συγκρινόμενα αυτά ποσοστά με τα αποτελέσματα του Purkait (2005) παρατηρούμε ότι γενικά οι μέσες τιμές των αποστάσεων του ελληνικού δείγματος είναι μικρότερες από εκείνες των Ινδών ενώ τα ποσοστά επιτυχίας είναι πολύ χαμηλότερα από τα ήδη δημοσιευμένα (85,50% άνδρες και 81,30% γυναίκες). Αν και τα ποσοστά επιτυχούς ταξινόμησης είναι χαμηλότερα, θεωρούνται ικανοποιητικά και η έρευνα θα πρέπει να συνεχιστεί αφού είναι μια μέθοδος που θα μπορούσε να αποδώσει και στον Ελληνικό πληθυσμό, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις αρχαιολογικών σκελετών, που συνήθως είναι αποσπασματικοί, αλλά και σε περιπτώσεις Δικαστικής Ανθρωπολογίας.



**TESTING THE METHOD OF PURKAIT FOR SEX DETERMINATION IN A  
MODERN GREEK HUMAN SKELETAL POPULATION (THE ATHENS  
COLLECTION)**

*Kostopoulou E., Eliopoulos C., Koilias Chr.\* and S.K. Manolis*

*<sup>1</sup>Dept of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, National & Kapodistrian  
University of Athens, Panepistimiopolis 15784 Athens, Greece,*

*\*Dept of Informatics, Technological Institution of Athens, Ag. Spyridonos Str, 12210  
Aegaleo Attica, Greece.*

*E-mail: [smanol@biol.uoa.gr](mailto:smanol@biol.uoa.gr) , [ckoilias@teiath.gr](mailto:ckoilias@teiath.gr)*

As a departure from traditional measurements of long bones for the determination of sex, the present study utilises measurements of the proximal portion of the femur (femoral head and trochanter areas). The three points outline a triangular area (Purkait triangle). The goal of this work is to study the degree of sexual dimorphism in this area of the femur and generate discriminant function equations that will determine the sex in skeletal remains. These equations are very useful in cases of fragmentary femora. The distances of the three sides of the triangle were measured in a modern, skeletal reference sample of known age and sex (Athens Collection). The sample consists of 107 males and 83 females. Of those, 181 left femora (101 males and 80 females), and 170 right femora (96 males and 74 females) were measured. Initially, the descriptive statistics were calculated (mean values, standard deviations, etc.) for the total number of femora, but also separately for each side (right and left). Then the biometric data were analysed by discriminant analysis and two equations were generated (for right and left femur), for the determination of sex. The application of the equations on our sample produced an overall correct classification of 72.90%. In particular, for the left femur the correct classification was only 70.30% for males and 76.25% for females, while for the right femur the results were 68.80% for males and 77.00% for females. When these results are compared to those of Purkait (2005), it is noted that the mean values of distances in the Greek sample are lower than those from India, and the accuracy rates are much lower than those previously published (85.50 for males and 81.30% for females). Although the percentages of correct classification are lower, they are considered to be satisfactory and research in this direction should be continued because it is a method that may be useful for Greek populations, especially in skeletons of archaeological origin, which are usually fragmentary, but also in cases of forensic anthropological interest.

**ΣΧΕΣΕΙΣ ΜΗΚΟΥΣ ΒΑΡΟΥΣ & ΕΥΡΩΣΤΙΑΣ ΤΟΥ *Pagellus erythrinus*  
(Linnaeus, 1758) ΣΤΟ ΘΕΡΜΑΪΚΟ ΚΟΛΠΟ****Λαζαρίδου Μ.-Ι., Καρύδας Θ. και Γ. Μίνος**

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

E-mail: [karidas@aqua.teithe.gr](mailto:karidas@aqua.teithe.gr), [gminos@aqua.teithe.gr](mailto:gminos@aqua.teithe.gr)

Στην παρούσα εργασία εξετάζονται οι εποχικές σχέσεις μήκους-βάρους και ευρωστίας του λυθρινιού *Pagellus erythrinus* (Linnaeus, 1758) στο Θερμαϊκό κόλπο. Τα δείγματα συλλέχθηκαν με στατικά δίχτυα (απλάδια) ανοίγματος ματιού (ΟΜ) 36 έως 52 mm, στο βόρειο τμήμα του κόλπου (απαγορεύεται η αλιεία με τράτα βυθού όλο το χρόνο), στο διάστημα Δεκέμβριος 2006 έως Δεκέμβριος 2008. Εξετάστηκαν συνολικά 413 άτομα, και ελήφθησαν το ολικό μήκος (TL) και το ολικό βάρος (TW). Το εύρος μηκών και βάρους του δείγματος κυμάνθηκε από 99 - 253mm και 14 - 201g αντίστοιχα. Ως προς τη σχέση μήκους-βάρους, το είδος εμφάνισε μόνο το καλοκαίρι ισομετρική αύξηση ( $P>0,05$ ) με τιμές  $b=3,025 (\pm 0,044)$  και αλλομετρική (θετική) αύξηση το φθινόπωρο  $b=3,181 (\pm 0,07)$ , το χειμώνα  $b=3,113 (\pm 0,043)$  και την άνοιξη  $b=3,092 (\pm 0,026)$ . Από τα δεδομένα προκύπτει ότι οι τιμές του  $b$  ήταν υψηλότερες της τιμής 3 καθ' όλη τη διάρκεια του έτους. Το αλιευτικό εργαλείο που χρησιμοποιήθηκε είναι γνωστό ότι αλιεύει καθορισμένου μεγέθους άτομα από τον ιχθυοπληθυσμό, όπου τα μικρότερου μήκους είναι από τα πιο εύρωστα ενώ τα μεγαλύτερου μήκους πιο αδύναμα, τείνοντας να μειώνει τις τιμές του  $b$ . Αποκλείοντας το γεγονός να υπεισέρχεται σφάλμα από το αλιευτικό εργαλείο (επιλεκτική αλιεία εύρωστων ατόμων) τα άτομα του είδους στην συγκεκριμένη περιοχή εμφανίζουν υψηλές τιμές  $b$ . Το γεγονός αυτό πιθανόν να οφείλεται α) στην αφθονία τροφής στην περιοχή, β) στη σταθερή αλιευτική πίεση που δέχεται το είδος στην περιοχή έρευνας και γ) στο ότι δεν πρέπει να διενεργεί μεγάλες μεταναστεύσεις. Η τελευταία υπόθεση ενισχύεται με τη συνεχή εμφάνιση ίδιων μηκών όλες τις εποχές. Τα παραπάνω έρχεται να στηρίξει η εξέταση του δείκτη ευρωστίας κατά Fulton  $Kn=100*(W/L^3)$ , ο οποίος διακυμάνθηκε σε σταθερές τιμές, από 1,214 ( $\pm 0,011$ ) το φθινόπωρο μέχρι 1,276 ( $\pm 0,008$ ) την άνοιξη. Λαμβάνοντας υπόψη και την έλλειψη μεγάλων ατόμων στο δείγμα (συνήθως εμφανίζουν υψηλότερες τιμές ευρωστίας) κρίνουμε ότι το λυθρίνι έχει πολύ καλή προσαρμογή στη περιοχή.

**LENGTH-WEIGHT RELATIONSHIP AND CONDITION OF COMMON  
PANDORA *Pagellus erythrinus* (Linnaeus, 1758) IN THERMAIKOS GULF**

*Lazaridou M.-I., Karidas Th. & G. Minos*

*Department of Aquaculture and Fisheries Technology, Alexander Technological  
Educational Institute Thessalonikis, P.O. Box: 157, N. Moudania 63200.*

*E-mail: [karidas@aqua.teithe.gr](mailto:karidas@aqua.teithe.gr), [gminos@aqua.teithe.gr](mailto:gminos@aqua.teithe.gr)*

In the present study the seasonal length-weight relationships and condition factor of common pandora *Pagellus erythrinus* (Linnaeus, 1758) in the Thermaikos gulf are examined. The samples were collected with gill nets with codend mesh size 36 to 52mm, in the northern part of the gulf (is prohibited the bottom trawl fishery), between December 2006 and December 2008. 413 individuals were examined, and the total length (*TL*) and total weight (*TW*) were received. The length and weight range varied from 99-253mm and 14-201g respectively. As for the length-weight relationship, species appeared isometric growth ( $P>0.05$ )  $b = 3.025 (\pm 0.044)$  only during summer and allometric (positive) growth in autumn  $b = 3.181 (\pm 0.07)$ , winter  $b = 3.113 (\pm 0.043)$  and spring  $b = 3.092 (\pm 0.026)$ . From the analysed data it results that the  $b$  values were higher than 3 all over the year. The fishing gear that was used is known to collect individuals of specified length from the fish population, since the smaller ones are more robust and the longer ones are more slender, tending to decrease the estimated  $b$  value. Excluding the fact of fishing gear bias (selective fishery of robust individuals) the specific species individuals in the particular area present high values of  $b$ . This fact perhaps is due to i) the abundance of food in the region, ii) the constant fishing pressure in the species in the studied area and iii) to the fact that this fish species does not perform long distance migrations. The last hypothesis is supported by the continuous appearance of the same lengths during all the seasons. These assumptions support the estimated Fulton's Condition Factor  $K_n=100*(W/L^3)$ , whose variance was constant, from 1.214 ( $\pm 0.011$ ) in autumn, to 1.276 ( $\pm 0.008$ ) in spring. Taking also into consideration the lack of long individuals in the sample (usually they present higher values of condition) we conclude that common pandora is very well adapted in the Thermaikos gulf.

**ΦΥΛΟΕΞΑΡΤΩΜΕΝΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΑΠΟ ΒΑΣΗ  
ΑΣΥΡΜΑΤΟΥ ΤΗΛΕΦΩΝΟΥ ΣΕ ΜΥΣ *Mus musculus***

**Λαμπροπούλου Α., Γεωργίου Γ., Φραγκοπούλου Α.Φ.,  
Κουσουλάκος Σ., Μαργαρίτης Α.Χ.**

Εργαστήριο Βιοφυσικής Ακτινοβολιών, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου &  
Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη 15784,  
Αθήνα.

E-mail: [madofrag@biol.uoa.gr](mailto:madofrag@biol.uoa.gr), [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της επίδρασης της μη ιονίζουσας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, που εκπέμπεται από βάση ασύρματου τηλεφώνου (8h/day), σε μύς στελέχους Balb/c. Πραγματοποιήθηκαν δοκιμασίες αναγνώρισης αντικειμένων διάρκειας 4 ημερών: 1<sup>η</sup>-2<sup>η</sup> ημέρα, εξοικείωση στην πειραματική διάταξη, 3<sup>η</sup> μέρα, εξερεύνηση δύο όμοιων αντικειμένων (διαδικασίες διάρκειας 5min για κάθε μυ), 4<sup>η</sup> μέρα, αναγνώριση νέου αντικειμένου (New) παρουσία οικείου (Familiar), διάρκειας 10min. Χρησιμοποιήθηκαν πληθυσμοί ακτινοβολημένων και μη ακτινοβολημένων θηλυκών μυών, καθώς και αρσενικών ακτινοβολημένων μυών της ίδιας ηλικίας και διατηρητέων στις ίδιες σταθερές συνθήκες διαβίωσης και διατροφής. Η ακτινοβολήση διήρκεσε 7 μήνες και 25 μέρες (συμπεριλαμβανομένων και των 21 ημερών κύησης). Τα αποτελέσματά βασίστηκαν στο δείκτη αναγνώρισης  $RI = (N-F/N+F)$  και δείκτη προτίμησης  $PI = (N/F+N)$ , που δείχνουν το χρόνο εξερεύνησης του νέου αντικειμένου σε σχέση με το συνολικό χρόνο εξερεύνησης νέου και οικείου. Οι αρσενικοί και θηλυκοί μύες-μάρτυρες είχαν θετικό RI και δείκτη προτίμησης μεγαλύτερο από 0,5. Οι θηλυκοί ακτινοβολημένοι μύες είχαν αρνητικό RI και δείκτη προτίμησης μικρότερο του 0,5 (κατά πλειοψηφία). Συμπερασματικά, στους θηλυκούς μύες φαίνεται να υπάρχει επίδραση ακτινοβολίας στη μη χωρική μνήμη, παρά τη θετική επίδραση των οιστρογόνων στη διατήρηση της βραχυπρόθεσμης μνήμης. Σε εξέλιξη βρίσκεται η διερεύνηση σε ιστολογικό επίπεδο της επίδρασης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας από βάση ασύρματου τηλεφώνου στις ανωτέρω συνθήκες.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς την Ερευνητική Ομάδα του Καθηγητή Α.Χ. Μαργαρίτη.

**SEX-RELATED EFFECT OF IRRADIATION FROM THE BASE OF A  
WIRELESS PHONE IN MICE *Mus musculus***

*Labropoulou A, Georgiou G, Fragopoulou A.F., Koussoulakos S, Margaritis L.H.*

*Radiation Biophysics Lab, Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology,  
University of Athens, Panepistimiopolis 15784, Athens.*

*E-mail: [madofrag@biol.uoa.gr](mailto:madofrag@biol.uoa.gr) , [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)*

The aim of this study is to investigate the effect of non-ionizing electromagnetic irradiation emitted from a wireless phone (8h/day), in mice strain Balb/c. The duration of the object recognition tasks was 4 days each. 1<sup>st</sup>-2<sup>nd</sup> day: habituation in an apparatus, 3<sup>rd</sup> day: exploration of two identical objects (lasting 5min for each mouse), 4<sup>th</sup> day: recognition of a New object in the presence of a Familiar object, duration 10min. The populations used in the experiments were irradiated and non-irradiated female mice and irradiated male mice of matching age. The animals were housed under standard conditions of living and nutrition. The irradiation lasted 7 months and 25 days (including 21 days-foetal stage). The results were based on the recognition index  $RI = (N-F/N+F)$  and preference index  $PI = (N/F+N)$ , which express the time spent exploring the new object in relation to the total time of exploration to both objects. The male and female vehicle mice presented a positive RI and PI greater than 0.5. The female irradiated mice presented a negative RI and PI lower than 0.5 (in their majority). In conclusion, radiation affects the non-spatial memory of female mice, despite the positive effect of estrogens in maintaining short-term memory (non-spatial memory). The effect of electromagnetic irradiation, from the base of a wireless phone, is also being investigated on a histological level.

*This study was financed by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to the Research Group of Professor L.H. Margaritis*

**ΕΜΠΛΟΚΗ ΤΟΥ NF-κΒ ΣΤΗΝ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΚΑΡΔΙΑΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ Η9c2  
ΚΑΤΩ ΑΠΟ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΥΠΕΡΩΣΜΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ**

*Λατανιώτης Λ., Αγγελή Ι.Κ., Γαϊτανάκη Αικ. και Ι. Μπέης.*

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

Ο NF-κΒ συνιστά πρωτεϊνικό σύμπλοκο που λειτουργεί ως μεταγραφικός παράγοντας και συμμετέχει στην προσαρμογή των κυττάρων σε στρεσογόνες καταστάσεις, στην ανοσία, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την απόπτωση. Έχει βρεθεί ότι ενεργοποιείται άμεσα κατά την έκθεση των κυττάρων σε επιβλαβή ερεθίσματα επάγοντας αντίστοιχες μεταβολές στη γονιδιακή έκφραση. Ειδικότερα στα καρδιακά κύτταρα, η διατήρηση της ωσμωτικής ισορροπίας είναι πρωτεύουσας σημασίας ώστε να διασφαλίζεται η απρόσκοπτη λειτουργία του μυοκαρδίου. Γι αυτό το λόγο, στην παρούσα εργασία, μελετήθηκε αρχικά το χρονικό πρότυπο φωσφορυλίωσης του NF-κΒ σε συνθήκες υπερωσμωτικού στρες που προκλήθηκαν με την επίδραση διαλύματος σορβιτόλης 0,25M και 0,5M σε καρδιακούς μυοβλάστες Η9c2. Συγκεκριμένα, με ανοσοδοκιμασία κατά Western, παρατηρήθηκε μέγιστη φωσφορυλίωση του NF-κΒ στο κατάλοιπο σερίνης 536, στα 30 λεπτά επίδρασης με 0,25M σορβιτόλης κατά 6,7-φορές περίπου, σε σχέση με το μάρτυρα. Τα επίπεδα φωσφορυλίωσης παρέμειναν σε υψηλές τιμές σε σχέση με το μάρτυρα, για τουλάχιστον 2 ώρες (6,1-φορές). Παρόμοιο πρότυπο προσδιορίστηκε και μετά από επίδραση 0,5M σορβιτόλης. Ακολούθως, μελετήθηκε και το δοσοεξαρτώμενο πρότυπο φωσφορυλίωσης του NF-κΒ. Τα αποτελέσματα έδειξαν μεγιστοποίηση της επαγωγής φωσφορυλίωσης του μεταγραφικού παράγοντα ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις σορβιτόλης (0,05M). Σε επόμενα πειράματα μελετήθηκε επίσης η επίδραση ταυρίνης, που ανιχνεύεται σε υψηλές συγκεντρώσεις στον καρδιακό μυ, καθώς και της βιταμίνης Ε στις παραπάνω αποκρίσεις.

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

## **NF- $\kappa$ B INVOLVEMENT IN H9C2 CARDIAC CELLS RESPONSE UNDER HYPEROSMOTIC STRESS CONDITIONS**

*Lataniotis L., Aggeli I.K., Gaitanaki C., and I. Beis*

*Department of Animal & Human Physiology, School of Biology, University of Athens,  
Panepistimiopolis, 157 84 Athens*

NF- $\kappa$ B is a protein complex that functions as a transcription factor and plays a key role in adaptation of cells to stressful conditions, the immune response, cellular proliferation and to apoptosis. NF- $\kappa$ B has been observed to be immediately activated after exposure of cells to harmful stimuli causing respective rapid modulations to gene expression. Particularly in cardiac myocytes, the preservation of osmotic balance is of high importance in order to maintain proper function of the myocardium. Due to the above, in the present study, we initially investigated the time-dependent pattern of NF- $\kappa$ B phosphorylation under hyperosmotic stress conditions by treatment of H9c2 cardiac myoblasts with 0,25M and 0,5M sorbitol. In particular, Western immunoblot analysis revealed maximum phosphorylation of NF- $\kappa$ B at Ser 536, after 30 min of treatment with 0,25M sorbitol (induction by approximately: 6,7-fold, relative to control). High values of NF- $\kappa$ B phosphorylation levels were sustained for at least 2 h (6,1-fold, relative to control). A similar profile was obtained after treatment with 0,5M sorbitol. Subsequently, the dose-dependent profile of NF- $\kappa$ B phosphorylation was studied. According to the results, maximal phosphorylation was attained even after treatment with so low concentrations of sorbitol as 0,05M. In additional experiments, the effect of taurine, which is detected in high concentrations in the heart, and of vitamin E in the aforementioned responses, was assessed.

*This work was funded by grants from the Special Research Account.*

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ ΚΑΡΔΙΑΚΩΝ ΜΥΟΚΥΤΤΑΡΩΝ H9C2  
ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΙΣΧΑΙΜΙΑΣ / ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗΣ ΚΑΘΩΣ ΚΑΙ  
ΤΩΝ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ ΠΟΥ ΕΜΠΛΕΚΟΝΤΑΙ ΣΕ  
ΑΥΤΗΝ

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

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

Τα καρδιακά κύτταρα εκτίθενται σε πληθώρα στρεσογόνων ερεθισμάτων τα οποία δυσχεραίνουν με πολλαπλούς τρόπους τη λειτουργία τους, με συχνότερη την έκθεσή τους σε συνθήκες ισχαιμίας. Η διερεύνηση και διαλεύκανση της επαγόμενης από την ισχαιμία (ΙΣΧ) και επαναιμάτωση (ΕΠ) απόκρισης των καρδιακών μυοκυττάρων αλλά και των ρυθμιστικών της μηχανισμών έχει θεμελιώδη σημασία. Στην παρούσα εργασία, μελετήθηκε αρχικά το χρονικό πρότυπο της απόκρισης των καρδιακών μυοβλαστών H9c2 στην επίδραση ΙΣΧ (μέσω έκθεσης σε κατάλληλο διάλυμα) και ΙΣΧ/ΕΠ. Για το σκοπό αυτό, προσδιορίστηκε η βιωσιμότητα των κυττάρων με τη μέθοδο χρώσης trypan blue (χρώση νεκρών κυττάρων) και με τη μέθοδο του ΜΤΤ (μέτρηση ζωντανών κυττάρων) μετά από επίδραση ΙΣΧ και ΙΣΧ/ΕΠ. Ειδικότερα, η βιωσιμότητα των κυττάρων κατά την επίδραση παρατεταμένης ισχαιμίας μειώθηκε στο 58% (100% στο μάρτυρα) στις 2 ώρες, ενώ στις 4 ώρες μειώθηκε περαιτέρω στο  $44,2 \pm 2,01\%$ . Αναφορικά με την επίδραση ΙΣΧ/ΕΠ, παρατηρήθηκε σταδιακή ανάκαμψη των κυττάρων με τα ποσοστά βιωσιμότητας να κυμαίνονται από  $53,7 \pm 8,4\%$  στις 4 ώρες ΙΣΧ/15 λεπτά ΕΠ, σε  $60,8 \pm 9,5\%$  στις 4 ώρες ΙΣΧ/30 λεπτά ΕΠ και σε  $79,3 \pm 5,9\%$  στις 4 ώρες ΙΣΧ/2 ώρες ΕΠ. Ακολούθως, έγινε προσπάθεια αποκωδικοποίησης και πιστοποίησης των μονοπατιών σηματοδότησης που κινητοποιούνται στις παραπάνω αποκρίσεις. Σε αυτό το πλαίσιο, διερευνήθηκε πιθανή εμπλοκή μελών της υπεροικογένειας των ενεργοποιούμενων από μιτογόνα πρωτεϊνικών κινασών (MAPKs) καθώς και της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC). Περαιτέρω μελέτες είναι αναγκαίο να διεξαχθούν, ώστε να αποσαφηνιστούν πλήρως οι εμπλεκόμενοι στις παρατηρούμενες αποκρίσεις μοριακοί μηχανισμοί μεταγωγής σημάτων, έτσι ώστε να διασφαλιστεί η κυτταρική επιβίωση.

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



**STUDY OF H9C2 CARDIAC MYOCYTES RESPONSE DURING SIMULATED  
ISCHEMIA / REPERFUSION AND OF THE SIGNALING MECHANISMS  
INVOLVED**

*Leandrou M., Aggeli I.K., Gaitanaki C., and I. Beis*

*Department of Animal & Human Physiology, School of Biology, University of  
Athens, Panepistimioupolis, 157 84 Athens*

Cardiac myocytes are exposed to a plethora of stress stimuli that lead to the deterioration of their function, with ischemia being one of the most usual. Investigating and clarifying cardiac myocytes' response to ischemia (I) and reperfusion (R), as well as the regulatory mechanisms involved are of the outmost importance. In this study, the time course of H9c2 cardiac myoblasts response to me (by treatment with a proper buffer) and me /R was initially examined. To this end, the myocytes' viability after exposure to I and I/R was determined with the trypan blue method (dead cells are stained blue) and the MTT method (live cells are assessed). In particular, the myocytes' viability during sustained ischemia was reduced to 58%(100% in control) in 2h, while in 4h it was reduced further to  $44,2 \pm 2,01\%$ . With regard to I/R effect, a progressive recovery of myocytes was observed with viability values ranging from  $53,7 \pm 8,4\%$  after 4h I/15min R, to  $60,8 \pm 9,5\%$  after 4h I / 30min R and to  $79,3 \pm 5,9\%$  after 4h I /2h R. Subsequently an effort was made to assess and analyze the signalling pathways involved in the above responses. Thus, the possible implication of members of the Mitogen-Activated Protein Kinases (MAPKs) superfamily as well as of Protein Kinase C (PKC) was investigated. Evidently, further studies are required so as to completely clarify the molecular signal transduction mechanisms triggered under the observed responses, ensuring cellular survival.

*This work was funded by grants from the Special Research Account.*

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ ΟΞΥΓΟΝΟΥ ΣΤΗ ΔΙΕΞΑΓΩΓΗ ΤΗΣ  
ΚΥΤΟΚΙΝΗΣΗΣ ΤΩΝ ΑΝΩΤΕΡΩΝ ΦΥΤΩΝ****Λιβανός Π.<sup>1</sup>, Quader H.<sup>2</sup>, Γαλάτης Β.<sup>1</sup>, Αποστολάκος Π.<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, 15781, Αθήνα<sup>2</sup>Biocenter Klein Flottbek, University of Hamburg

Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (ROS), δεν έχουν μόνο τοξική δράση, αλλά λειτουργούν και ως μόρια που συμμετέχουν στη μεταγωγή σήματος, ρυθμίζοντας πληθώρα βιολογικών διεργασιών (Mittler και συν. 2004, *TRENDS Plant Sci.* 9:1360-1385), κυρίως μέσω της ρύθμισης της ομοιόστασης του κυτοπλασματικού Ca<sup>2+</sup> (Foreman και συν. 2003, *Nature* 422: 442-446). Στόχος της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση της πιθανής συμμετοχής των ROS στους μηχανισμούς, οι οποίοι ελέγχουν την κυτοκίνηση των ανωτέρων φυτών. Για τον σκοπό αυτό μελετήθηκε μετά από ανοσοσήμανση σωληνίνης και καλλόξης η οργάνωση της κυτοκίνητικής συσκευής σε κύτταρα του ακρόρριζου του φυτού *Triticum turgidum* επηρεασμένα με: (α) n-acetyl cystein, που απενεργοποιεί τις ROS, (β) diphenylene iodonium, η οποία αναστέλλει την παραγωγή των ROS και (γ) menadione που επάγει την παραγωγή ROS). Διαπιστώθηκε σε όλες τις περιπτώσεις ότι τα επηρεασμένα ακρόρριζα εμφανίζουν σημαντικές διαταραχές στην πορεία της κυτοκίνησης, που εκδηλώνονται με διατάραξη της οργάνωσης και ανάρθρωση της επέκτασης του συστήματος φραγμοπλάστη/κυτταρικής πλάκας προς την περιφέρεια του κυττάρου. Τα φαινόμενα αυτά οδηγούν στη δημιουργία διπύρηνων κυττάρων. Τα δεδομένα υποστηρίζουν ότι για τη διεξαγωγή της κυτοκίνησης είναι απαραίτητος ο έλεγχος των επιπέδων των ROS, καθώς τόσο η υπερπαραγωγή τους όσο και η αναστολή της παραγωγής τους διαταράσσουν την πορεία της κυτοκίνησης. Οι ROS εμπλέκονται στο μηχανισμό της κυτοκίνησης συμμετέχοντας πιθανώς στη ρύθμιση της ομοιόστασης των ιόντων ασβεστίου στα διαιρούμενα κύτταρα.

Η παρούσα εργασία ενισχύθηκε οικονομικά από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων και Έρευνας του ΕΚΠΑ (πρόγραμμα Καποδίστριας).

**POSSIBLE INVOLVEMENT OF REACTIVE OXYGEN SPECIES SIGNALING  
IN PLANT CYTOKINESIS**

*Livanos P.<sup>1</sup>, Quader H.<sup>2</sup>, Galatis B.<sup>1</sup>, Apostolakos P.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, 15781, Athens*

<sup>2</sup>*Biocenter Klein Flottbek, University of Hamburg*

Reactive oxygen species (ROS), despite their toxic effect, control many different biological processes (Mittler et al., 2004, *TRENDS Plant Sci.* 9:1360-1385). ROS regulate plant development particularly through the control of cytoplasmic calcium ion (Ca<sup>2+</sup>) homeostasis (Foreman et al. 2003, *Nature* 422: 442-446). The present study attempts to investigate the possible involvement of ROS in plant cytokinesis. The cytokinetic apparatus organization was examined after tubulin and callose immunolocalization in *Triticum turgidum* root tip cells treated with the following substances: (a) n-acetyl cystein, a ROS scavenging agent, (b) diphenylene iodonium that inhibits ROS production and (c) menadione that induces ROS production. These treatments disturbed seriously the cytokinetic process: In all instances these substances interfere with microtubule phragmoplast assembly and expansion towards the cell cortex. In many affected cytokinetic cells the cell plates were absent or highly disturbed. As a result binucleate cells were produced. The above data allow the hypothesis that ROS levels should be tightly regulated in cytokinetic cells. Their function is probably related to ROS involvement in the regulation of Ca<sup>2+</sup> homeostasis in plants.

*This work was financed by grants from the University of Athens (Project "Kapodistrias")*

**ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ: Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΗΣ *Podarcis cretensis***

Λουκά Π.<sup>1</sup> Σίμου Χ.<sup>1</sup>, Λυμπεράκης Π.<sup>2</sup>, Παφίλης Π.<sup>3</sup>, Βαλάκος Ε.Δ.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσσια, 157-84, Αθήνα <sup>2</sup>Μουσείο Φυσικής Ιστορίας Κρήτης, Πανεπιστήμιο Κρήτης, <sup>3</sup>School of Natural Resources and environment, Dana Building, 430 East University, U of M, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA

Η έκκριση γλυκοκοστεροειδών (GCs) επιτρέπει στους οργανισμούς να εξασφαλίσουν την απαραίτητη ενέργεια σε συνθήκες περιβαλλοντικού στρες, μέσω της ρύθμισης του μεταβολισμού τους. Η αύξηση του μεταβολισμού (π.χ κατάβολισμός πρωτεϊνών και λιπόλυση) απουσία αντισταθμιστικών μηχανισμών θα πρέπει να μεταφραστεί ως αύξηση του ολικού μεταβολισμού και επομένως αύξηση των ενεργειακών αναγκών του. Η κύρια ορμόνη που εκκρίνεται σε συνθήκες στρες, είναι η κορτικοστερόνη των επινεφριδίων. Με την εξωγενή χορήγηση κορτικοστερόνης είναι δυνατό να προκαλέσουμε τεχνητό στρες στα ζώα και να παρακολουθήσουμε τις μεταβολές διαφόρων φυσιολογικών μηχανισμών ως απόκριση σε αυτό. Στην εργασία αυτή εξετάσαμε την επίδραση του στρες, σε σχέση με τα επίπεδα της χορηγούμενης κορτικοστερόνης, καθώς και την επίδραση του συνωστισμού, στους αντιθρεπτικούς μηχανισμούς και τις συνιστώσες αυτών, σε σαύρες του είδους *Podarcis cretensis* της οικογένειας Lacertidae. Το είδος αυτό εντοπίζεται μόνο στη Δυτική Κρήτη (από τον Ψηλορείτη και δυτικότερα), καθώς και σε όλες τις βραχονησίδες γύρω από το νησί, ενώ απουσιάζει από την Ανατολική Κρήτη. Συγκεκριμένα εξετάσαμε την επίδραση της χορήγησης διαφόρων επιπέδων κορτικοστερόνης (1,5 mg και 3 mg) στον ρυθμό αναγέννησης της ουράς, την περιεκτικότητά της σε πρωτεΐνες και την πεπτική αποδοτικότητα (πρωτεϊνών και λιπιδίων). Από την μελέτη μας φαίνεται ότι αυξανόμενου του στρες έχουμε αφενός μείωση του ρυθμού αναγέννησης της ουράς και αφετέρου μείωση στην συγκέντρωση πρωτεϊνών, καθώς και στην πεπτική αποδοτικότητα των λιπιδίων και των πρωτεϊνών. Φαίνεται δηλαδή ότι μεγαλύτερη συγκέντρωση κορτικοστερόνης επηρεάζει πιο έντονα τις φυσιολογικές διεργασίες.

Μέρος του έργου χρηματοδοτείται από το πρόγραμμα ΠΕΝΕΔ03 ΕΚΠΑ.

**STRESS AND PHYSIOLOGICAL MECHANISMS: THE CASE OF *Podarcis  
cretensis***

**Louka P.<sup>1</sup> Simou Ch.<sup>1</sup>, LyMBERAKIS P.<sup>2</sup>, Pafilis P.<sup>3</sup>, Valakos E.D.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Section of Animal and human Physiology, Department of Biology, UOA, Ilissia, 157-84,  
Athens, Greece <sup>2</sup>Natural History Museum of Crete, University of Crete

<sup>3</sup>School of Natural Resources and environment, Dana Building, 430 East University, U of  
M, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA

Release of glucocorticoids (GCs) enables organisms to meet energy requirements during stressful situations by regulating intermediary metabolism. In the absence of compensatory mechanisms, increased metabolic activity (e.g., protein catabolism and lipolysis) should translate to increases in whole animal metabolism, and therefore energy expenditures, by organisms. Corticosterone is the primary glucocorticoid associated with stress. Exogenous corticosterone treatment induces stress in animals. Therefore we are able to observe the physiological mechanisms in response to stress. Here we evaluate the effect of stress in relation to the different levels of corticosterone treatment and high density population in the antipredator mechanisms and their components in the species *Podarcis cretensis*. *Podarcis cretensis* is found in west Crete (western than Psilorete), in all islets around the island and it is absent in East Crete. In particular we examined the effect of different corticosterone levels (1,5 mg and 3 mg) in tail regeneration, protein content and digestive efficiency of protein and lipids. Our results indicate that tail regeneration, protein content and digestive efficiency are reduced in response to stress. In conclusion it is shown that the greater corticosterone level the greater affects physiological procedures.

*Part of the project is founded by the program PENED03 NKUA.*

**ΕΛΕΓΧΟΣ ΜΕΤΑΛΛΑΞΙΓΟΝΟΥ ΚΑΙ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ  
ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΩΝ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ ΤΩΝ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΦΥΤΩΝ**

**Μαδεμτζόγλου Δ.<sup>1</sup>, Ακμούτσου Π.<sup>1</sup>, Κουνατίδης Η.<sup>1</sup>, Φραντζιός Γ.<sup>1</sup>, Βώκου Δ.<sup>2</sup>  
και Π. Μαυραγάνη-Τσιπίδου <sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, <sup>2</sup>Τομέας Οικολογίας,  
Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54124  
Θεσσαλονίκη

Στο πλαίσιο διερεύνησης της τοξικότητας χημικών ουσιών ευρείας χρήσης, στην παρούσα μελέτη γίνεται έλεγχος της ανασυνδυαστικής και μεταλ-λαξιγόνου δράσης έξι συστατικών των αιθέριων ελαίων των αρωματικών φυτών. Συγκεκριμένα, ελέγχθηκαν η αλκοόλη (±)-λιναλοόλη, οι κετόνες (-)-φεγγχόνη και οι ισομερείς R-(-)-καρβόνη και S-(+)-καρβόνη, καθώς και οι υδρογονάνθρακες S-(-)-λιμονένιο και α-φελλανδρένιο. Οι ουσίες αυτές αποτελούν συνήθεις δευτερογενείς μεταβολίτες των αρωματικών φυτών και χρησιμοποιούνται στην αρωματοποιία, στην φαρμακοβιομηχανία, στην χημεία τροφίμων κ.λ.π. Εφαρμόστηκε η δοκιμή SMART (Somatic Mutation And Recombination Test), η οποία είναι μια ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος που προσδιορίζει όχι μόνο την μεταλλαξιγόνο αλλά και την ανασυνδυαστική δράση των υπό μελέτη ουσιών. Ως πειραματόζωο χρησιμοποιείται το κοσμοπολίτικο είδος *Drosophila melanogaster*, ένας από τους οργανισμούς-μοντέλα για *in vivo* μελέτες τοξικότητας. Για τον καθορισμό της ανασυν-δυαστικής και μεταλλαξιγόνου δράσης των παραπάνω συστατικών των αιθέριων ελαίων πραγματοποιήθηκαν χρόνιες επιδράσεις σε διάφορες συγκεντρώ-σεις (από 1,25μL / mL έως 10 μL / mL) σε προνύμφες *Drosophila* τριών ημερών. Γίνεται χρήση δύο γενετικών δεικτών (*mw* και *flr*) που κάνουν δυνατή την αναγνώριση μεταλλάξεων ή ανασυνδυασμών σε άτομα *trans*-ετερόζυγα ως προς τους δυο αυτούς δείκτες. Ο ποσοτικός προσδιορισμός της μεταλλαξιγόνου και ανασυνδυαστικής δράσης των υπό εξέταση συστατικών πραγματοποιείται με την καταγραφή του αριθμού των κηλίδων στα φτερά των εντόμων. Απλές κηλίδες είναι αποτέλεσμα μετάλλαξης σημείου, ελλείμματος και άλλων χρωμοσωματικών ανακατατάξεων ή/και μιτωτικού ανασυνδυασμού, ενώ η ύπαρξη δίδυμων κηλίδων είναι αποκλειστικά αποτέλεσμα μιτωτικού ανασυνδυασμού. Η σχετική συχνότητα αυτών των συμβάντων αντικατοπτρίζει την φύση της βλάβης που προκαλεί η υπό έλεγχο ουσία στο DNA και συνδέονται άμεσα με τη καρκινογένεση. Γίνεται σύγκριση του αριθμού των κηλίδων με τον αντίστοιχο θετικό και αρνητικό μάρτυρα και ανάλυση των δεδομένων.

## EVALUATION OF THE GENOTOXICITY POTENTIAL OF ESSENTIAL OIL CONSTITUENTS

*Mademtoglou D.<sup>1</sup>, Akmoutsou P.<sup>1</sup>, Kounatidis H.<sup>1</sup>, Franzios G.<sup>1</sup>,  
Vokou D.<sup>2</sup>, and P. Mavragani-Tsipidou <sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Department of Genetics, Development and Molecular Biology, <sup>2</sup>Department of Ecology,  
School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University, 541 24 Thessaloniki*

As part of a general project of screening the toxic and genotoxic activity of substances widely used, in the present study, six constituents of the essential oils of aromatic plants were used, namely ( $\pm$ )-linalool (alcohol), (-)-fenchone, R-(-)-carvone and S-(+)-carvone (ketones), and S-(-)-limonene and  $\alpha$ -phellandrene (hydrocarbons). Being constituents of the essential oils of aromatic plants, these compounds are secondary metabolites of aromatic plants widely used in a number of applications (in perfumery, medicine, food chemistry, etc). The evaluation of their genotoxic potential was assessed in the Somatic Mutation and Recombination test in *Drosophila*. The wing spot test is a well known eukaryotic *in vivo* assay, which detects not only the different kinds of mutational events but also allows the detection of mitotic recombination. The use of two genetic markers, multiple wing hair (*mwh*) and flare (*flr*) in the third chromosome, makes it possible to discern the formation of mutant clones on the wing blade. Single spots are produced by somatic point mutation, deletion, etc, and mitotic recombination, while twin spots are produced exclusively by mitotic recombination. Since both somatic mutation and mitotic recombination events are found to be associated with carcinogenesis, the statistical analysis of the mosaic spots gives the answer about the mutagenic and/or recombinogenic effects of the tested agents.

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ HCV CORE ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΚΑΙ  
ΤΟ ΧΛΩΡΟΠΛΑΣΤΗ ΤΟΥ ΚΑΠΝΟΥ**

**Μαδέσης Π.,<sup>1</sup> Νιάνου Ε.,<sup>2</sup> Καλαντίδης Κ.,<sup>3</sup> Γεωργοπούλου Ο.,<sup>4</sup> Μαυρομαρά Π.,<sup>4</sup>  
Τσαυτάρης Α.,<sup>1</sup> και Α. Day<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Ινστιτούτο Αγροβιοτεχνολογίας Θεσσαλονίκης, <sup>2</sup>Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο  
Θεσσαλονίκης, <sup>3</sup>ΙΤΕ-ΙΜΒΒ, Ηράκλειο Κρήτης, <sup>4</sup>Ινστιτούτο Παστέρ, Αθήνα,  
<sup>5</sup>University of Manchester.

Ο ιός της ηπατίτιδας C (HCV) είναι το κύριο παθογόνο της χρόνιας πάθησης στο συκώτι και επηρεάζει περίπου το 3% του παγκόσμιου πληθυσμού. Μέχρι σήμερα δεν υπάρχει εμβόλιο ενάντια στον ιό. Το γονίδιο *core* είναι η ποιο συντηρημένη περιοχή του γονιδιώματος του ιού και έχει δειχθεί ότι είναι αντιγονικό. Δημιουργήσαμε γενετικά τροποποιημένα φυτά καπνού τα οποία εκφράζουν α) το άγριου τύπου *core* γονίδιο στον πυρήνα β) φυτά καπνού τα οποία εκφράζουν ένα τροποποιημένο μικρότερο συνθετικό *core* γονίδιο στους χλωροπλάστες. Η πρωτεΐνη που παράγεται και στις δυο περιπτώσεις είναι αντιγονική και αναγνωρίζει τον ιό στο ορό του αίματος ασθενών με ηπατίτιδα C. Η πρωτεΐνη εκφράζεται σε ικανοποιητικά επίπεδα για την ανάπτυξη μιας διαγνωστικής μεθόδου και δίνει ελπίδες για την δημιουργία ενός τροφοεμβολίου.



**COMPARATIVE EXPRESSION OF HCV CORE GENE IN NUCLEUS AND  
TOBACCO CHLOROPLASTS**

*Madesis P.<sup>1</sup>, Nianiou I.<sup>2</sup>, Kalantidis K.<sup>3</sup>, Georgopoulou U.<sup>4</sup>, Mavromara P.<sup>4</sup>,  
Tsaftaris A.<sup>1</sup>, and A. Day <sup>5</sup>*

*<sup>1</sup>Institute of Agrobiotechnology Thessaloniki, <sup>2</sup>Aristotelion University of Thessaloniki,  
<sup>3</sup>ITE-IMBB, Iraklio, Crete, <sup>4</sup>Paster Institute, Athens, <sup>5</sup>University of Manchester*

Hepatitis C virus (HCV) is a major cause of disease affecting ~3% of the world's population. Currently there is no commercial. The *core* gene is the most conserved sequence in the HCV genome. Plants provide a low-cost production platform to express the conserved HCV core antigen for screening infected human sera. We have generated transgenic and transplastomic tobacco plants expressing the HCV core gene. The core protein produced in both plants detected Anti-core antibodies in HCV-infected human sera.

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ RECA ΣΤΟΝ ΟΜΟΛΟΓΟ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΟ  
ΣΤΟ ΧΛΩΡΟΠΛΑΣΤΗ ΚΑΙ Η ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΣΤΗΝ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ  
ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ**

*Μαδέσης Π.<sup>1</sup>, Τσαντάρης Αθ.<sup>1</sup> και A. Day<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>Ινστιτούτο Αγροβιοτεχνολογίας, Θεσσαλονίκη, <sup>2</sup>University of Manchester*

Ο ομόλογος ανασυνδυασμός είναι μια από τις βασικές λειτουργίες όλων των οργανισμών και χάρις σε αυτή συνεχίζεται η ζωή στη γη. Αναγνωρίσαμε την πρωτεΐνη RecA στους χλωροπλάστες και δείξαμε ότι η πρωτεΐνη εμπλέκεται στη διαδικασία του ομόλογου ανασυνδυασμού και της επιδιόρθωσης του DNA στους χλωροπλάστες. Μέσω της διαδικασίας του ομόλογου ανασυνδυασμού επιτυγχάνουμε την γενετική τροποποίηση του χλωροπλαστικού γονιδιώματος. Η αναγνώριση των εμπλεκόμενων πρωτεϊνών θα βοηθήσει στην ανάπτυξη της τεχνικής σε νέα είδη καθώς επίσης και την παραγωγή πρωτεϊνών στους χλωροπλάστες σε πολύ υψηλά επίπεδα ικανά να μετατρέψει τα φυτά σε βιοαντιδραστήρες οι οποίοι θα παράγουν μεγάλες ποσότητες πολύτιμων προϊόντων όπως τα τροφοεμβόλια αξιοποιώντας τεχνολογίες ανασυνδυασμένου DNA και γενετικής τροποποίησης των χλωροπλαστών .

**THE ROLE OF RECA PROTEIN IN HOMOLOGOUS RECOMBINATION IN  
CHLOROPLASTS AND its IMPORTANCE IN CHLOROPLAST  
TRANSFORMATION**

*Madesis P.<sup>1</sup>, Tsaftaris A.<sup>1</sup>, and A. Day<sup>5</sup>*

*<sup>1</sup>Institute of Agrobiotechnology Thessaloniki, <sup>2</sup>University of Manchester*

Homologous recombination is an essential function of all organisms and it has been shown to exist in all living organisms. We have identified protein RecA as a key protein in recombination and repair in tobacco chloroplasts. Homologous recombination is also essential for chloroplast transformation and the identification of the players in the pathway would facilitate the development of the technology in new species. It would also help develop transplastomic plants that highly express the foreign protein in the plastids (yield of up to 45% TSB have been observed in transplastomic plants) towards the development of plants as bioreactors and the production of oral vaccines.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΑΠΟ ΓΕΝΝΗΤΡΙΑ  
ΣΥΧΝΟΤΗΤΩΝ ΚΙΝΗΤΗΣ ΤΗΛΕΦΩΝΙΑΣ 900MHz ΣΕ ΜΥΚΗΤΕΣΜακρή Π.<sup>1,2</sup>, Μαργαρίτης Λ.Χ.<sup>1</sup> και Ε. Καψανάκη-Γκότση<sup>2</sup><sup>1</sup>Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, <sup>2</sup>Τομέας Οικολογίας & Ταξινομικής,  
Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστημιούπολη, Ε.Κ.Π.Α Αθήνα 1578.E-mail: [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr), [ekapsan@biol.uoa.gr](mailto:ekapsan@biol.uoa.gr)

Έντονος προβληματισμός έχει προκληθεί τα τελευταία χρόνια στην ευρύτερη επιστημονική κοινότητα από τις ενδεχόμενες αρνητικές επιπτώσεις των ηλεκτρομαγνητικών πεδίων. Στο πλαίσιο αυτής της ανησυχίας καθώς και της προσπάθειας απάντησης μερικών έστω επιμέρους ερωτημάτων από αυτά που τίθενται καθημερινά κινούνται και τα πειράματα της ερευνητικής μας ομάδας. Παράλληλα με τα μέχρι τώρα πειράματα σε καλά μελετημένο πειραματικό υλικό όπως π.χ. μύγες του γένους *Drosophila* και θηλαστικά (ποντίκια) αποφασίσαμε να μελετήσουμε ένα άλλο βιολογικό υλικό, τους Μύκητες, οι οποίοι περιλαμβάνουν τους πιο ανθεκτικούς οργανισμούς. Έχουν την ικανότητα επιβίωσης αλλά και ανάπτυξης ακόμα και σε ακραίες συνθήκες και ως εκ τούτου έστω και μια μικρής κλίμακας αρνητική επίπτωση σ' αυτούς, πιθανόν να έχει επιπτώσεις και στους ανώτερους οργανισμούς. Η εργασία αυτή αποτελεί συνέχεια προηγούμενης μελέτης μας σε μύκητες με επίδραση ακτινοβολίας κινητού τηλεφώνου. Στην παρούσα μελέτη η ακτινοβολία των μυκήτων έγινε με γεννήτρια συχνότητας 900 MHz και έντασης 20 βολτ/μέτρο. Χρησιμοποιήθηκε ένα στέλεχος του γένους *Cladosporium* σε θρεπτικό υπόστρωμα Malt Agar και ακτινοβολήθηκε για διάστημα 10 συνεχόμενων ημερών και για διάρκεια έκθεσης 90 min /ημέρα. Ο μάρτυρας κρατήθηκε σε μεγάλη απόσταση από την διάταξη της ακτινοβολίας και μέσα σε κλωβό προστασίας. Οι αποικίες μελετήθηκαν κατά τη διάρκεια της ακτινοβολίας ως προς την ανάπτυξή τους και για 7 μέρες επιπλέον μελετήθηκε η μακρο- και μικρο-μορφολογία τους. Οι διαφορές που εντοπίστηκαν μεταξύ μάρτυρα και ακτινοβολημένου Μήκυτα αφορούν κυρίως στη μακρο-μορφολογία των αποικιών. Είναι σημαντικό ότι μειώνεται ο ρυθμός αύξησης των αποικιών που έχουν ακτινοβοληθεί, όπως εκτιμάται από τη διάμετρο των αποικιών και ότι μεταβάλλεται το χρώμα στην περιφέρεια των αποικιών και εμφανίζονται πτυχωσεις και κυκλικοί τομείς στην επιφάνειά τους.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς την Ερευνητική Ομάδα του Καθηγητή Λ.Χ. Μαργαρίτη.

## EFFECTS OF ELECTROMAGNETIC FIELDS FROM GENERATOR OF MOBILE PHONE FREQUENCY 900MHz ON FUNGI

Makri P.<sup>1,2</sup>, Margaritis L.H.<sup>1</sup>, and E. Kapsanaki - Gotsi <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Radiation Biophysics Lab, Department of Cell Biology and Biophysics, <sup>2</sup>Department of Ecology and Systematics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, 15784. E-mail: [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr), [ekapsan@biol.uoa.gr](mailto:ekapsan@biol.uoa.gr)

A high concern has been caused during the recent years in the scientific community for the potential negative effects of electromagnetic fields. This concern has offered a strong stimulus for our research group to investigate some certain questions from those posed daily. In addition to the previous experiments on well studied living material, for example flies of the genus *Drosophila*, as well as on mammals (mice) we decided to study the fungi, which include some of the most resistant organisms. The fungi have the ability of survival and growth even in extreme conditions and consequently even a small negative effect on them may indicate analogous effects on higher organisms. This work is the continuation of a previous study with effects of radiation of mobile telephone on fungi. In this study, the irradiation of fungi was carried out with a electromagnetic generator with a frequency of 900 MHz and 20 V/m intensity. A strain of the genus *Cladosporium* was used inoculated in petri dishes with the nutrient medium Malt Agar and it was irradiated for a period of 10 days consecutively, with duration of exposure 90 min /day. The control culture was maintained in a big distance from the area of irradiation and was protected within a protective cage. The colonies of the fungi were monitored during the period of irradiation and for 7 days afterwards and the pattern of their growth was recorded. At the end of the experiment the colonies were studied for their macro- and micro-morphology. It is important that a reduction in the growth rate was observed in the irradiated colonies in comparison to the control, as estimated by counting the diameter of the colonies. Also, a change of colour in the edge of the colonies was observed and some differences in the texture and appearance of their surface.

*This work has been supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to the Research Group of Professor L.H. Margaritis.*

**ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΗ ΔΙΑΣΥΝΔΕΣΗ ΤΗΣ FAK ΜΕ ΤΗΝ Elk-1-like  
ΚΑΙ ΤΗΝ ERK ΣΤΑ ΑΙΜΟΚΥΤΤΑΡΑ ΤΗΣ *C. Capitata***

**Μάμαλη Ε., Καποδίστρια Κ., Μαντζούτσου Β., Λαμπροπούλου Μ.,  
Μαρμάρας Β.Ι.**

*Εργαστήριο Βιολογίας - Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών*

Είναι γνωστό ότι τα σηματοδοτικά μόρια που συμμετέχουν σε ένα μονοπάτι μεταγωγής σήματος βρίσκονται συνήθως σε άμεση φυσική διασύνδεση. Πρόσφατα δείξαμε ότι τα μηνυματοφόρα μόρια FAK, Src, ERK και Elk-1, που ρυθμίζονται από μία β ιντεγκρίνη και συμμετέχουν στην κυτταροφαγία, έχουν τόσο λειτουργική όσο και φυσική διασύνδεση μεταξύ τους. Η παρούσα εργασία στοχεύει στην περαιτέρω μελέτη του μονοπατιού μεταγωγής σήματος κατά την κυτταροφαγία των βακτηρίων στα αιμοκύτταρα της μύγας της Μεσογείου. Αποδεικνύουμε, λοιπόν, την λειτουργική και φυσική διασύνδεση καθώς και τον συνεντοπισμό ολόκληρου του μορίου της FAK ή και θραυσμάτων αυτής με τις ERK και Elk-1-like πρωτεΐνες. Με ανοσοκατακρήμνιση διερευνήσαμε την φυσική διασύνδεση της FAK με τον Elk-1 ή p<sup>Ser383</sup>Elk-1, παρουσία ή απουσία *E. coli*, και δείξαμε ότι ή FAK συνκατακρημνίζεται τόσο με τον Elk-1 όσο με και τον p<sup>Ser383</sup>Elk-1. Ο συνεντοπισμός της FAK με τον p<sup>Ser383</sup>Elk-1 στην περιοχή του πυρήνα διαπιστώθηκε και με ανάλυση σε συνεστιακό μικροσκόπιο. Στη συνέχεια, προκειμένου να διευρυνθεί τυχόν διασύνδεση αμινο- ή καρβοξυτελικών θραυσμάτων της FAK με τα υπόλοιπα σηματοδοτικά μόρια του συστήματος μελέτης μας, μελετήσαμε τη διασύνδεση θραυσμάτων της FAK με την Elk-1-like πρωτεΐνη και δείξαμε ότι τα ανοσοϊζήματα των Elk-1-like ή p<sup>Ser383</sup>Elk-1-like πρωτεϊνών δεν αναγνωρίζονται από τα p<sup>Y397</sup>FAK και p<sup>Y925</sup>FAK αντισώματα. Στη συνέχεια, με ανοσοκατακρήμνιση δείξαμε τη διασύνδεση της FAK και p<sup>Y397</sup>FAK με την ERK. Ο συνεντοπισμός της FAK και της p<sup>Y397</sup>FAK με την ERK στο κυτταρόπλασμα διαπιστώθηκε και με ανάλυση σε συνεστιακό μικροσκόπιο. Ακολούθως, με ανοσοκατακρήμνιση διαπιστώσαμε ότι οι Elk-1-like και ERK πρωτεΐνες δεν βρίσκονται σε φυσική διασύνδεση μεταξύ τους, τόσο παρουσία όσο και απουσία *E. coli*, γεγονός που επαληθεύτηκε και με ανάλυση σε συνεστιακό μικροσκόπιο. Τα παραπάνω δεδομένα συνηγορούν στο λειτουργικό ρόλο της FAK ως πρωτεΐνη-σκαλωσιά, η οποία συσχετίζεται τόσο με την Elk-1-like όσο και με την ERK, αλλά τα δύο αυτά μόρια δεν συνδέονται άμεσα μεταξύ τους.

## FUNCTIONAL AND PHYSICAL ASSOCIATION OF FAK WITH ERK AND Elk-1-like PROTEINS IN MEDFLY HAEMOCYTES

*Mamali I., Kapodistria K., Mantzoutsou V., Lampropoulou M., Marmaras V.J.*

*Lab of Biology - Dept of Biology, University of Patras*

It is widely accepted that the signaling molecules participating in a pathway are usually in a direct physical association. Recently, in our system we demonstrated that FAK, Src, ERK, Elk-1 signalling molecules regulated by a  $\beta$  integrin and participating in phagocytosis, show both a functional and a physical association. This study aimed to clarify further the signal transduction pathway regulating the process of phagocytosis by primary haemocytes from the medfly *Ceratitis capitata*. In this report, we show the functional and physical association as well as the co-localization of full length FAK or FAK fragments, with ERK and Elk-1-like protein. With co-immunoprecipitation and Western blot analysis we explored the physical association of FAK with Elk-1 or p<sup>Ser383</sup>Elk-1, in the presence or absence of *E. coli*, and demonstrated that FAK is co-immunoprecipitated with Elk-1 or p<sup>Ser383</sup>Elk-1. Confocal analysis confirmed the co-localization of FAK with p<sup>Ser383</sup>Elk-1 mainly in the nucleus. To explore whether any physical association exists between N-terminal and C-terminal FAK fragments and the signaling molecules under consideration in our system, we analyzed the association of FAK fragments with Elk-1-like protein in medfly haemocytes and demonstrated that, Elk-1-like protein or p<sup>Ser383</sup>Elk-1-like protein immunoprecipitants are not recognized by both p<sup>Y397</sup>FAK and p<sup>Y925</sup>FAK antibodies. Furthermore, we demonstrated the association of FAK and p<sup>Y397</sup>FAK with ERK. Co-localization experiments demonstrated that FAK or p<sup>Y397</sup>FAK are co-localized with ERK or pERK in the cytoplasm. Consequently, we explored whether Elk-1-like-protein and ERK are in a direct physical association. Immunoprecipitation analysis demonstrated that ERK or pERK in the presence or in the absence of *E. coli* are not in direct association with Elk-1-like-protein. Confocal analysis confirmed that ERK and pERK are not associated with Elk-1-like-protein or pElk-1-like protein. The above data indicate that FAK acts as a scaffold molecule that associates with both Elk-1-like protein and ERK, however, these two molecules are bound to FAK on different regions and hence are associated indirectly.

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΣΤΑΣΙΜΩΝ  
ΥΔΑΤΙΝΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΤΗΣ ΛΕΚΑΝΗΣ ΑΠΟΡΡΟΗΣ ΤΟΥ ΠΟΤΑΜΟΥ  
ΛΟΥΡΟΥ-ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗΣ TROPHIC  
RANKING SCORES (TRS)

*Μανωλάκη Π. και Ε. Παπαστεργιάδου*

*Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών*

Τα υδρόβια μακρόφυτα αποτελούν μια από τις κατηγορίες των βιολογικών ποιοτικών στοιχείων –βιοδεικτών (Biological Quality Elements, BQEs) για την αξιολόγηση των υδάτινων σωμάτων της Οδηγίας Πλαίσιο για τα Νερά 2000/60. Οι βιοδείκτες είναι εύκολα μετρήσιμα στοιχεία του οικοσυστήματος, τα οποία χρησιμοποιούνται ως εργαλεία Διαχείρισης για να παρέχουν μακροπρόθεσμα οικολογική πληροφορία σχετικά με την κατάσταση του οικοσυστήματος. Στόχος της παρούσας εργασίας είναι η αξιολόγηση της οικολογικής ποιότητας σε τρία στάσιμα υδάτινα σώματα τα οποία εντοπίζονται στη λεκάνη απορροής του ποταμού Λούρου με τη χρήση των υδρόβιων μακροφύτων ως βιολογικά ποιοτικά στοιχεία. Ο ποταμός Λούρος βρίσκεται στο υδατικό διαμέρισμα της Ηπείρου στο οποίο εντοπίζονται σημαντικά υδάτινα οικοσυστήματα της Ελλάδας. Επιλέχθηκαν αντιπροσωπευτικοί σταθμοί δειγματοληψίας σε κάθε υδάτινο σώμα στους οποίους πραγματοποιήθηκε συλλογή δειγμάτων υδροβίων μακροφύτων και καταγραφή της αφθονίας τους με την κλίμακα DAFOR κατά τη διάρκεια των βλαστητικών περιόδων 2005-07. Επίσης κατά τη διάρκεια των δειγματοληψιών στο πεδίο, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις των φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού και συλλέχθηκαν επιφανειακά δείγματα νερού από κάθε σταθμό για προσδιορισμό των θρεπτικών αλάτων του αζώτου και του φωσφόρου, της αλκαλικότητας και της Chl-*a*. Για την αξιολόγηση των υδάτινων σωμάτων εφαρμόστηκε το σύστημα ταξινόμησης Trophic Ranking Scores (TRS) για τα υδρόβια μακρόφυτα το οποίο αναπτύχθηκε για την αξιολόγηση των στάσιμων υδάτων στην Μεγάλη Βρετανία (Palmer *et al.*, 1992). Στην εργασία συζητώνται επίσης η δυνατότητα επέκτασης του καταλόγου με είδη τα οποία είναι σημαντικά σε χώρες της Α. Μεσογείου, τα οποία απουσιάζουν ή δεν αποτελούν ένδειξη οικολογικής ποιότητας σε χώρες της κεντρικής Ευρώπης.



**ASSESSMENT OF THE ECOLOGICAL STATUS OF STANDING WATER  
BODIES WITHIN LOUROS RIVER BASIN IN WESTERN GREECE. -  
APPLICATION OF TROPHIC RANKING SCORE SYSTEM**

*Manolaki P., and E. Papastergiadou*

*Department of Biology, University of Patras*

The European Water Framework Directive (WFD) 2000/60 requires ecological status classification and monitoring of surface waters using biological indicators (Biological Quality Elements, BQEs). Aquatic macrophytes consists an important component of aquatic ecosystems and are used widely within the WFD to establish ecological quality. This study attempts to assess the ecological habitat quality of three standing water bodies within Louros river basin. Louros river is located in Epirus prefecture in western Greece. The Epirus Water District is one of the fourteen national water districts that comprise the country's administrative units for water resources management. Vegetation surveys have been carried out seasonally from 2005 to 2007. Aquatic macrophyte abundance and composition was estimated according a 5 point scale (DAFOR scale). Water quality parameters such as transparency, pH, conductivity and dissolved oxygen were measured in situ at each sampling site and water samples were collected for quantitative determination of nutrients of nitrogen and phosphorus, chlorophyll-a and alkalinity. For the ecological assessment of studied standing water bodies the Trophic Ranking Score (TRS) system was applied. A system of Trophic Ranking Scores (TRS) has been developed for the assessment of standing water bodies in Great Britain with aquatic macrophytes (Palmer *et al.*, 1992). Furthermore the addition of important plant species from east Mediterranean countries like Greece in the lists of the scoring plant species is discussed.

**ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΚΑΙ ΚΟΙΝΩΝΙΚΗ ΔΙΑΣΤΑΣΗ ΤΗΣ ΚΙΝΗΤΗΣ  
ΤΗΛΕΦΩΝΙΑΣ***Μαργαρίτης Λ.Χ.\**

*Εργαστήριο Βιοφυσικής Ακτινοβολιών, Τομέας Κυτταρικής Βιολογίας &  
Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη 15784  
Αθήνα. E-mail: [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)*

Μετά την ανακάλυψη του ηλεκτρονίου από τον Thomson, χαράχθηκε η μη αντιστρεπτή πορεία για την επινόηση διατάξεων ασύρματης μετάδοσης φωνής αρχικά, ειδήσεων στη συνέχεια, μουσικών, κρυπτογραφημένων κειμένων για πολεμικούς σκοπούς. Η μαγεία της τεχνολογίας αυτής ραγδαία επεκτάθηκε σε όλα τα μήκη και πλάτη της γης, από τις δορυφορικές μεταδόσεις μέχρι τις επίγειες ραδιοτηλεοπτικές εφαρμογές. Σταθμό στην ιστορία της επικοινωνίας αποτέλεσε η κατασκευή των πρώτων φορητών ασύρματων συσκευών που στη συνέχεια μετεξελίχθηκαν στις «μοτορόλες» για στρατιωτική και αστυνομική χρήση και πιο πρόσφατα στην τεχνολογία της κινητής τηλεφωνίας. Είναι ίσως η πρώτη φορά στην ιστορία της ανθρωπότητας που ένας μικρός πομπός, το κινητό τηλέφωνο, βρίσκεται στα χέρια των ανθρώπων κάθε ηλικίας σχεδόν για ολόκληρο το 24ωρο, χωρίς να είναι ακόμα απόλυτα γνωστοί οι κίνδυνοι που προκύπτουν από τη λειτουργία του. Είναι συνεπώς σημαντικό από βιολογικής πλευράς να αναζητηθούν οι όποιες επιπτώσεις από τη χρήση των κινητών τηλεφώνων, τόσο βραχυπρόθεσμα όσο και μακροπρόθεσμα. Αν και δεν είναι δυνατόν να γνωρίζουμε σήμερα το πραγματικό ηλεκτρομαγνητικό φάσμα που έφτανε στη γη κατά τη δημιουργία και εξέλιξη της ζωής από το διάστημα και από τον ήλιο, εν τούτοις είναι λογικό να υποθέσουμε ότι δε διέφερε σημαντικά. Προϊούσης της εξέλιξης των οργανισμών, δεν πιθανολογείται να συνέβαλαν στους μηχανισμούς άμυνας από εξωτερικούς παράγοντες άλλες κατηγορίες ακτινοβολιών και ιδιαίτερα οι τεχνητές αυτές ηλεκτρομαγνητικές ακτινοβολίες που αναπτύχθηκαν στις αρχές του 20ου αιώνα. Είναι κατά συνέπεια φανερό πως δεν έχουν αναπτυχθεί μηχανισμοί προστασίας και επιδιόρθωσης στα κύτταρα από τις μη ιονίζουσες αυτές ακτινοβολίες.

*Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς την Ερευνητική Ομάδα του Καθηγητή Λ.Χ. Μαργαρίτη.*

*(\*) προσκεκλημένος ομιλητής*

## SCIENTIFIC AND SOCIAL DIMENSION OF MOBILE TELEPHONY

*Margaritis L.H.\**

*Radiation Biophysics Lab, Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology,  
University of Athens, Panepistimiopolis 157 84, Athens. E-mail: [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)*

Following the discovery of the electron by Thomson on 1897, no one could imagine that it would be the initiation of a new era: The development of the so called wireless technology. No one could imagine that to-day there are 3,5 billion mobile phone users. It is the first time in human history that a small transceiver is a daily gadget hold by billions of people. Besides all controversial reports about the risks associated with mobile phone technology, including the mast antennas the industry is steadily growing and the impact to society is enormous. Children are accustomed to the use of the mobile phones regardless of some very serious scientific reports that pose a dilemma on the daily use of the phones by children. Our knowledge on the risks, albeit limited is nevertheless solid enough to deserve a serious consideration. The society, suffers at the same time from the so called "mobile phone syndrome" which refers to the situation that everybody is linked to the use of the mobile phone. The overall epidemiological and clinical as well as experimental data point towards a careful use of mobile phones and more strict "safety levels". So far several countries are following the "precautionary principle" and have started lowering the limits for the general public.. A number of alternative methods have been proposed by us in order to prevent brain exposure to the electromagnetic radiation. These include the patent of a "protective case" which reflects mobile phone radiation while talking with wireless blue tooth for maximum protection.

*This work has been supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to the Research Group of Professor L.H. Margaritis*

*(\*) invited speaker*

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΑΥΤΟΤΑΧΙΝ ΚΑΙ ΤΟΥ ΛΥΣΟΦΩΣΦΑΤΙΔΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΣΤΗ  
ΝΟΣΟ ALZHEIMER**

**Μαρούλη Ε.<sup>1,2</sup>, Φωτοπούλου Σ.<sup>1</sup>, Αϊδίνης Β.<sup>1</sup>, Ευθυμίου Σ.<sup>2</sup>**

*<sup>1</sup>Ινστιτούτο Ανοσολογίας, Ερευνητικό Κέντρο Βιοϊατρικών Επιστημών  
«Αλέξανδρος Φλέμινγκ» Βάρη, Ελλάδα, <sup>2</sup>Τομέας Φυσιολογίας Ζώων &  
Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 157 84 Πανεπιστημιούπολη,  
Ιλίσια, Ελλάδα*

Η Autotaxin είναι ένα εκκρινόμενο ένζυμο που έχει δράση λυσοφωσφολιπάσης D και καταλύει την παραγωγή του λυσοφωσφατιδικού οξέος (LPA) από τη λυσοφωσφατυδιλχολίνη (LPC). Η νόσος Alzheimer είναι μια νευροεκφυλι-στική ασθένεια που χαρακτηρίζεται από την παρουσία πλακών αμυλοειδούς, κύριο συστατικό των οποίων είναι το β-αμυλοειδές (Αβ), ένα πεπτίδιο που προέρχεται από την πρωτεΐνη APP. Η APP μεταβολίζεται από δύο μονοπάτια: το αμυλοειδογενές, υπεύθυνο για την παραγωγή του Αβ και το μη αμυλοειδογενές, το οποίο θεωρείται ότι έχει νευροτροφικό ρόλο. Έχει παρατηρηθεί ότι τα επίπεδα έκφρασης του γονιδίου της autotaxin είναι αυξημένα σε τομές εγκεφάλου ατόμων με Alzheimer σε σχέση με υγιή άτομα. Βασιζόμενοι σε αυτό, μελετήσαμε την έκφραση της autotaxin σε ποντίκια μοντέλα για τη νόσο Alzheimer διαγονιδιακά για την APP. Παρατηρήθηκε υπερέκφραση της autotaxin στα διαγονιδιακά μοντέλα για τη νόσο σε σύγκριση με φυσιολογικά ποντίκια ίδιας ηλικίας. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι οι πλάκες αμυλοειδούς σε αυτά τα ποντίκια περιβάλλονται από την autotaxin. Για να μελετήσουμε την επίδραση της παρουσίας ή της απουσίας της autotaxin στο σχηματισμό των πλακών αμυλοειδούς σε αυτό το διαγονιδιακό μοντέλο έγινε χρήση ποντικών στους οποίους έχει αφαιρεθεί το γονίδιο της autotaxin από όλο το σώμα σε συνδυασμό με ποντικούς που υπερεκφράζουν την Cre ρινοκινάση υπό τον έλεγχο ενός ειδικού υποκινητή που εκφράζεται από τα ολιγοδενδροκύτταρα. Έτσι, εξαλείψαμε την έκφραση της autotaxin ειδικά από αυτό τον τύπο κυττάρων. Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκαν ετερόζυγοι ποντικοί στους οποίους είχε αφαιρεθεί το ένα αλληλόμορφο γονίδιο είτε της autotaxin είτε του υποδοχέα 1 του LPA. Τέλος, από την *in vitro* μελέτη της επίδρασης του LPA σε κυτταρικές σειρές γλοιοβλαστώματος και νευροβλαστώματος διαπιστώθηκε ότι το LPA δεν έχει κάποια επίδραση στον πολλαπλασιασμό ή την προσκόλληση των κυττάρων αυτών, αλλά η παρουσία του αναδιοργανώνει τον κυτταροσκελετό της ακτίνης. Από τον έλεγχο της επίδρασης του LPA στο μεταβολισμό της πρωτεΐνης APP στις κυτταρικές αυτές σειρές προκύπτει ότι η παρουσία του LPA οδηγεί σε μια αύξηση των επιπέδων του εκκρινόμενου τμήματος της APP (sAPP $\alpha$ ), το οποίο παράγεται κατά το μη αμυλοειδογενές μονοπάτι μεταβολισμού της APP.

## THE ROLE OF AUTOTAXIN AND LYSOPHOSPHATIDIC ACID IN ALZHEIMER'S DISEASE

*Marouli E.<sup>1,2</sup>, Fotopoulou S.<sup>1</sup>, Aidinis V.<sup>1</sup>, Efthimiopoulos S.<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>Institute of Immunology, Biomedical Sciences Research Center "Alexander Fleming",  
16672, Vari, Greece, <sup>2</sup>Department Animal and Human Physiology, Faculty of Biology,  
University of Athens, 157 84 Panepistimiopolis, Ilisia, Greece.*

Autotaxin is a secreted enzyme with lysophospholipase D activity which catalyzes the production of lysophosphatidic acid (LPA) from lysophosphatidylcholine (LPC). Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease characterized by the presence of amyloid plaques, the main component of which is the amyloid beta peptide (A $\beta$ ), a peptide deriving from the APP protein. APP is metabolised by two different pathways: the amyloidogenic pathway, which leads to A $\beta$  production (A $\beta$  is believed to lead to neuron damage) and the non amyloidogenic pathway which is believed to be neurotrophic. It has been found that the expression level of the autotaxin gene was significantly greater in Alzheimer's Disease human cortices in comparison with non-Alzheimer's Disease cortices. Based on that we examined autotaxin expression in an amyloid pathology mouse model, transgenic for APP with Swedish and Indiana mutations. It was found that there is an overexpression of autotaxin in Alzheimer's Disease mice in comparison with control mice of the same age, especially at the hippocampus region of the brain. In addition, it was found that amyloid plaques in these mice are encircled by autotaxin. Furthermore, in order to identify which is the effect of autotaxin presence or absence on the amyloid plaque phenotype of these mice, we used complete knockout mice for autotaxin in combination with mice overexpressing the Cre recombinase under a special promoter expressed from oligodendrocytes and ablated autotaxin expression especially from this cell type. In addition we used heterozygous knockout mice for LPA receptor 1 and also heterozygous knockout mice for autotaxin, which produce half quantity of autotaxin in their body. Finally, we examined in vitro the effect of LPA in neuroglioma and neuroblastoma cell lines and in APP metabolism. Our results indicate that LPA does not have an effect on proliferation or adhesion of neuroglioma cells, but its presence reorganizes actin cytoskeleton. In addition, it was found that LPA presence results in an increase of the secreted fraction of APP (sAPP $\alpha$ ) which is produced by the non-amyloidogenic metabolic pathway of APP.

**ΦΥΛΟΓΕΩΓΡΑΦΙΑ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *PORCELLIO FLAVOMARGINATUS*  
(LUCAS, 1853) ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΟΥ ΑΙΓΑΙΟΥ****Μαρτιμιανάκης Σ., Κλώσσα-Κίλια Ε., Κίλιας Γ. και Σ. Σφενδουράκης**

Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Τμήμα Βιολογίας,  
Πανεπιστήμιο Πατρών, Ρίο Πατρών 26500, Ελλάδα,  
E-mail: [martimianakis@gmail.com](mailto:martimianakis@gmail.com)

Το είδος *Porcellio flavomarginatus* (Lucas, 1853) (Καρκινοειδή, Ισόποδα, Ονισκίδες) είναι ενδημικό της νότιας νησιωτικής Ελλάδας και απαντά σε τυπικά μεσογειακά οικοσυστήματα. Πιο συγκεκριμένα, ζει κυρίως σε φρυγανικά οικοσυστήματα και σε ξηρές περιοχές με απαραίτητη προϋπόθεση την παρουσία ασβεστολιθικών βράχων. Στην παρούσα μελέτη, έγινε μια προσπάθεια αποσαφήνισης της ποικιλομορφίας και των φυλογενετικών σχέσεων μεταξύ πληθυσμών του είδους και συσχετισμός τους με την παλαιογεωγραφία της περιοχής του Αιγαίου, με τη βοήθεια μοριακών δεικτών. Έγινε συλλογή δειγμάτων (3-6 άτομα) από πληθυσμούς 10 νησιών του Αιγαίου (Αμοργός, Άνδρος, Κάλυμνος, Κως, Κρήτη, Μύκονος, Νίσυρος, Σύρος, Τήνος, Εύβοια). Χρησιμοποιήσαμε δυο μιτοχονδριακούς και έναν πυρηνικό δείκτη. Αναλυτικότερα, έγινε πολλαπλασιασμός με τη μέθοδο της PCR γονιδιακών τμημάτων του 16S rDNA, της υπομονάδας I της κυτοχρωμικής οξειδάσης και του πυρηνικού 28S rDNA, και στη συνέχεια έγινε προσδιορισμός της αλληλουχίας τους. Κατόπιν κατασκευάστηκαν φυλογενετικά δέντρα με τρεις μεθόδους (Σύνδεσης Γειτόνων, Μέγιστης Φειδωλότητας και Μπεϊεσιανής Συμπερασματο-λογίας). Επίσης, υπολογίστηκαν οι γενετικές αποστάσεις μεταξύ των πληθυσμών. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τη φυλογενετική και τη γενετική ανάλυση συγκρίθηκαν με γνωστά παλαιογεωγραφικά δεδομένα της περιοχής του Αιγαίου.

**PHYLOGEOGRAPHY OF *PORCELLIO FLAVOMARGINATUS* (LUCAS, 1853)  
IN THE AEGEAN REGION**

*Martimianakis S., Klossa-Kilia E., Kiliadis G., and S. Sfenthourakis*

*Section of Genetics, Cell Biology and Development, Department of Biology, University of  
Patras, GR-26500 Patras, Greece, E-mail: [martimianakis@gmail.com](mailto:martimianakis@gmail.com)*

*Porcellio flavomarginatus* (Lukas, 1853) (Crustacea, Isopoda, Oniscidea) is an endemic species of southern insular Greece and is found in typical Mediterranean Type habitats on the Aegean islands, such as phrygana and bare rocks, strictly of limestone composition. In the present work we examine the genetic variation among populations of this species, using molecular markers, in an attempt to explore geographic variation patterns, possibly correlated with the palaeogeographic history of the region. In particular, we analyzed a portion of 16S rDNA and COI mitochondrial genes and a segment of 28S nuclear rDNA in 3-6 individuals from 10 populations collected on several Aegean islands (Amorgos, Andros, Kalymnos, Crete, Kos, Mykonos, Nisyros, Syros, Tinos and Evvoia). The genetic distances among these populations were calculated and then we proceeded in phylogenetic analyses using three algorithms (Neighbour Joining, Maximum Parsimony and Bayesian Inference). The resulting patterns of genetic diversity and phylogenetic relationships among population were evaluated in view of the known palaeogeography of the central and southern Aegean region.

**ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΖΩΑ ΜΕ ΕΛΛΕΙΨΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ ΔΕΣΜΙΝΗΣ ΩΣ  
ΜΟΝΤΕΛΑ ΤΡΑΥΜΑΤΙΣΜΟΥ/ΣΤΡΕΣ ΤΟΥ ΚΑΡΔΙΑΚΟΥ ΙΣΤΟΥ**

*Μαυροειδής Μ., PhD*

Ιδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών Ελλάδα, τηλ. 210 6597057,  
E-mail: [emauroeid@bioacademy.gr](mailto:emauroeid@bioacademy.gr)

Θα παρουσιαστούν αποτελέσματα από:

A) Πειραματόζωα με έλλειψη του γονιδίου της δεσμίνης ως μοντέλα τραυματισμού/στρες του μυοκαρδιοκυττάρου. Τι συμβαίνει μέσα στο μυοκαρδιοκύτταρο; Πιο ειδικά: α1) Πως μεταλλάξεις στο γονίδιο της δεσμίνης που έχουν βρεθεί σε ανθρώπους που πάσχουν από μυοπάθειες, διαταράσσουν τη λειτουργία των μυοκαρδιοκυττάρων; α2) Νέες λειτουργίες των ενδιάμεσων ινιδίων της δεσμίνης στη βιογένεση και/ή θέση των λυσοσωμάτων και άλλων μεμβρανικών οργανιδίων.

B) Πειραματόζωα με έλλειψη του γονιδίου της δεσμίνης ως μοντέλα τραυματισμού/στρες του καρδιακού ιστού: Πιο ειδικά: β1) Οξεία φλεγμονώδης αντίδραση και αναδόμηση του καρδιακού ιστού αυτών των πειραματόζωων. β2) Μπορεί η ρύθμιση της φλεγμονώδους αντίδρασης να έχει θετική επίπτωση στην παθολογία της καρδιάς; β3) Οι μελέτες σε αυτό το πειραματόζωο μπορούν να έχουν εφαρμογή σε αντίστοιχες παθολογίες στον άνθρωπο όπως οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, η στεφανιαία νόσο;

**References**

- a1) A missense mutation in desmin tail domain linked to human dilated cardiomyopathy promotes cleavage of the head domain and abolishes its Z-disc localization. Mavroidis M, Panagopoulou P, Kostavasili I, Weisleder N, Capetanaki Y. *FASEB J*. 2008 Sep;22(9):3318-27.
- a2) Proper perinuclear localization of the TRIM-like protein mysopryn requires its binding partner desmin. Kouloumenta A, Mavroidis M, Capetanaki Y. *J Biol Chem*. 2007 Nov 30;282(48):35211-21.
- b1) Mavroidis, Y. Capetanaki. Extensive induction of important mediators of fibrosis and dystrophic calcification in desmin-deficient cardiomyopathy. *Am J Pathol*. 2000 Mar;160(3): 943-52.
- b2) Mavroidis M, Psarras S, Doumanides G, Capetanaki Y. Massive complement activation in desmin deficient cardiomyopathy *J Mol Cell Cardiol*. 44 (4): 806-807 227 APR 2008.



## DESMIN DEFICIENT MICE AS A CARDIAC INJURY/STRESS MODEL

*Mavroidis M., PhD*

*Biomedical Research Foundation Academy of Athens, Greece. tel: 210 6597057,  
E-mail: [emavroeid@bioacademy.gr](mailto:emavroeid@bioacademy.gr)*

A) Desmin deficient mice as a cardiac cell injury/stress model.

What happens inside the cardiomyocytes?

More specifically: A1) How, desmin gene mutations found in humans suffering from myopathies interferes with cardiomyocyte function? A2) New potential functions of desmin intermediate filaments in lysosomes and membranous organelle biogenesis and/or positioning.

B) Desmin deficient mice as a cardiac tissue injury model:

B1) Acute inflammatory reaction in Desmin deficient mice cardiac tissue.

B2) Modulation of the inflammatory reaction can have beneficial effects in cardiac pathology?

B3) This information can be applied to human pathology?

### **References**

- A1) A missense mutation in desmin tail domain linked to human dilated cardiomyopathy promotes cleavage of the head domain and abolishes its Z-disc localization. Mavroidis M, Panagopoulou P, Kostavasili I, Weisleder N, Capetanaki Y. *FASEB J.* 2008 Sep;22(9):3318-27.
- A2) Proper perinuclear localization of the TRIM-like protein myospryn requires its binding partner desmin. Kouloumenta A, Mavroidis M, Capetanaki Y. *J Biol Chem.* 2007 Nov 30;282(48):35211-21.
- B1) Mavroidis, Y. Capetanaki. Extensive induction of important mediators of fibrosis and dystrophic calcification in desmin-deficient cardiomyopathy. *Am J Pathol.* 2000 Mar; 160(3): 943-52.
- B2) Mavroidis M, Psarras S, Doumanides G, Capetanaki Y. Massive complement activation in desmin deficient cardiomyopathy *J Mol Cell Cardiol.* 44 (4): 806-807 227 APR 2008

**ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΣΤΟΝ ΥΠΟΔΟΧΕΑ TLR4 ΣΕ ΜΗΝΙΓΓΟ-  
ΕΓΚΕΦΑΛΙΤΙΔΕΣ ΑΠΟ ΕΝΤΕΡΟΪΟΥΣ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ TAQMAN PCR**

*Μαυρούλη Μ., Παπαδοπούλου Σ., Σπανάκης Ν., Τσακρής Α., Ρούτσιας Ι.*

*Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Τμήμα Ιατρικής Σχολής, Πανεπιστήμιο Αθηνών*

Στο σύστημα της φυσικής ανοσίας, οι Toll-like υποδοχείς (TLRs) αναγνωρίζουν συντηρημένα μοριακά πρότυπα παθογόνων μικροοργανισμών, ενεργοποιώντας πρώιμα την ανοσολογική απόκριση. Πολυμορφισμοί ενός νουκλεοτιδίου (SNPs) έχουν ταυτοποιηθεί πρόσφατα στους TLRs, απαντώνται στο 1-10% του γενικού πληθυσμού και επηρεάζουν την ανοσολογική απάντηση του οργανισμού έναντι των παθογόνων. Με δεδομένο ότι ο TLR4 ενέχεται στην ανίχνευση του πολλαπλασιασμού των εντεροϊών, εξετάσαμε αν οι πολυμορφισμοί Asp299Gly και Thr399Ile στον TLR4 σχετίζονται με την εμφάνιση μηνιγγοεγκεφαλίτιδας από εντεροϊούς. Αναπτύχθηκε TaqMan PCR με χρήση ειδικών για κάθε αλληλόμορφο MGB-ανιχνευτών για να εντοπιστούν οι πολυμορφισμοί Asp299Gly και Thr399Ile στον TLR4. Από το Νοσοκομείο Παίδων Αθηνών «Η Αγία Σοφία», συλλέχθηκε εγκεφαλονωτιαίο υγρό 25 παιδιών με μηνιγγίτιδα ή εγκεφαλίτιδα που έχει προκληθεί από εντεροϊούς. Ως ομάδα ελέγχου χρησιμοποιήθηκε περιφερικό αίμα από 40 υγιείς αιμοδότες. Έγινε απομόνωση γενωμικού DNA και εφαρμογή της ειδικής TaqMan PCR. Από τους 40 φυσιολογικούς μάρτυρες, ένα άτομο (ποσοστό 2,5%) βρέθηκε ότι φέρει και τους δύο SNPs σε ετερόζυγη μορφή, με συχνότητα που συμφωνεί με βιβλιογραφικά δεδομένα. Δύο από τα 25 παιδιά με μηνιγγίτιδα από εντεροϊούς κατείχαν και τους δύο πολυμορφισμούς, το ένα σε ομόζυγη και το άλλο σε ετερόζυγη μορφή. Σημειώνουμε ότι η ανεύρεση ατόμου ομόζυγου και για τους δύο πολυμορφισμούς είναι εξαιρετικά σπάνια στο γενικό πληθυσμό (<0,1%). Τα παραπάνω αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι υπάρχει πιθανή συσχέτιση των πολυμορφισμών Asp299Gly και Thr399Ile του TLR4 με την εμφάνιση μηνιγγοεγκεφαλίτιδας από εντεροϊούς, αλλά απαιτείται μεγαλύτερος αριθμός δειγμάτων για να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα.

**DETECTION OF TLR4 POLYMORPHISMS IN CHILDREN WITH  
ENTEROVIRUS-INDUCED MENINGOENCEPHA-LITIS USING  
TAQMAN PCR**

*Mavrouli M., Papadopoulou S., Spanakis N., Tsakris A., Routsias J.*

*Lab of Microbiology, Dept of Medicine, University of Athens*

In the innate immune system, Toll-like receptors (TLRs) recognize conserved molecular structures derived from pathogen microorganisms, initiating early immune responses. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) have been identified within TLRs, in 1-10% of the general population and they seem to affect the immune response against pathogens. Taking into account that TLR4 is implicated in the detection of enterovirus replication, it was examined whether Asp299Gly and Thr399Ile SNPs in TLR4 are associated with the occurrence of enterovirus-induced meningoencephalitis. TaqMan PCR was developed, using allele-specific MGB-probes in order to detect Asp299Gly and Thr399Ile SNPs in TLR4. Cerebrospinal fluid was collected from 25 children with enterovirus-induced meningoencephalitis from "Agia Sofia" Children Hospital. Peripheral blood, derived from 40 healthy blood donors, comprised the control group. Genomic DNA was isolated from CSF and blood samples and specific TaqMan PCR was applied. From the 40 healthy individuals, one (2.5%) bears both SNPs in heterozygous state, with frequency in conformance with bibliography. Two of the 25 children with enterovirus-induced meningitis possess both SNPs, one in homologous and the other one in heterologous state. It must be noted that homozygous individuals for both SNPs are extremely rare in the general population (<0.1%). The above data indicate that there is a possible association of Asp299Gly and Thr399Ile SNPs of TLR4 with the occurrence of enterovirus-induced meningoencephalitis, but a larger number of samples is required for obtaining safe conclusions.

**ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΕΧΝΙΚΗΣ ELISA ΠΟΥ ΕΠΙΤΡΕΠΕΙ ΤΗ ΔΙΑΚΡΙΣΗ ΑΝΤΙ-  
ΣΩΜΑΤΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΟΡΟΤΥΠΩΝ ΙΩΝ COXSACKIE**

*Μαυρούλη Μ., Σπανάκης Ν., Τσακρής Α., Ρούτσιος Ι.*

*Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Τμήμα Ιατρικής Σχολής, Πανεπιστήμιο Αθηνών*

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. Στην παρούσα μελέτη αναπτύχθηκε ανοσοενζυμική τεχνική στερεάς φάσης με δυνατότητα διάκρισης διαφορετικών οροτύπων ιών Cocksackie. Παρασκευάστηκαν συνθετικά 15μερή πεπτίδια, τα οποία περικλείουν τις αλληλουχίες που διαφοροποιούν την αντιγονική πρωτεΐνη VP1 των ιών Cocksackie B3, B4 και A24. Συλλέχθηκαν 200 οροί φυσιολογικών αιμοδοτών και ελεγχθήκαν για αντισώματα έναντι των τριών πεπτιδίων CVB3per, CVB4per ή CVA24per, αντίστοιχα. Από επιλεγμένα θετικά δείγματα απομονώθηκαν ειδικά αντι-πεπτιδικά αντισώματα με στήλες ανοσοσυγγένειας. IgG αντισώματα έναντι των πεπτιδίων των ιών CVB3, CVB4 και CVA24 ανιχνεύθηκαν στο 23, 33 και 36% των υγιών αιμοδοτών. Πειράματα αναστολής έδειξαν ότι i) τα CVB3per, CVB4per και CVA24per αναστέλλουν την ομόλογη αντίδραση των αντισωμάτων κατά 70-80%, ii) τα αντι-CVA24per αποτελούν μια ξεχωριστή αντιγονική ειδικότητα (ετερόλογη αναστολή 20%) και iii) τα αντι-CVB3per και αντι-CVB4per είναι αντιγονικά διακριτά αλλά οι δραστηριότητές τους συσχετίζονται (ετερόλογη αναστολή 20-50%,  $r=0,49$ ,  $p<0,0001$ ). Αντισώματα που απομονώθηκαν έναντι του CVA24per αναγνωρίζουν μόνο το CVA24per. Κεκαθαρωμένα αντισώματα έναντι του CVB3per και έναντι του CVB4per από ορισμένους ορούς αναγνωρίζουν μόνο το ομόλογό τους πεπτίδιο ενώ από κάποιους άλλους αναγνωρίζουν το ομόλογο, σε μεγαλύτερο βαθμό αλλά και το ετερόλογο πεπτίδιο, σε μικρότερο βαθμό. Συμπερασματικά, τα πεπτίδια CVB3per, CVB4per και CVA24per μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την διάκριση αντισωμάτων που στρέφονται έναντι διαφορετικών οροτύπων ιών Cocksackie.

**DEVELOPMENT OF AN ELISA ASSAY FOR THE DISCRIMINATION OF  
ANTIBODIES AGAINST DIFFERENT COXSACKIEVIRUS SEROTYPES**

*Mavrouli M., Spanakis N., Tsakris A., Routsias J.*

*Lab of Microbiology, Dept of Medicine, University of Athens*

Coxsackieviruses (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. In this study, we intended to develop a serodiagnostic method (ELISA) with the ability to discriminate between different serotypes of Coxsackie viruses. 15mer peptides were synthesized, corresponding to amino acid sequences, which differentiate the antigen protein VP1 of coxsackievirus B3, B4 and A24. Sera were obtained from 200 healthy blood donors and tested for the presence of IgG antibodies against the three peptides CVB3pep, CVB4pep or CVA24pep, respectively. IgG antibodies against Coxsackie virus B3, B4 and A24 peptides were detected in 23, 33 and 36% of healthy blood donors. Inhibition experiments demonstrated that i) CVB3pep, CVB4pep and CVA24pep inhibit the homologous antibody reactions in ELISA at 70-80%, ii) the anti-CVA24pep comprise a distinct antigen specificity (heterologous inhibition <20%) and iii) anti-CVB3pep and anti-CVB4pep are antigen distinct, but their reactivities are correlated (heterologous inhibition 20-50%,  $r=0.49$ ,  $p<0.0001$ ). Antibodies against CVA24pep were isolated and they recognized only CVA24pep. Purified antibodies against CVB3pep and CVB4pep, from some sera, recognize only the homologous peptide, but from some others, they recognize the homologous peptide, in a greater extent, compared to the heterologous peptide. Conclusively, peptides CVB3pep, CVB4pep and CVA24pep could be applied in an ELISA assay for the discrimination of antibodies against different Coxsackie virus serotypes.

**Η ΦΥΣΙΚΟΥ ΤΥΠΟΥ ΕΚΚΡΙΝΟΜΕΝΗ Α-ΣΥΝΟΥΚΛΕΪΝΗ ΕΙΝΑΙ ΤΟΞΙΚΗ  
ΓΙΑ ΤΟΥΣ ΝΕΥΡΩΝΕΣ**

*Μελαχροινού Κ., Εμμανουηλίδου Ε., Στεφανής Λ., Βεκρέλλης Κ.*

*Τμήμα Βασικών Νευροεπιστημών, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας  
Αθηνών, Αθήνα*

Η νόσος του Πάρκινσον είναι μια νευροεκφυλιστική νόσος με κύρια παθολογικά χαρακτηριστικά την επιλεκτική απώλεια των ντοπαμινεργικών νευρώνων της μέλαινας ουσίας και το σχηματισμό πρωτεϊνικών συσσωματωμάτων (σωμάτια Lewy). Η α-συνουκλεΐνη (ASYN) είναι μια άφθονη νευρωνική πρωτεΐνη που εντοπίζεται στις συνάψεις και θεωρείται ότι εμπλέκεται στην παθογένεια της νόσου. Η ASYN έχει την τάση να δημιουργεί ολιγομερή, τα οποία μπορεί να ευθύνονται για την τοξική δράση της. Αν και πρόκειται για μια κυτταροπλασματική πρωτεΐνη, πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι η ASYN πιθανόν να εκκρίνεται φυσιολογικά, καθώς έχει βρεθεί στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό και το πλάσμα υγιών ατόμων και ασθενών, υποστηρίζοντας έναν παρακρινή μηχανισμό εξάπλωσης της νόσου. Προκειμένου να διερευνηθεί η επίδραση της εκκρινόμενης ASYN στην επιβίωση των νευρικών κυττάρων, χρησιμοποιήθηκε κυτταρική σειρά νευροβλαστώματος που εκφράζει τη φυσικού τύπου ASYN με επαγόμενο τρόπο (TET-off). Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι η ASYN εκκρίνεται φυσιολογικά στο θρεπτικό μέσο κυττάρων που εκφράζουν τη φυσικού τύπου ASYN, αλλά όχι στο θρεπτικό των κυττάρων μάρτυρα. Η εκκρινόμενη ASYN προσλαμβάνεται από διαιρούμενα SH-SY5Y κύτταρα (εντοπίζεται στο κλάσμα μικροσωμάτων), αλλά όχι από διαφοροποιημένα SH-SY5Y κύτταρα ή από πρωτογενείς καλλιέργειες νευρώνων φλοιού αρουραίου. Επιπλέον, το θρεπτικό μέσο εμπλουτισμένο με εκκρινόμενη ASYN προκαλεί τοξικότητα στις φλοϊκές καλλιέργειες, η οποία μειώνεται όταν η ASYN αφαιρεθεί από το μέσο με ανοσοκαθίζηση. Συνοψίζοντας, η φυσιολογικά εκκρινόμενη ASYN προκαλεί τοξικότητα όταν χορηγείται σε νευρικά κύτταρα. Μελλοντικός στόχος είναι ο χαρακτηρισμός των τοξικών ειδών της εκκρινόμενης ASYN και των υπεύθυνων μηχανισμών για την έκκριση/πρόσληψή της. Το κυτταρικό σύστημα που διαθέτουμε αποτελεί κατάλληλο εργαλείο για τον έλεγχο θεραπευτικών στρατηγικών με στόχο την αντιμετώπιση της τοξικότητας που προκαλεί η εκκρινόμενη ASYN.

*Η έρευνα αυτή χρηματοδοτείται από το πρόγραμμα EMJF στους ΕΕ, ΚΒ.*

## **SECRETED WILD TYPE ALPHA-SYNUCLEIN IS TOXIC TO NEURONS**

*Melachroinou K., Emmanouilidou E., Stefanis L, Vekrellis K.*

*Division of Basic Neuroscience, Biochemical Research Foundation of the Academy of  
Athens, Athens*

Parkinson's disease (PD) is a major neurodegenerative disease pathologically characterized by the selective loss of dopaminergic neurons in the substantia nigra and aggregated protein deposits called Lewy bodies. Alpha-synuclein (ASYN) is an abundant presynaptic protein which is implicated in the pathogenesis of PD. ASYN has the tendency to form oligomers and these are thought to be the toxic species in PD. ASYN is a cytosolic protein, however, recent findings have shown that ASYN is secreted since it is present in CSF and blood plasma of healthy subjects and PD patients. Therefore, there is a possibility of a paracrine mode of action of ASYN for the spread of pathology in PD. We used an inducible Tet-Off SH-SY5Y neuroblastoma cell line, expressing wild type ASYN in order to assess the effects of secreted ASYN on neuronal survival. We found that ASYN is physiologically secreted into the culture medium of these cells but not of control or non-expressing cells. A range of different species from monomeric to high molecular weight ASYN oligomers were readily detected in the medium. Importantly, we showed that naïve SH-SY5Y cells can uptake secreted ASYN and this is localized to the microsomal fraction. In contrast differentiated naïve SH-SY5Y cells, as well as cultured rat embryonic cortical neurons cannot uptake physiologically secreted ASYN. In addition, application of medium containing secreted ASYN to cultured cortical neurons induced cell death, when compared to control medium or medium from non-expressing cultures. When ASYN was immunodepleted extracellularly-induced ASYN toxicity was ameliorated. Our data suggests that the secreted ASYN is toxic to recipient cells. We aim to further characterize the toxic species of secreted ASYN, the mechanisms responsible for its secretion and uptake and the manner by which secreted ASYN causes cell death. Our inducible system could provide us with the tools with which we could test therapeutic strategies to address the toxicity of secreted ASYN.

*This work is funded by EMJF grant to EE, KV.*

**ΑΥΞΗΣΗ ΤΟΥ ΡΥΘΜΟΥ NMDA-ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΩΝ ΜΕΣΟΚΡΙΤΙΚΟΥ  
ΤΥΠΟΥ ΕΚΦΟΡΤΙΣΕΩΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΝΔΟΓΕΝΗ ΑΚΕΤΥΛΟΧΟΛΙΝΗ, ΚΑΤΑ  
ΜΗΚΟΣ ΤΟΥ ΕΠΙΜΗΚΟΥΣ ΑΞΟΝΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΑΜΠΟΥ, ΣΕ  
ΕΝΗΛΙΚΟΥΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΥΣ ΚΑΙ ΕΠΙΛΗΠΤΙΚΟΥΣ ΕΠΙΜΥΣ**

*Μικρούλης Α. και Κ. Ψαρροπούλου*

*Εργ. Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών  
& Τεχνολογιών, Παν/μιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα, 45110, Ελλάδα.*

Μια παρατεταμένη γενικευμένη κρίση σε μικρή ηλικία (ένα μοντέλο του Status Epilepticus) προκαλούμενη από ενδοπεριτοναϊκή ένεση πεντυλενετετραζόλης (PTZ), προκαλεί μια μακροπρόθεσμη μεταβολή στην χολινεργική (μέσω μουσκαρινικών υποδοχέων) νευροδιαβίβαση του ΚΝΣ που οδηγεί σε ενισχυμένη διεγερσιμότητα. Σε αυτήν την εργασία επιχειρούμε να προσδιορίσουμε τον ρόλο της ενδογενούς ακετυλοχολίνης στον έλεγχο των σύγχρονων επιληπτοειδών μεσοκρίτικου τύπου εκφορτίσεων που παράγονται από την ενεργοποίηση των υποδοχέων NMDA, σε τομές ιπποκάμπου από ενήλικους φυσιολογικούς και PTZ επίμυς. Τομές ιπποκάμπου παρασκευάστηκαν από 22 επιληπτικά (κρίση PTZ > 20 min, στάδιο 5, που συμβαίνει λεπτά μετά την ένεση PTZ) και 37 φυσιολογικά πειραματοζώα. Οι τομές διαβρεχόταν από tENY χωρίς πρόσθετο Mg<sup>2+</sup> κατά την διάρκεια του πειράματος και οι καταγραφές πραγματοποιήθηκαν στην περιοχή CA3. Η αντιχολινεστεράση εσερίνη (10μM) και/ή ο μουσκαρινικός ανταγωνιστής ατροπίνη (1μM) προστέθηκαν στο μέσο διαβροχής για μικρά χρονικά διαστήματα και τα αποτελέσματά των στην συχνότητα των αυθορμητών εκφορτίσεων μετρήθηκαν, αναλύθηκαν και αξιολογήθηκαν στατιστικά. Τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν μεταξύ (α) διαφραγματικών (Δ) και κροταφικών (Κ) τομών, (β) τομών αρσενικών (Α) και θηλυκών (Θ) ζώων, (γ) Wistar (W) και Sprague-Dawley (SD) τομών, (δ) τομών φυσιολογικών (Φ) και PTZ πειραματοζώων. Σε κάθε ομάδα όλες οι άλλες συνθήκες τηρήθηκαν σταθερές. Η συχνότητα αυθορμητών NMDA-εξαρτώμενων εκφορτίσεων ήταν σημαντικά υψηλότερη σε Κ έναντι Δ τομών αλλά παρόμοιες μεταξύ SD και W τομών, Α και Θ τομών, και μεταξύ Φ και PTZ τομών. Η εσερίνη αύξησε σημαντικά τις συχνότητες αυθορμητών εκφορτίσεων σε όλες τις τομές, αλλά σε μεγαλύτερο βαθμό στις Κ τομές έναντι των Δ τομών, στις Θ τομές έναντι των Α, και στις PTZ τομές έναντι των Φ (Wistar). Η ατροπίνη ανέστρεψε το αποτέλεσμα της εσερίνης σε όλες τις τομές (n=15), και όταν προσετίθετο μόνη της μείωνε σημαντικά την συχνότητα των NMDA εκφορτίσεων Κ και Δ τομών. Τα ευρήματα αυτά δείχνουν (α) τονική θετική ρύθμιση της συχνότητας NMDAR-μεσολαβούμενων εκφορτίσεων από την ενδογενή ακετυλο-χολίνη, όπως φαίνεται από την ανασταλτική δράση της ατροπίνης. Αυτή η θετική ρύθμιση ενισχύεται (β) μετά από μια αύξηση της εξωκυττάριας ακετυλοχολίνης (εσερίνη). Το τελευταίο αποτέλεσμα (της εσερίνης) εμφανίζεται εντονότερο στον διαφραγματικό θηλυκό ιππόκαμπο, καθώς και μετά από μία παρατεταμένη γενικευμένη κρίση σε μικρή ηλικία, υποστηρίζοντας την εξάρτηση αυτής της αλληλεπίδρασης από παράγοντες όπως το φύλο, η ανατομική περιοχή και/ή το ιστορικό επιληπτικών κρίσεων.



**ENHANCEMENT OF NMDA-DEPENDENT INTERICTAL DISCHARGE  
RATES BY ENDOGENOUS ACh, ALONG THE LONGITUDINAL  
HIPPOCAMPAL AXIS, IN ADULT NAIVE AND CONDITIONED RATS**

*Mikroulis A., and C. Psarropoulou*

*Lab. of Animal & Human Physiology, Dept. Biological Applications and Technology,  
Faculty of Science and Technology, University of Ioannina, 45110 Ioannina, Greece.*

A sustained generalized early-life seizure (a model for Status Epilepticus) provoked by i.p. injection of pentylenetetrazole (PTZ) causes a long term change in CNS cholinergic (muscarinic) neurotransmission leading to an enhancement of excitability. In this work, we sought to determine the role of endogenous ACh in the control of synchronous epileptiform interictal-like discharges generated by NMDA receptor activation, in hippocampal slices from adult naive and PTZ rats. Hippocampal slices were prepared from 22 conditioned rats (PTZ-seizure: >20 min, stage 5 occurring minutes after PTZ injection) and 37 naive littermates; Slices were perfused with ACSF without added  $Mg^{2+}$  throughout the experiment and extracellular recordings were made in CA3 area. The anticholinesterase eserine (10 $\mu$ M) and/or the muscarinic antagonist atropine (1 $\mu$ M) were added to the perfusion medium for short periods and their effects on the spontaneous discharge frequency were measured, analyzed and statistically evaluated. Results were compared in (a) septal vs temporal slices, (b) Male or Female slices, (c) Wistar or Sprague-Dawley slices, (d) naive or PTZ rat slices. In each group all other conditions were equal. The frequency of spontaneous NMDA-dependent discharges, used as a baseline level in these recordings, was significantly higher in temporal vs septal slices but similar in Sprague-Dawley vs Wistar slices, Female vs Male slices, and in control vs PTZ-treated slices. Eserine increased significantly the frequency of spontaneous discharges in all slices, but to a greater degree in septal vs temporal slices, in Female vs Male slices and in PTZ vs naive (Wistar) slices. Atropine reversed eserine effect in all slices tested (n=15), but more interestingly, when perfused alone, it reduced significantly the frequency of NMDA discharges in both temporal and septal slices. These findings demonstrate (a) a tonic positive modulation of the NMDA receptor mediated discharge frequency by endogenous ACh, as shown by the inhibitory atropine effect. This positive modulation is further enhanced (b) following an increase in the extracellular ACh concentration (eserine). This latter effect (eserine) is more pronounced in female septal hippocampus, as well as, following a sustained generalized PTZ-induced seizure in the early life, suggesting that this interaction may depend on factors such as gender, anatomical location and/or seizure history.

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ ΤΟΥ  
ΕΡΥΘΡΟΥ ΤΟΝΝΟΥ *THUNNUS THYNNUS* (LINNAEUS, 1758) ΜΕ ΤΗ  
ΧΡΗΣΗ ΔΥΟ ΣΚΕΛΕΤΙΚΩΝ ΔΟΜΩΝ, ΤΩΝ ΑΚΑΝΘΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ  
ΣΠΟΝΔΥΛΩΝ**

*Μιλάτου Ν., Παπαευγενίου Ν., Γιουτλάκης Μ., Μεγαλοφώνου Π.*

*Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας  
Ζωολογίας και Θαλάσσιας Βιολογίας, Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 15784, Ελλάδα*

Το αντικείμενο αυτής της εργασίας είναι η εκτίμηση της ηλικίας του ερυθρού τόννου, *Thunnus thynnus* (L., 1758), χρησιμοποιώντας δύο σκελετικές δομές, σπονδύλους και ακανθες, ώστε να συγκριθούν οι δύο μέθοδοι εκτίμησης ηλικίας και να εκτιμηθεί η ακρίβεια αυτών. Τα δείγματα (n=181) του ερυθρού τόννου συλλέχτηκαν από τον Σαρωνικό Κόλπο, στην Αργολίδα (ελεύθερα άτομα), από το Βόλο (ελεύθερα άτομα) και από τη μονάδα πάχυνσης ερυθρού τόννου, στο Ιόνιο Πέλαγος. Η δειγματοληψία έγινε από τον Νοέμβριο έως αρχές Ιανουαρίου (2007-2009). Η ηλικία εκτιμήθηκε σε ένα σύνολο 181 δειγμάτων, ακανθών και σπονδύλων. Το μεσουραίο μήκος και το ολικό βάρος των δειγμάτων κυμαινόταν από 112 έως 272 cm και από 26 έως 475 kg, αντίστοιχα. Η ηλικία εκτιμήθηκε με την ανάγνωση των ετήσιων αυξητικών δακτυλίων, που αποτυπώνονται στις σκελετικές δομές (τομές 1<sup>ης</sup> ραχιαίας ακανθας & 35<sup>ος</sup> και 36<sup>ος</sup> σπόνδυλος). Το ηλικιακό εύρος για τις ακανθες και τους σπονδύλους κυμαινόταν από 4 έως 17 έτη και από 4 έως 16 έτη, αντίστοιχα. Και οι δύο σκελετικές δομές είναι ιδανικές για την εκτίμηση της ηλικίας του ερυθρού τόννου, δεδομένου ότι υπάρχει σχεδόν ταύτιση μεταξύ τους κατά το ηλικιακό εύρος 4-11 έτη. Παρ' όλα αυτά υπάρχει μια τάση να υποτιμάται η ηλικία με την μέθοδο των σπονδύλων, σε σχέση με αυτή των ακανθών. Αν και στα μεγάλα άτομα η μέθοδος των ακανθών εμφανίζει μεγαλύτερες ηλικιακές διακυμάνσεις, αυτή δίνει υψηλότερες τιμές σε σχέση με τη μέθοδο των σπονδύλων. Συγκρίνοντας τις δύο μεθόδους, οι ακανθες παρουσίασαν υψηλότερες τιμές ακριβείας, Μέσο Ποσοστιαίο Σφάλμα (APE) & Συντελεστής Μεταβλητότητας (CV), σε αντίθεση με τους σπονδύλους.

**AGEING COMPARISON USING CAUDAL VERTEBRAE AND DORSAL FIN  
SPINES OF BLUEFIN TUNA, THUNNUS THYNNUS (LINNAEUS, 1758)**

*Milatou N., Papaevgeniou N., Gioutlakis M., Megalofonou P.*

*Department of Zoology-Marine Biology, Faculty of Biology, University of Athens,  
Panepistimiopolis, Athens 15784, Greece*

The objective of this essay is to estimate the age of bluefin tuna, *Thunnus thynnus* (Linnaeus, 1758), using two hard structures (caudal vertebrae and dorsal spines), in order to compare the two ageing methods and to estimate the precision of these methods. The samples (n=181) of bluefin tuna were collected from the Gulf of Saronikos in Argolida (wild individuals), from Volos (wild individuals) and from the Atlantic Bluefin Tuna farm in Greece, in the Ionian Sea. The sampling was accomplished between November and early January (2007-2009). A total of 181 spines and 181 vertebrae were aged from the same specimen, ranged in fork length from 112 to 272 cm and in round weight from 26 to 475 kg. Age was estimated from seasonally formed bands (annual rings) on the first dorsal spine and on the vertebrae (35<sup>th</sup> & 36<sup>th</sup>). The range of aged specimens was from 4 to 17 years old for the dorsal spines and for the vertebrae was from 4 to 16 years old. Both calcified structures are proved to be very suitable for ageing bluefin tuna and there is almost no bias between both structures in ages from 4 to 11 years. Nevertheless, there is a tendency to estimate less years in vertebrae than in spines. However, in older fish the counts diverged, dorsal spines consistently providing higher age estimations. Comparing the two ageing methods, the dorsal spines presented higher values of measures of precision, such as APE & CV, against the vertebrae.

**ΒΙΟΑΡΧΑΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΕΛΛΑΔΙΚΟΥ ΝΕΚΡΟΤΑΦΕΙΟΥ  
ΤΗΣ ΜΑΝΙΚΑΣ ΕΥΒΟΙΑΣ**

**Μιχαήλ Δ., Μουντράκης Κ., Χοβαλοπούλου Μ., Πετροτσά Ε.Ι.  
και Σ.Κ. Μανώλης**

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό &  
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 84 Αθήνα.  
E-mail: [smanol@biol.uoa.gr](mailto:smanol@biol.uoa.gr)*

Η βιοαρχαιολογική ανάλυση έχει σκοπό να σκιαγραφήσει τις διάφορες όψεις της ανθρώπινης συμπεριφοράς και τη σχέση της με τη σκελετική βιολογία. Αυτή η προσέγγιση είναι κεντρική στη βιοπολιτισμική προοπτική που προσφέρουν οι ανθρωπολόγοι. Τα σκελετικά κατάλοιπα αποτελούν μια σημαντική πηγή πληροφοριών στη μελέτη της ανθρώπινης ποικιλομορφίας. Σε αυτό το πλαίσιο, η μελέτη προϊστορικών νεκροταφείων είναι επιτακτική διαδικασία για τη βιολογική ανασύνθεση των πληθυσμών. Η Μάνικα (Εύβοια) είναι ένα από τα λίγα Πρωτοελλαδικά (ΠΕ) νεκροταφεία που έχουν ανασκαφεί κι ως εκ τούτου η μελέτη του είναι σημαντική. Το ανθρώπινο σκελετικό υλικό που αποκαλύφθηκε από τις ανασκαφές του Α. Σάμψων (1982-1983), προέρχεται από 116-120 τάφους και χρονολογείται στην ΠΕ II περίοδο (2850-2350 π.Χ). Από την καταγραφή του σκελετικού υλικού προέκυψε ότι ο ελάχιστος αριθμός ατόμων είναι 200. Επειδή η κατάσταση διατήρησης είναι πολύ κακή το μεγαλύτερο ποσοστό των νεκρών δεν μπόρεσε να προσδιοριστεί (1 άρρεν, 6 θήλεα και 193 απροσδιόριστα άτομα). Από αυτά τα 155 είναι ενήλικα και μόλις τα 25 ανήλικα. Όμως η έρευνα για την αναγνώριση των απροσδιόριστων ατόμων με εφαρμογή βιομετρικών τεχνικών προσδιορισμού του φύλου στα μετακαρπικά και μεταταρσικά οστά, είναι ακόμη σε εξέλιξη. Επίσης έγινε ανάλυση σταθερών ισotόπων άνθρακα και αζώτου για διερεύνηση των διατροφικών συνηθειών. Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι οι κάτοικοι της Μάνικας σε ποσοστό >50% τρέφονταν με ζωική πρωτεΐνη (κατανάλωση κρέατος και γαλακτοκομικών προϊόντων), ενώ σε ποσοστό >90% συμμετέχουν οι φυτικές πρωτεΐνες από τα C3 φυτά (που απαντώνται σε εύκρατες περιοχές, π.χ. χόρτα, βολβοί, καρποί δένδρων κá) σε αντίθεση με την ΠΕ θέση της Περαχώρας (Κορινθία), όπου έχουμε κατανάλωση C4 φυτών (χαρακτηριστικά των θερμών και ξηρών κλιμάτων π.χ. καλαμπόκι, κεχρί κá). Η παλαιοπαθολογική ανάλυση εντόπισε λίγες παθολογικές καταστάσεις, όπως περιοστίτιδα, os acromiales, οστεόφυτα κλπ. Ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε στη στοματική υγιεινή. Η περιοδοντίτιδα και οι άλλες οδοντικές παθήσεις βρίσκονται σε χαμηλά ποσοστά σε αντίθεση με την υποπλασία της αδαμαντίνης και την φθορά της μασητικής επιφάνειας που εμφανίζουν υψηλά ποσοστά. Η εικόνα αυτή προτείνει δίαιτα χαμηλή σε υδατάνθρακες και σάκχαρα, αλλά πλούσια σε φυτικές ίνες, και ζωικές πρωτεΐνες, γεγονός που συμφωνεί με την ανάλυση των σταθερών ισotόπων.

**BIOARCHAEOLOGICAL STUDY OF THE PROTO-HELLADIC MANIKA  
CEMETERY (EUBOEA ISL., GREECE)**

*Michael D., Mountrakis K., Chovalopoulou M., Petroutsas E.I., and S.K. Manolis*

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

The goal of bioarchaeological research is the study of the various aspects of human behavior, and how they relate to skeletal biology. This is a key approach of the biocultural perspective implemented by anthropologists. Skeletal remains are a significant source of data in the study of human variation. In this context, the study of prehistoric graves is necessary in the process of the biological reconstruction of past populations. The settlement of Manika (Evia), is one of the few available Proto-Helladic (PH) cemeteries that have been excavated, and thus its study is significant. The human skeletal remains recovered from the excavations of A. Sampson (1982-1983), come from 116-120 graves that date to the PHII period (2850-2350 B.C.E.). An MNI of 200 was calculated from the cataloguing of the material. Due to the poor state of preservation, sex determination was not possible for the majority of the remains (1 male, 6 females, and 193 unknown). Of these, 155 are adults and 25 subadults. However, sex determination utilizing metric analysis techniques applied to metatarsals and metacarpals is currently underway. Furthermore, stable carbon and nitrogen isotope analysis was conducted in order to obtain dietary data. The results indicate that the population of Manika consumed faunal protein, at a proportion of >50%, while plant protein from C3 plants (wild leafy plants, tubers, fruit, etc) were consumed at a proportion of >90%. This diet differs from that of the PH settlement of Perahora in the northeastern Peloponnese, where C4 plants, which are indicative of drier climates, were consumed. Paleopathological analysis yielded little pathology which includes periostitis, a case of os acromialis, osteophytes, etc. Dental pathology was of considerable interest. Periodontal disease and other dental pathologies were observed in low frequencies, while enamel hypoplasia and occlusal surface wear were common. This suggests a diet low in carbohydrates and sugars, but rich in plant fiber and animal protein, which is supported by the stable isotope analysis.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΚΑΛΛΙΚΡΕΪΝΩΝ *KLK11* ΚΑΙ *KLK13* ΣΕ  
ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΟΓΚΟΥΣ ΠΡΟΣΤΑΤΗ**

*Μιχαηλίδου Κ., Μαυρίδης Κ. και Α. Σκορίλας*

*Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο  
Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15701, Αθήνα.*

**Εισαγωγή:** Οι καλλικρεΐνες (*KLKs*) αποτελούν μια από τις μεγαλύτερες οικογένειες πρωτεασών σερίνης στον άνθρωπο. Μεταβολές της έκφρασης των *KLKs*, συνδέονται με ποικίλες ασθένειες και κυρίως με τον καρκίνο του προστάτη. Η καλλικρεΐνη-3 είναι το γνωστό PSA που ήδη αποτελεί τον πλέον αποδεκτό μοριακό δείκτη στον καρκίνο του προστάτη. Τα γονίδια *KLK11* και *KLK13* έχουν σχετικά πρόσφατα κλωνοποιηθεί και αποτελούν νέα μέλη της οικογένειας των καλλικρεΐνών των οποίων η έκφρασή τους φαίνεται να ρυθμίζεται από στεροειδείς ορμόνες.

**Σκοπός:** Στόχος της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της έκφρασης, σε επίπεδο mRNA, των γονιδίων *KLK11* και *KLK13* σε καρκινικές κυτταρικές σειρές και όγκους προστάτη.

**Υλικά και μέθοδοι:** Καλλιεργήθηκαν οι ανθρώπινες καρκινικές σειρές προστάτη PC3, LNCaP και DU145. Από την τράπεζα όγκων του εργαστηρίου επιλέχθηκαν, τυχαία, 35 όγκοι προστάτη. Απομονώθηκε ολικό RNA τόσο από τους ιστούς όσο και από τις καρκινικές κυτταρικές σειρές. Έγινε έλεγχος ποιότητας του RNA και παρασκευάστηκε cDNA με τη μέθοδο της αντίστροφης μεταγραφής. Ειδικοί εκκινητές για τα υπό μελέτη γονίδια σχεδιάστηκαν και συντέθηκαν. Η μελέτη έκφρασης των γονιδίων *KLK11* και *KLK13* έγινε με ανάλυση προϊόντων αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) σε πηκτική αγαρόζη. Το γονίδιο *HPRT1* χρησιμοποιήθηκε ως γονίδιο αναφοράς.

**Αποτελέσματα-Συμπεράσματα:** Τα γονίδια *KLK11* και *KLK13* βρέθηκαν να εκφράζονται σε διαφορετικά επίπεδα, τόσο στις καρκινικές κυτταρικές σειρές όσο και στα δείγματα ιστών προστάτη, που μελετήθηκαν. Επιπλέον, παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα έκφρασης του κλασικού μεταγράφου του γονιδίου *KLK13* σε καρκινικά δείγματα προστάτη σε σχέση με δείγματα ασθενών με καλοήγη προστατική υπερπλασία. Η έρευνα βρίσκεται σε εξέλιξη για να διαπιστωθεί εάν τα γονίδια *KLK11* και *KLK13* μπορούν να χρησιμοποιηθούν μελλοντικά ως μοριακοί δείκτες στον καρκίνο του προστάτη.

## EXPRESSION ANALYSIS OF THE KALLIKREIN GENES *KLK11* AND *KLK13* IN CANCER CELLS AND PROSTATE TUMORS

*Michaelidou K., Mavridis K., and A. Scorilas*

*Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Biology, University  
of Athens, Panepistimioupolis, 15701 Athens, Greece*

**Introduction:** The human tissue kallikrein gene family is the largest contiguous family of serine proteases in the human genome. Alterations in the expression of *KLKs* are associated with several diseases and mainly, prostate cancer. Kallikrein-3, is the already known PSA, which has been approved as the most useful and acceptable biomarker for prostate cancer. *KLK11* and *KLK13* genes are newly discovered members of the human kallikrein gene family and, like the majority of *KLK* genes, are regulated by steroid hormones.

**Purpose:** The purpose of this study is the expression analysis of the *KLK11* and *KLK13* genes, at the mRNA level, in prostate tumours and in established human prostate cancer cell lines.

**Materials and methods:** Human prostate cancer cell lines (PC3, LNCaP and DU145) were cultured in accordance with the ATCC instructions. Total RNA was extracted from these cell lines, as well as from 35 prostate tumours and non cancerous tissues. After testing the quality of the RNA, cDNA was produced using the reverse transcriptase method. *KLK11* and *KLK13* gene specific primers were designed based on their published genomic sequences. The study of the expression levels of *KLK11* and *KLK13* mRNA transcripts was made with analysis of the polymerase chain reaction (PCR) products in agarose gel. *HPRT1* was used as a reporter gene. Our results were evaluated using the ImageJ software.

**Results and conclusions:** *KLK11* and *KLK13* genes were proven to be differentially expressed in prostate cancer cell lines and in the prostate tissue samples studied. Additionally, analysis of the data showed an increase in the expression levels of *KLK13* classical mRNA isoform, in CaP tissues compared to BPH tissues. Further studies are being conducted in order to examine if *KLK11* and *KLK13* could be exploited as putative molecular biomarkers for the diagnosis of prostate cancer.

**ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ TAF5  
ΣΤΟ ARABIDOPSIS THALIANA**

Μούγιου Ν., Καλδής Α., Βλαχονάσιος Κ.

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών επιστημών, Αριστοτέλειο  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη. E-mail: [kolachon@bio.auth.gr](mailto:kolachon@bio.auth.gr)

Στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς η 90kDa πρωτεΐνη TAF5 είναι μέλος των συμπλόκων TFIID και SAGA. Η TAF5 συσχετίζεται με την έναρξη της μεταγραφής από την RNA πολυμεράση II, την αναδιαμόρφωση της χρωματινικής δομής και την ακετυλίωση των ιστονών. Το γονιδίωμα του *Arabidopsis* κωδικοποιεί μία TAF5 πρωτεΐνη περίπου 744 kDa που παρουσιάζει υψηλή ομολογία με την πρωτεΐνη της ζύμης (34%) και του ανθρώπου (37%), ιδίως στο μοτίβο WD40. Για τη μελέτη του βιολογικού ρόλου της TAF5 στο *Arabidopsis* χρησιμοποιήθηκαν πέντε μεταλλάγματα που φέρουν T-DNA ένθεμα στον υποκινητή (*taf5-5*), στο τέταρτο ιντρόνιο (*taf5-1*), στο πέμπτο εξώνιο (*taf5-2*), στο δέκατο πέμπτο ιντρόνιο (*taf5-3*) και στο δέκατο έκτο ιντρόνιο (*taf5-4*). Βρέθηκαν ετερόζυγα φυτά και των πέντε μεταλλαγμάτων καθώς και ομόζυγα φυτά *taf5-5*. Τα ομόζυγα *taf5-5* παρουσιάζουν μειωμένη έκφραση του TAF5 κατά τέσσερις φορές σε σχέση με φυτά αγρίου τύπου χωρίς να δείχνουν κάποιο ιδιαίτερο φαινότυπο.



**MOLECULAR CHARACTERIZATION OF TAF5 MUTANTS IN  
ARABIDOPSIS THALIANA**

*Mougiou N., Kaldis Ath., Vlachonasios K.*

*Department of Botany, School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University of  
Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, E-mail: [kolachon@bio.auth.gr](mailto:kolachon@bio.auth.gr)*

In eukaryotes, TAF5 is a 90kDa subunit of TFIID and SAGA complexes involving in RNA polymerase II transcription initiation, chromatin modification and histone acetylation. Arabidopsis genome encodes one TAF5 of approximately 744 kDa, with highly identity to yeast (34%) and human (37%) particularly in WD40 domain. To study the biological role of TAF5 in Arabidopsis five mutants bearing a T-DNA insertion were identified in the promoter (*taf5-5*), in fourth intron (*taf5-1*), fifth exon (*taf5-2*), fifteenth intron (*taf5-3*) and sixteenth intron (*taf5-4*). We found heterozygote plants of all five mutants and homozygous *taf5-5* plants. Homozygous *taf5-5* plants exhibit four times reduced level of TAF5 expression without showing distinct phenotype from wild type plants.

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΟΥ ΦΥΛΕΤΙΚΟΥ ΔΙΜΟΡΦΙΣΜΟΥ ΣΤΑ ΜΕΤΑΤΑΡΣΙΚΑ  
ΟΣΤΑ ΤΗΣ ΣΥΓΧΡΟΝΗΣ ΣΚΕΛΕΤΙΚΗΣ ΣΥΛΛΟΓΗΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ**

*Μουντράκης Κ., Ηλιόπουλος Κ., Κοίλιας Χ.\* και Σ.Κ. Μανώλης*

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό &  
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 84 Αθήνα.*

*\*Τμήμα Πληροφορικής, ΤΕΙ Αθήνας, Οδός Αγ. Σπυρίδωνος Αιγάλεω Αττικής.*

*E-mail: [smanol@biol.uoa.gr](mailto:smanol@biol.uoa.gr), [ckoilias@teiath.gr](mailto:ckoilias@teiath.gr)*

Οι δικαστικοί-βιολογικοί ανθρωπολόγοι καθώς κι οι βιοαρχαιολόγοι προσδιορίζουν το φύλο στα ανθρώπινα σκελετικά υπολείμματα βασιζόμενοι κυρίως στην πύελο και στο κρανίο, αλλά αυτά δεν είναι συχνά διαθέσιμα. Ο στόχος αυτής της μελέτης είναι να καθοριστεί η έκταση του φυλετικού διμορφισμού που εμφανίζεται στα μεταταρσικά οστά προκειμένου να καθοριστεί η χρησιμότητά τους στον προσδιορισμό του φύλου σκελετικών υπολειμμάτων Ελληνικού πληθυσμού. Ένας περαιτέρω στόχος είναι η ανάπτυξη διαχωριστικών εξισώσεων προσδιορισμού του φύλου από τα βιομετρικά δεδομένα μεταταρσικών οστών από δείγμα σύγχρονου ελληνικού πληθυσμού. Το δείγμα αποτελείται από 1595 μεταταρσικά (αριστερά και δεξιά), που αντιστοιχούν σε 186 ενήλικα άτομα (97 άνδρες, 89 γυναίκες). Μόνο οι ενήλικες περιλήφθηκαν στο δείγμα. Η μέση ηλικία είναι 57,9 (εύρος: 24–96 χρόνια) και 59,9 (εύρος: 20–99 χρόνια) για άνδρες και γυναίκες αντίστοιχα. Λήφθηκαν 7 μετρήσεις από κάθε μεταταρσικό οστό. Μετά τη συλλογή των βιομετρικών δεδομένων υπολογίστηκαν τα περιγραφικά στατιστικά καθώς και ο φυλετικός δείκτης διμορφισμού (SDI). Τα στοιχεία αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας Διαχωριστική Ανάλυση, από την οποία προήλθαν εξισώσεις προσδιορισμού φύλου για κάθε μεταταρσικό οστό. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι τα μεταταρσικά μπορούν να είναι χρήσιμα οστά για τον προσδιορισμό του φύλου σε σκελετούς ελληνικής προέλευσης με γενικά υψηλή πιθανότητα (από 79,6% μέχρι 90,8%). Αυτή η υψηλή πιθανότητα προκύπτει από τις διαφορές στο σωματικό μέγεθος μεταξύ ανδρών και γυναικών. Ο διμορφισμός κυμαίνεται από 6,7%-15,0%. Η μελέτη που πραγματοποιήθηκε στο υλικό της Σύγχρονης Συλλογής (The Athens Collection) δείχνει ότι γενικά όλες οι μετρήσεις των ανδρών είναι μεγαλύτερες από εκείνες των γυναικών. Τα αποτελέσματα προτείνουν ότι αυτή η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να καθορίσει το φύλο σε περιπτώσεις όπου τα σκελετικά υπολείμματα είναι αποσπασματικά. Είναι σαφής η χρησιμότητα αυτής της μεθόδου για το πεδίο της Δικαστικής Ανθρωπολογίας. Η έρευνα αυτή συνεχίζεται μελετώντας την δυνατότητα εφαρμογής των εξισώσεων σε αρχαιολογικούς σκελετούς.

**STUDY OF THE SEXUAL DIMORPHISM IN THE METATARSAL BONES OF  
THE MODERN GREEK HUMAN SKELETAL POPULATION (THE ATHENS  
COLLECTION)**

*Mountrakis K., Eliopoulos C., Koilias Chr.\*, and S.K. Manolis*

*Dept of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, National & Kapodistrian  
University of Athens, Panepistimiopolis 15784 Athens, Greece, \*Dept of Informatics,  
Technological Institution of Athens, Ag. Spyridonos Str, 12210 Aegaleo Attica, Greece.  
Email: [smanol@biol.uoa.gr](mailto:smanol@biol.uoa.gr) , [ckoilias@teiath.gr](mailto:ckoilias@teiath.gr)*

Sex determination in skeletal remains performed by forensic anthropologists or bioarchaeologists typically relies on the analysis of quantitative and qualitative characteristics of bone. In this regard, the most widely used landmarks belong to the pelvic and cranial areas, but these are often not available in forensic or archaeological contexts. The objective of this study is to determine the extent of dimorphism exhibited by the metatarsal bones in order to determine their utility in the determination of sex in skeletal remains of Greek populations. A further objective is the development of linear discriminant function equations for sex determination based metatarsals from a contemporary Greek population. The skeletal sample used in this study is comprised of 1595 metatarsals (left and right), corresponding to 186 adult individuals (97 males, 89 females). Only adults were included in the sample. The mean age is 57.9 (range: 24 – 96 years) and 59.9 (range: 20–99 years) for males and females respectively. Seven measurements were taken from each metatarsal. Subsequent to the collection of these data, their descriptive summary statistics were calculated, followed by a sexual dimorphism index (SDI). The data were then analyzed using discriminant function analysis, from which equations for assigning sex were created. The results of this research project indicate that metatarsals can be useful bones for sexing skeletons of Greek origin with generally high probability (79.6% to 90.8%). This high probability arises from the differences in body size between males and females. The difference in body size, or sexual dimorphism, of the metatarsals, is confirmed by the results of the SDI, which indicates dimorphism which ranges between 6.7% to 15.0%. As such, the study carried out on the material of the Athens Collection indicates that generally all of the male measurements are greater than the respective female. The results also suggest that, based on its high probability, this method may be used to determine sex in situations where skeletal remains are fragmentary or incomplete. Thus the primary utility of this method is within medico-legal contexts. However, further studies are in preparation for the testing of the applicability of this model to archaeological remains.

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΦΥΛΟΥ ΜΕ ΔΙΑΧΩΡΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ  
ΜΕΤΡΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΤΗΣ ΕΠΙΓΟΝΑΤΙΔΑΣ, ΑΣΤΡΑΓΑΛΟΥ ΚΑΙ  
ΦΤΕΡΝΑΣ ΑΠΟ ΤΗ ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΣΚΕΛΕΤΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ**

*Μπαλανίκα Α., Ηλιόπουλος Κ., Κοίλιας Χ.\* και Σ.Κ. Μανώλης*

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό &  
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 84 Αθήνα. \*Τμήμα  
Πληροφορικής, ΤΕΙ Αθήνας, Οδός Αγ. Σπυρίδωνος Αιγάλεω Αττικής.*

*Email: [smanol@biol.uoa.gr](mailto:smanol@biol.uoa.gr) , [ckoilias@teiath.gr](mailto:ckoilias@teiath.gr)*

Η μελέτη του φυλετικού διμορφισμού, ως χαρακτηριστικού των ανθρώπων είναι ένα θέμα που έχει απασχολήσει πολλούς ερευνητές στη Βιολογική και Δικαστική Ανθρωπολογία. Ο λόγος είναι προφανής. Αν υπάρχει φυλετικός διμορφισμός, τότε μπορούμε να προχωρήσουμε στον προσδιορισμό του φύλου, που είναι μια σημαντική και αναγκαία δημογραφική παράμετρος στη μελέτη των ανθρώπινων σκελετικών υπολειμμάτων. Παραδοσιακά, εφόσον ο σκελετός είναι πλήρης, η λεκάνη και το κρανίο, επιτρέπουν έναν ασφαλή προσδιορισμό, όμως τι κάνουμε όταν αυτά τα σκελετικά στοιχεία είναι απόντα; Η παρούσα εργασία προσπαθεί να δώσει μια απάντηση αναλύοντας τα βιομετρικά δεδομένα της επιγονατίδας, του αστραγάλου και της φτέρνας. Αυτά τα 3 μικρά οστά συνήθως είναι παρόντα και η μελέτη τους έχει δώσει προσδιορισμό φύλου σε άλλους πληθυσμούς. Σκοπός της εργασίας είναι να διερευνήσουμε τον βαθμό φυλετικού διμορφισμού και να δημιουργήσουμε εξισώσεις διαχωριστικής ανάλυσης για προσδιορισμό του φύλου. Το σκελετικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε προέρχεται από την σύγχρονη συλλογή αναφοράς του Τομέα Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου που αποτελείται από 225 σκελετούς γνωστού φύλου και ηλικίας θανάτου. Λήφθηκαν 6 μετρήσεις από την πτέρνα, τρεις από τον αστράγαλο και 6 από την επιγονατίδα. Τα μετρικά δεδομένα αναλύθηκαν με Διαχωριστική Ανάλυση κι εξάχθηκαν οι εξισώσεις προσδιορισμού του φύλου. Από τα αποτελέσματα προέκυψαν πολύ υψηλά ποσοστά σωστής ταξινόμησης, τα οποία αναφέρονται συνολικά στον παρακάτω πίνακα.

Οστό	Αριστερή πλευρά		Δεξιά πλευρά		Συνολικά ποσοστά	
	Ανδρες	Γυναίκες	Ανδρες	Γυναίκες	Αριστερά	Δεξιά
<b>Φτέρνα</b>	85,05%	88,33%	86,60%	92,15%	86,40%	88,70%
<b>Αστράγαλος</b>	81,42%	86,25%	83,33%	87,01%	84,00%	85,20%
<b>Επιγονατίδα</b>	85,00%	90,60%	86,84%	87,80%	87,50%	87,30%

Οι εξισώσεις διαχωριστικής ανάλυσης που παρήχθησαν επιτυγχάνουν υψηλά ποσοστά επιτυχούς ταξινόμησης και συνεπώς μπορούν να χρησιμοποιηθούν για το προσδιορισμό του φύλου σε άγνωστο σκελετικό υλικό (αρχαιολογικό ή σύγχρονο).

**SEX DETERMINATION BY DISCRIMINANT ANALYSIS OF THE PATELLA,  
TALUS AND CALCANEUS BIOMETRICAL DATA FROM THE ATHENS  
COLLECTION**

*Balanika K., Eliopoulos C., Koilias Chr.\*, and S.K. Manolis*

*<sup>1</sup>Dept of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, National & Kapodistrian  
University of Athens, Panepistimiopolis 15784 Athens, Greece,*

*\*Dept of Informatics, Technological Institution of Athens, Ag. Spyridonos Str, 12210  
Aegaleo Attica, Greece. Email: [smanol@biol.uoa.gr](mailto:smanol@biol.uoa.gr) , [ckoilias@teiath.gr](mailto:ckoilias@teiath.gr)*

The study of sexual dimorphism as a human characteristic is a topic of interest for biological and forensic anthropologists for obvious reasons. If there is sexual dimorphism, then the determination of sex can be achieved. This is an important and necessary parameter in the study of human skeletal remains. Traditionally and when the skeleton is complete, the pelvis and skull are adequate for an accurate determination of sex. What happens when these skeletal elements are absent? The present work aims at providing an answer by analyzing biometric data from the patella, talus and calcaneus. These three small bones are usually present and their study has resulted in sex determination in other populations. The goal of this study is to investigate the degree of sexual dimorphism and generate discriminant function equations for the determination of sex. The skeletal sample used is derived from the modern reference collection of the Department of Animal and Human Physiology which consists of 225 skeletons of known age and sex. Six measurements were taken from the patella, three from the talus and six from the calcaneus. The metric data were processed with discriminant analysis and sex determination equations were derived. The results produced very high levels of correct classification and are presented in the following table.

Bone	Left side		Right side		Total	
	Males	Females	Males	Females	Left side	Right side
<b>Calcaneus</b>	85,05%	88,33%	86,60%	92,15%	86,40%	88,70%
<b>Talus</b>	81,42%	86,25%	83,33%	87,01%	84,00%	85,20%
<b>Patella</b>	85,00%	90,60%	86,84%	87,80%	87,50%	87,30%

The discriminant function equations generated by this study have very high percentages of correct classification and therefore can be used for the determination of sex in unknown skeletal material from Greece, either archaeological or modern.

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΜΕΡΙΚΗΣ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΟΥ  
ΙΧΘΥΕΛΑΙΟΥ ΜΕ ΕΛΑΙΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΣΤΙΣ HSP70 ΚΑΙ HSP90  
ΣΤΟ ΗΠΑΡ ΤΗΣ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ (*SPARUS AURATA*)**

**Μπαχαρίδης Π.Κ.<sup>1</sup>, Φουντουλάκη Ε.<sup>2</sup>, Αντωνοπούλου Ε.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη.

<sup>2</sup>Ινστιτούτο Υδατοκαλλιέργειών, ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε., Αγ. Κοσμάς, Αθήνα.

Η συνεχής μείωση των ιχθυαποθεμάτων σε συνδυασμό με τη διαρκή αύξηση των υδατοκαλλιέργειών καθιστούν αναγκαία τη μερική υποκατάσταση ή ακόμη και την πλήρη αντικατάσταση των ιχθυελαίων και ιχθυαλεύρων με έλαια και άλευρα φυτικής προέλευσης. Το εγχείρημα συναντά δυσκολίες ως προς τη συμβατότητα της φυτικής τροφής και την ανεκτικότητα του εκτρεφόμενου είδους σε αυτήν. Οι πρωτεΐνες θερμικής καταπόνησης (Hsp) επάγονται εκτός από τα θερμικά πλήγματα και από άλλου είδους καταπονήσεις, όπως οξειδωτική καταπόνηση και συμβάλλουν στη σωστή αναδίπλωση πρωτεϊνών που φέρουν βλάβες. Στην παρούσα εργασία διερευνάται η επίδραση της υποκατάστασης σε ποσοστό 70% του ιχθυελαίου με σογιέλαιο, φοινικέλαιο και έλαιο ελαιοκράμβης στις πρωτεΐνες Hsp70 και Hsp90 στο ήπαρ της τσιπούρας (*Sparus aurata*), μετά από 5<sup>1/2</sup> μήνες σίτισης. Εν συνεχεία, όλες οι ομάδες σιτίστηκαν με σιτηρέσιο ιχθυελαίου για τέσσερις μήνες και ακολούθησαν δειγματοληψίες σε διαστήματα ενός και τριών μηνών. Από τα αποτελέσματα δεν παρατηρήθηκε στατιστική διαφορά στις Hsp 70 και 90 στα σιτηρέσια μετά την πάροδο των 5<sup>1/2</sup> μηνών στο ήπαρ της τσιπούρας. Στατιστική διαφορά δεν παρατηρήθηκε εντός των ομάδων ούτε μετά τη σίτιση όλων των ομάδων με ιχθυέλαιο. Εντούτοις, αξίζει να σημειωθεί η εμφάνιση ενός προτύπου έκφρασης και για τις δύο πρωτεΐνες ανάμεσα στις δίαιτες με τα φυτικά έλαια. Συγκεκριμένα, η έκφραση των Hsp 70 και 90 επάγεται περισσότερο στην ομάδα που σιτιζόταν με φοινικέλαιο και ακολουθούν οι ομάδες σογιέλαιου και ελαίου ελαιοκράμβης. Επίσης, παρόλο που η σίτιση με φυτικά έλαια μετέβαλε τη σύσταση του ήπατος σε λιπαρά οξέα και επέδρασε στην ιστολογική του εικόνα, εντούτοις τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας δε συνηγορούν σε καταπόνηση του οργάνου. Για την πληρέστερη διερεύνηση των επιπτώσεων της χρήσης φυτικών ελαίων σε σιτηρέσια για τη τσιπούρα, ο προσδιορισμός της φωσφορύλιωσης μελών της οικογένειας των MAPK's κρίνεται απαραίτητος.

**STUDYING THE EFFECTS OF PARTIAL SUBSTITUTION OF FISH OIL WITH  
PLANT OIL SOURCES ON THE HSP70 AND HSP90 IN THE LIVER OF  
GILTHEAD SEA BREAM (*SPARUS AURATA*)**

*Baharidis P.K.<sup>1</sup>, Fountoulaki E.<sup>2</sup>, Antonopoulou E.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Department of Zoology, School of Biology, A.U.Th., Thessaloniki*

<sup>2</sup>*Hellenic Centre for Marine Research, Ag. Kosmas, Athens*

The constant decrease of the fish stocks in combination with the increasing aquaculture lead to the necessity of partial substitution or even total replacement of the fish oils and fish meal with oil and meal from plant sources. This effort is difficult due to the compatibility of the plant source along with the tolerance of the farmed species to it. The heat shock proteins (Hsp) are not only induced by heat shocks, but also from other stress parameters, such as oxidative stress, and contribute to the correct folding of damaged proteins. At the present study we examine the effect of the partial substitution (70%) of fish oil by soy oil, palm oil or rapeseed oil on the Hsp90 and Hsp70 in the liver of the gilthead sea bream after 5<sup>1/2</sup> months of feeding. Afterwards, all groups were fed with fish oil diet for four months and samples were taken after one and three months. From the results of the Western blotting, no statistical difference was observed on the Hsp's 70 and 90 in the liver of the gilthead sea bream among the different diets after 5<sup>1/2</sup> months. No statistical difference was found between the groups, even after all fish were fed with fish oil diet. However, noteworthy is an observed pattern between the plant oil diets, with a rise of Hsp70 and Hsp90 in palm oil followed by the soy oil and rapeseed oil diet. Moreover, although feeding with plant oil modified the composition of the liver in fatty acids and had an effect on the histological appearance, the present results did not support to a hepatic stress due to plant oil diet. In order to get a complete picture of the effects of fish oil substitution with plant oils in the diets of gilthead sea bream, the phosphorylation of different members of the MAPK family demands further investigation.

**ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΚΑΡΔΙΑΚΩΝ ΒΑΛΒΙΔΩΝ ΚΑΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ  
ΜΟΝΤΕΛΑ ΚΑΡΔΙΟΠΑΘΕΙΩΝ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΩΝΤΑΣ ΤΟ ZEBRAFISH***Μπέης Δ.\***Αναπτυξιακή Βιολογία, Ιδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών, Ακαδημία Αθηνών*

Η ελλατωματική ανάπτυξη καρδιακών βαλβίδων έχει συνδεθεί με την πλειονότητα των συγγενών καρδιακών ασθενειών. Οι καρδιακές βαλβίδες προέρχονται από κύτταρα ενδοκαρδίου, σχηματίζονται κατά μήκος του πρόσθιου- οπίσθιου άξονα της καρδιάς και λειτουργούν προκειμένου να αποφεύγεται η παλινδρόμηση της κυκλοφορίας του αίματος. Πολλά γονίδια εμπλέκονται στην ανάπτυξη καρδιακών βαλβίδων και η αυστηρή ρύθμιση της έκφρασής τους στον χρόνο και τον χώρο είναι επιβεβλημένη για τον σωστό σχηματισμό και την λειτουργία τους. Η καρδιά του zebrafish (*Danio Rerio*) παρέχει πολλά πλεονεκτήματα για την μελέτη μορφοποίησης καρδιακών βαλβίδων σε κυτταρικό επίπεδο, με σημαντικότερα την εξωτερική ανάπτυξη των εμβρύων (σε αντίθεση με τα θηλαστικά και τα πτηνά), την διαφάνεια των εμβρύων (που επιτρέπει τη μικροσκοπία πραγματικού χρόνου, *in vivo*) και την εφαρμογή γενετικών μεθόδων σε μεγάλη κλίμακα. Έχουμε απομονώσει μεταλλαγμένες σειρές οι οποίες παρουσιάζουν παλινδρόμηση αίματος με σκοπό την ανακάλυψη νέων γονιδίων και βιοχημικών μονοπατιών τα οποία εμπλέκονται στην ανάπτυξη των καρδιακών βαλβίδων. Σε μία από αυτές τις σειρές, η μετάλλαξη βρίσκεται στο γονίδιο GARS, την συνθετάση του αμινοάκυλ tRNA της Γλυκίνης. Μεταλλάξεις στο αντίστοιχο γονίδιο στον άνθρωπο προκαλούν μια περιφερειακή νευροπάθεια γνωστή ως Charcot-Marie-Tooth. Σε μία άλλη σειρά, εντοπίσαμε μετάλλαξη στο γονίδιο της α-βαριά αλυσίδα της μυοσίνης (*myh6*), το οποίο στον άνθρωπο έχει συνδεθεί με την ελλατωματική ανάπτυξη του μεσοκοιλιακού διαφράγματος. Σε αυτό το πειραματικό μοντέλο τα έμβρυα αναπτύσσονται μόνο με έναν λειτουργικό καρδιακό θάλαμο (την κοιλία), αλλά η ανάπτυξη της κοιλίας και των καρδιακών βαλβίδων αποκλίνει από το φυσιολογικό. Παράλληλα, παρέχεται η δυνατότητα να μελετήσουμε την ανάπτυξη της καρδιάς *in vivo* κάτω από συνθήκες μη φυσιολογικής ροής και συσταλτικότητας.

*(\*) προσκεκλημένος ομιλητής*



## ZEBRAFISH MODELS OF CARDIAC VALVE DEVELOPMENT AND DISEASE

*Beis D.\**

*Developmental Biology, Biomedical Research Foundation, Academy of Athens*

Cardiac valves derive from endocardial cells and function throughout the life of vertebrates to prevent retrograde blood flow. We have published a detailed description of the cellular architecture of the zebrafish heart during stages of atrio-ventricular valve development, using gfp transgenic lines, immuno-fluorescence and confocal microscopy. We showed that the differentiation of the atrio-ventricular canal involves endocardial-myocardial interactions and that it relies on heart function. We also showed that Notch and calcineurin signaling are required for the regulation of the initial stages of zebrafish endocardial cushion formation, analogous to some of the mutants we identified in a large-scale forward genetic screen. These mutations disrupt atrio-ventricular valve development at discrete stages, indicating that such a complex morphogenetic process can be broken down into genetically separable steps. In mammals, endocardial cushion development has been linked to the etiology of atrial and ventricular septal defects and of atrio-ventricular canal defects. Zebrafish offers the possibility of forward genetics and study of gene function at the cellular level. The long-term aim of our efforts is to find out how heart valves form and function throughout the life of vertebrates. We have identified a mutation in the glycyl t-RNA synthetase (GARS). Heterozygous mutations in the human orthologue are responsible for an adult onset distal neuropathy, Charcot Marie Tooth disease (CMT) type 2D. The mutation in our animal model (T130K) resides next to a previously described human mutation (L129P). We have also identified two novel alleles of *weak atrium* that carry premature stop codons in the alpha-myosin heavy chain (*myh6*) and develop pericardial edema and atrioventricular valve stenosis by 60 hours post fertilization. However when the pericardial edema is released, we are able to raise adult animals, providing us with an *in vivo* model to look further into how function influences form during valve morphogenesis. We show that a one-chamber heart is able to support circulation throughout development and during adult stages of zebrafish. However, the changes in atrial contractility interfere with the remodelling of the atrioventricular valves.

*(\*) invited speaker*

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ ΠΟΥ  
ΠΡΟΣΔΕΝΟΝΤΑΙ ΣΤΗ ΝΟΥΚΛΕΟΛΙΝΗ ΤΗΣ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΣ ΤΟΥ  
ΚΥΤΤΑΡΟΥ****Μπίρμπας Χ.<sup>1</sup>, Courty J.<sup>2</sup> και Π. Κατσώρης<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών. <sup>2</sup>University Paris 12, Dept. of Biology,  
Paris, France.

Το HB-19 είναι ένα συνθετικό πεπτιδίο που προσδέεται 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 δρά 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 τον *in vitro* πολλαπλασιασμό των κυττάρων HUVEC. Το πεπτιδίο αυτό παρουσιάζει *in vivo* ογκοκατασταλτική δράση και βρέθηκε να αναστέλλει την αγγειογένεση στο σύστημα της χοριοαλλαντοϊδικής μεμβράνης εμβρύου όρνιθας. Επίσης αναστέλλει τη μετανάστευση των κυττάρων HUVEC στο *in vitro* σύστημα μελέτης της μετανάστευσης Boyden chamber και αναστέλλει την έκφραση διαφόρων αγγειογενετικών αυξητικών παραγόντων όπως ο FGF, VEGF και των υποδοχέων τους σε επίπεδο mRNA. Το HB-19 επηρεάζει την έκφραση των μεταλλοπρωτεϊνών MMP-2 και MMP-9 οι οποίες εμπλέκονται στη διαδικασία της αγγειογένεσης καθώς και των αναστολέων τους TIMP-1 και TIMP-2 τόσο σε επίπεδο πρωτεϊνών όσο και σε επίπεδο έκφρασης γονιδίων. Το HB-19 δεσμεύεται στη νουκλεολίνη της επιφάνειας του κυττάρου και φαίνεται ότι την άσκηση των βιολογικών του δράσεων διαμεσολαβούν οι κινάσες SRC, ERK1/2, AKT και FAK 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. Το πεπτιδίο N6 αναστέλλει τον *in vitro* πολλαπλασιασμό των κυττάρων HUVEC και τη μετανάστευση των κυττάρων αυτών στο *in vitro* σύστημα μελέτης της μετανάστευσης Boyden chamber. Συνοψίζοντας τα παραπάνω αποτελέσματα, φαίνεται ότι το HB-19 και οι τροποποιημένες του μορφές εμφανίζουν βιολογικές δράσεις που τα καθιστούν υποψήφια μόρια για αντινεοπλασματική χρήση.

**STUDY OF THE ANTI ANGIOGENIC ACTION OF PEPTIDES THAT BIND  
TO CELL SURFACE EXPRESSED NUCLEOLIN**

*Birmpas Ch.<sup>1</sup>, Courty J.<sup>2</sup>, and P. Katsoris<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Department of Biology, University of Patras, <sup>2</sup>University 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* cell proliferation of HUVEC cells. Furthermore, HB-19 inhibits the *in vivo* tumor growth and angiogenesis on the chicken embryo CAM assay. The peptide inhibits the *in vitro* cell migration (Boyden chamber assay) and the mRNA expression of FGF, VEGF and their receptors in HUVEC cells. HB-19 induces the activation of MMP-2 and MMP-9 as well as TIMP-1 and TIMP-2 in the level of gene and protein expression. HB-19 binds to cell surface expressed nucleolin and in its biological action possibly involved SRC, ERK1/2, AKT and FAK 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. Furthermore, N6 inhibits the *in vitro* cell proliferation of HUVEC cells and cell migration (Boyden chamber assay). Taken together, these results indicate that HB-19 and the modified forms of it could constitute an interesting tool for tumor therapy strategy.

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΑΠΟ ΚΙΝΗΤΟ ΤΗΛΕΦΩΝΟ ΚΑΙ  
ΑΠΟ ΓΕΝΝΗΤΡΙΑ ΡΑΔΙΟΣΥΧΝΟΤΗΤΩΝ ΣΤΗΝ ΩΟΓΕΝΕΣΗ ΤΟΥ  
ΕΝΤΟΜΟΥ *Drosophila virilis***

**Μύαρη Α., Μπάρκας Π.Γ., Χαβδούλα Ε., Μαργαρίτης Α.Χ.**

Εργαστήριο Βιοφυσικής Ακτινοβολιών, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου &  
Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη 157  
84, Αθήνα. E-mail: [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)

Μελέτες που έχουν γίνει μέχρι τώρα από την ερευνητική μας ομάδα με χρήση κινητού (RF παλμικά πεδία) και πρόσφατα ασύρματου τηλεφώνου έχουν δείξει ότι η μη ιονίζουσα Η/Μ ακτινοβολία προκαλεί βλάβες σε κυτταρικό επίπεδο κατά την ωογένεση σε έντομα. Στόχος της παρούσας εργασίας είναι να διερευνηθεί η επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας που εκπέμπεται κατά τρόπο συνεχή από γεννήτρια με φέρουσα συχνότητα 900MHz και ένταση 10V/m σε σύγκριση με την ακτινοβολία κυμαινόμενης έντασης που εκπέμπεται από κινητό στην ίδια συχνότητα. Ως βιολογικό υλικό χρησιμοποιήθηκε το δίπτερο έντομο *D. virilis*. Το πειραματόζωο εκτέθηκε στο κοντινό πεδίο της κεραίας της γεννήτριας (ή του κινητού τηλεφώνου αντίστοιχα) κατά τη διάρκεια των 4 πρώτων ημερών της ενήλικης ζωής του, ακολουθώντας δύο διαφορετικά πρότυπα: 1) μία έκθεση των 6 min ημερησίως, 2) τρεις εκθέσεις ημερησίως των 6 min η καθεμία με ενδιάμεσο διάστημα διακοπής 15 min. Επιπλέον, εξετάστηκε η επίδραση μίας και μοναδικής έκθεσης των 6 min που έλαβε χώρα κατά την 4<sup>η</sup> ημέρα. Ακολούθησε ανατομία των θηλυκών εντόμων με στόχο τη διερεύνηση του επαγόμενου κυτταρικού θανάτου στα ωοθυλάκια διαφόρων σταδίων της πρώιμης και μέσης ωογένεσης, με χρώση με πορτοκαλί της ακριδίνης και παρατήρηση σε μικροσκόπιο φθορισμού ή CLSM. Τα μέχρι τώρα αποτελέσματα καταδεικνύουν αύξηση του ποσοστού των ωοθυλακίων με θετικό σήμα αποδομημένου DNA στα κύτταρά τους, στην περίπτωση των εκτεθειμένων δειγμάτων σε σύγκριση με τα δείγματα μάρτυρες, αλλά όχι στο βαθμό που έχει παρατηρηθεί με επίδραση κινητού. Αυτό σημαίνει ότι η ασυνεχής εκπομπή ακτινοβολίας από συμβατικό κινητό τηλέφωνο είναι πιο δραστική από τη συνεχή εκπομπή με γεννήτρια, διαδικασία που χρησιμοποιείται στην πλειονότητα των δημοσιευμένων ερευνών διεθνώς.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς την Ερευνητική Ομάδα του Καθηγητή Α.Χ. Μαργαρίτη.

**COMPARATIVE EFFECT OF RADIOFREQUENCY GENERATOR CONSTANT  
EMISSION AND MOBILE PHONE RADIATION ON *DROSOPHILA VIRILIS*  
OOGENESIS**

**Miari A., Mparkas P.G., Chavdoula E., Margaritis L.H.**

*Radiation Biophysics Lab., Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology,  
University of Athens, Panepistimiopolis 157 84, Athens. Email: [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)*

According to previous experiments of our laboratory non-ionizing, mobile phone, radiation (RF pulsed fields) as well as DECT cordless radiation has been proved to be responsible for external damage in cell functions. The purpose of the present study was to investigate the possible effects of constant generator emission with a carrier frequency at 900 MHz and intensity of 10V/m on the process of *Drosophila virilis* oogenesis. The insects were exposed in the near field of the generator antennae during the first 4 days of their adult lives, following two different patterns: 1) one 6 min daily exposure, 2) 3 daily exposures of 6 min each with 15 min intervals between them. We also examined the effect of a unique 6 min exposure that took place during the 4th day. Ovaries from female insects were then dissected in order to detect the percentage of induced cell death in the egg chambers cells of the early and mid oogenesis (cell death does not physiologically occur) by using the acridine orange staining method. Our results reveal an increased percentage of DNA fragmentation in the egg chambers cells in the case of exposed, compared to sham-exposed groups. It is noteworthy that the extent of DNA damage is less than the one observed in the experiments using a common digital mobile phone. According to current data, the effects of GSM-900 MHz signals, which are never constant, have been proved to be more bioactive, since they provide continuous changes in their intensity and frequency, contrary to the constant generator emission, which is used by the majority of the research groups.

*This study was financed by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to the Research Group of Professor L.H. Margaritis.*

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΣΧΕΣΕΩΝ ΜΕΤΑΞΥ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ ΚΑΙ  
ΥΒΡΙΔΙΩΝ ΚΡΙΘΑΡΙΟΥ ΜΕ ΜΟΡΙΑΚΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ RAPD**

**Μυλωνάς Ι.Γ.<sup>1</sup>, Γεωργιάδης Α.<sup>2</sup>, Αποστολίδης Α.Π.<sup>2</sup>, Μλαδενόπουλος Κ.<sup>3</sup> και Μ.  
Κούτσικα-Σωτηρίου <sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης των Φυτών, Σχολή Γεωπονίας, Α.Π.Θ., 541  
24 Θεσ/νίκη. <sup>2</sup>Τομέας Ζωικής Παραγωγής, Σχολή Γεωπονίας, Α.Π.Θ.

<sup>3</sup>Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας (ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε.) Ινστιτούτο Σιτηρών, 570 01  
Θέρμη, Θεσ/νίκη

Μελετήθηκε η διαφοροποίηση και η γενετική ποικιλομορφία μεταξύ ποικιλιών και υβριδίων κριθαριού με μοριακούς δείκτες RAPD. Το φυτικό υλικό αποτελούνταν από πέντε ποικιλίες κριθαριού, την Αθηναΐδα, τη Δήμητρα, την Κω, τη Νίκη και την Περσεφόνη και από τα μεταξύ τους F<sub>1</sub> υβρίδια. Αρχικά εξετάστηκαν δέκα εκκινητές οι οποίοι πολλαπλασιάστηκαν με τη βοήθεια της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR). Από αυτούς με βάση την ένταση, την επαναληψιμότητα και τη διακριτική ανάλυση των ζωνών τους επιλέχθηκαν οι ακόλουθοι τέσσερις: OPH-12, OPB-10, OPB-18, και OPB-20. Οι εκκινητές αυτοί αποκάλυψαν διαγνωστικά πρότυπα για την κάθε ποικιλία-γονέα και για τέσσερα από τα δέκα F<sub>1</sub> υβρίδια. Επιπλέον, πιστοποίησαν τη γυρεοδότη ποικιλία σε όλα τα υβρίδια. Ακόμη υπολογίσθηκε η γενετική απόσταση μεταξύ των πέντε ποικιλιών-γονέων και κατασκευάσθηκε δενδρόγραμμα με τη βοήθεια του αλγόριθμου UPGMA. Συμπερασματικά, οι μοριακοί δείκτες RAPD μπορούν να χρησιμοποιηθούν με επιτυχία ως συμπληρωματικό εργαλείο στη βελτίωση των φυτών, τόσο στην αναγνώριση ποικιλιών και υβριδίων κριθαριού, όσο και στην πιστοποίηση της επιτυχίας των διασταυρώσεων μεταξύ των ποικιλιών.

**GENETIC RELATIONSHIPS BETWEEN FIVE BARLEY'S (*Hordeum vulgare* L.)  
VARIETIES AND THEIR F<sub>1</sub> HYBRIDS USING RAPD MARKERS**

***Mylonas I.G.<sup>1</sup>, Georgiadis A.<sup>2</sup>, Apostolidis A.P.<sup>2</sup>, Bladenopoulos K.<sup>3</sup>, and M.  
Koutsika-Sotiriou <sup>1</sup>***

*<sup>(a)</sup>Department of Genetics and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Aristotle University  
of Thessaloniki, 541 24 Thessaloniki <sup>(b)</sup>Department of Animal Production, Faculty of  
Agriculture, Aristotle University of Thessaloniki <sup>(c)</sup>National Agricultural Research  
Foundation (N.A.G.R.E.F.), Institute of Cereals, 570 01 Thermi-Thessaloniki*

In the present study the Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) technique was applied to five barley varieties (Athenaida, Dimitra, Kos, Niki and Persephone) and their F<sub>1</sub> hybrids. The aim of the study was to evaluate the efficiency of RAPDs in detecting genetic variation levels and in discriminating the five varieties along with their F<sub>1</sub> hybrids. For this purpose, 10 primers were used. Primers were evaluated on the basis of intensity or resolution of bands, repeatability of markers and consistency within individuals. Based on the previous remarks four of them were selected: OPH-12, OPB-10, OPB-18 and OPB-20. These primers were able to discriminate all five varieties (parents) and four out of ten of F<sub>1</sub> hybrids. Moreover, they certified the paternity of all hybrids. Furthermore, genetic distances between the five varieties (parents) were calculated and a dendrogram was constructed using the UPGMA algorithm. Deductively, RAPD markers could be successfully used as an additional tool in plant breeding programs, i.e. for the identification of barley's varieties and F<sub>1</sub> hybrids, as well as for the certification of crossing between varieties.

**ΕΞΑΠΛΩΣΗ ΤΩΝ ΔΥΟ ΙΣΟΜΟΡΦΩΝ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ  
ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ COUP-TF ΣΤΑ ΔΕΥΤΕΡΟΣΤΟΜΙΑ****Μυρίσσα Α., Πέττα Ι. και Κ.Ν. Φλυτζάνης**

Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Τμήμα Βιολογίας,  
Σχολή Θετικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα, 26500.

Ο COUP-TF (Chicken Ovalbumin Upstream Promoter-Transcription Factor) είναι ένας ορφανός πυρηνικός υποδοχέας μέλος της υπεροικογένειας των στεροειδών-θυρεοειδών-ρετινοειδών υποδοχέων. Τα γονίδια COUP-TF παρουσιάζουν εξαιρετική νουκλεοτιδική συντηρητικότητα μεταξύ των φύλων των μεταζώων. Μία χαρακτηριστική θέση ματίσματος του COUP-TF, στη καρβοξυτελική επέκταση της επικράτειας πρόσδεσης στο DNA (DBD) και όχι εντός αυτής όπως συμβαίνει σε άλλους πυρηνικούς υποδοχείς, είναι επίσης συντηρημένη μεταξύ των μεταζώων. Στο Μεσογειακό αχινό *Paracentrotus lividus*, ένα μικρό εξόνιο 63 νουκλεοτιδίων το οποίο βρίσκεται μέσα στο μεγάλο πρώτο εσόνιο (μεγέθους 12kbp), ματίζεται εναλλακτικά σε αυτή τη θέση παράγοντας δύο μεταγράφα και συνεπώς δύο πρωτεΐνες. Η εισαγωγή του εξονίου των 21 αμινοξέων στο πλαίσιο ανάγνωσης, καθιστά τη παραγόμενη μεγάλη ισομορφή της πρωτεΐνης COUP-TF ανίκανη για πρόσδεση στο DNA. Και οι δύο ισομορφές εντοπίζονται σε εμβρυϊκούς και ενήλικους ιστούς του αχινού *P. lividus*. Ένα ζεύγος εκκινητών κατασκευάστηκε με βάση τις πιο συντηρημένες αλληλουχίες των περιοχών DBD και LBD του μοναδικού γονιδίου COUP-TF του αχινού *P. Lividus*, έτσι ώστε το παραγόμενο προϊόν να περιλαμβάνει την περιοχή στην οποία εμφανίζεται το εναλλακτικό μάτισμα. Χρησιμοποιώντας αυτούς τους εκκινητές πραγματοποιήθηκαν αντιδράσεις RT-PCR με υπόστρωμα ολικό RNA από εμβρυϊκούς ή ενήλικους ιστούς διαφόρων ζώων που ανήκουν στα δευτεροστόμια. Έτσι το εναλλακτικό μάτισμα μελετήθηκε σε ορισμένα ασπόνδυλα όπως στα Εχινόδεσμα και στις αδελφές τους ομάδες και σε σπονδυλωτά όπως στους ιχθύες και στα θηλαστικά. Στα πειραματικά δεδομένα που συλλέχθηκαν προστίθεται και ένας μεγάλος αριθμός αλληλουχιών COUP-TF (γενομικών ή ESTs) από μια πληθώρα αλληλουχημένων γονιδιωμάτων οι οποίες αναλύθηκαν *in silico*, με σκοπό να καθοριστεί είτε αν η παρουσία του μικρού εξονίου στον αχινό είναι πιο γενικευμένη, ή αν δημιουργούνται εναλλακτικά προϊόντα στη συγκεκριμένη θέση ματίσματος σε άλλους οργανισμούς. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης έδειξαν ότι η παρουσία των δύο εναλλακτικά ματισμένων μεταγράφων COUP-TF είναι συντηρημένη στο φύλο των Εχινόδεσμων και σε συγγενείς ομάδες δευτεροστομίων.



## ALTERNATIVE SPLICING OF COUP-TF WITHIN DEUTEROSTOMES

*Myrissa A., Petta I., and C.N. Flytzanis*

*Division of Genetics, Cellular Biology and Development, Department of Biology,  
School of Natural Sciences, University of Patras, 26 500 Patras, Greece*

COUP-TF (Chicken Ovalbumin Upstream Promoter-Transcription Factor) is an orphan nuclear receptor, member of the steroid-thyroid-retinoic acid receptor superfamily. COUP-TF genes show extreme sequence conservation within all metazoan phyla. A characteristic COUP-TF splice site, just downstream of the DNA binding domain (DBD) and not within the DBD as in other nuclear receptors, is also conserved within metazoans. In the Mediterranean sea urchin *Paracentrotus lividus*, a small 63nt exon embedded within a 12kbp intron is alternatively spliced at this site generating two transcripts and consequently two protein products. The in frame insertion of the 21aa exon within the carboxyl terminal extension of the DBD, alters the DNA binding properties of the larger protein variant rendering it incapable of binding. Both protein variants are found in embryonic and adult tissues of the sea urchin *P. lividus*. A pair of PCR primers was designed from the most conserved sequences of the DBD and LBD domains of the single *P. lividus* COUP-TF gene, such that the generated product spans the region where the alternative splicing occurs. Using these primers, RT-PCR reactions were carried out with substrate embryonic or adult tissue total RNAs from a variety of animal groups belonging to deuterostomes. Thus, the alternative splicing event was investigated in selected invertebrates such as echinoderms and their sister groups and vertebrates such as fish and mammals. In addition to the collected experimental data, a vast number of COUP-TF sequences (genomic or ESTs) from a plethora of sequenced genomes was analyzed *in silico*, to determine either the presence of the small sea urchin exon in general, or the generation of COUP-TF splice variants at the particular splice site. The results of this study indicate that the presence of COUP-TF splicing variants is mostly restricted within the phylum of echinodermata.

**ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ ΠΡΟΦΛΕΓΜΟΝΩΔΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ CD68 ΚΑΙ MCP-1  
ΜΕ ΤΗΝ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΣΤΗΝ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ.**

*Νικόλαινας Εμ.<sup>1</sup>, Ρόχας Χιλ Α.-Π.<sup>1</sup>, Καρβέλα Α.<sup>1</sup>, Κεχαγιάς Γ.<sup>3</sup>, Αλεξανδρίδης  
Θ.Κ.<sup>2</sup>, Λινός Δ.<sup>4</sup>, Καλφαρέντζος Φ.<sup>3</sup>, Γκρέκα-Σπηλιώτη Β.Ε.<sup>1</sup>*

*Ερευνητικό Εργαστήριο Μονάδας Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας και Διαβήτη<sup>1</sup>,  
Παιδιατρικής Κλινικής, Μονάδα Ενδοκρινολογίας<sup>2</sup>, Παθολογικής Κλινικής,  
Χειρουργική Κλινική<sup>3</sup>, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Πατρών, Πάτρα,  
Χειρουργική Κλινική<sup>4</sup>, Νοσοκομείο Υγείας, Αθήνα*

**Εισαγωγή:** Η παχυσαρκία που συσχετίζεται με ήπια φλεγμονή και με ένα πλήθος μεταβολικών διαταραχών προδιαθέτει σε αθηρωμάτωση και σακχαρώδη διαβήτη τύπου II (ΣΔΙΙ). Το CD68 είναι δείκτης μακροφάγων και το MCP-1 προσελκύει τα μακροφάγα προς τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Τα μόρια αυτά παίζουν ρόλο στην αθηρωμάτωση και είναι αυξημένα στον λιπώδη ιστό παχύσαρκων επίμυων. Επίσης η διείσδυση των μακροφάγων στον λιπώδη ιστό και η δράση των MCP-1 και CD68 έχει συσχετιστεί με αντίσταση στην ινσουλίνη.

**Σκοπός:** Να μελετηθεί η έκφραση των MCP-1 και CD68 στον ενδοκοιλιακό, υποδόριο κοιλιακό και υποδόριο μηριαίο λιπώδη ιστό, σε παχύσαρκα και λεπτόσωμα άτομα με διάφορα επίπεδα ευαισθησίας στην ινσουλίνη.

**Μέθοδοι:** Πρωτογενείς καλλιέργειες προ-λιποκυττάρων από ενδοκοιλιακό (ΕΚ), υποδόριο κοιλιακό (ΥΔΚ), υποδόριο μηριαίο (ΥΔΜ) λιπώδη ιστό, 7 ασθενών με νοσογόνο παχυσαρκία (ΝΠ) και ΣΔ2 (ΝΠΣΔ), 4 με ΝΠ και υπερινσοουλιναιμία (ΥΙ) (ΝΠΥΙ), 6 ΝΠ χωρίς ΣΔ2 ή ΥΙ (ΝΠΧ), και 7 λεπτόσωμων ατόμων (Μ). Μελετήθηκε η έκφραση των MCP-1 και CD68 σε επίπεδο mRNA με RT-PCR.

**Αποτελέσματα:** 1) Παρατηρήθηκε αυξημένη έκφραση του MCP-1 στους ΝΠΣΔ, ΝΠΥΙ και ΝΠΧ σε σχέση με τους Μ στον ΕΚ και ΥΔΚ λιπώδη ιστό. 2) Στον ΕΚ, ΥΔΚ και ΥΔΜ λιπώδη ιστό των ΝΠΥΙ υπήρχε αυξημένη έκφραση του MCP-1 σε σχέση με τους, ΝΠΣΔ, ΝΠΧ και Μ. 3) Η έκφραση του CD68 τείνει να είναι αυξημένη σε όλους τους παχύσαρκους (ΝΠΣΔ, ΝΠΥΙ και ΝΠΧ) σε σχέση με τους Μ στον ΕΚ λιπώδη ιστό. Στον ΥΔΚ και ΥΔΜ λιπώδη ιστό δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην έκφραση του CD68 4) Στον ΕΚ λιπώδη ιστό των ΝΠΣΔ και ΝΠΥΙ η έκφραση του CD68 τείνει να είναι αυξημένη σε σχέση με τους ΝΠΧ και Μ.

**Συμπεράσματα:** Η έκφραση του MCP-1 είναι αυξημένη και του CD68 τείνει να είναι αυξημένη στον ΕΚ λιπώδη ιστό των ατόμων με νοσογόνο παχυσαρκία ειδικά σε αυτούς με αντίσταση στην ινσουλίνη και με ΣΔ ΙΙ. Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι το MCP-1 και το CD68 μπορεί να συνεισφέρουν στην ελαττωματική δράση της ινσουλίνης καθώς και στην εμφάνιση του ΣΔΙΙ στα παχύσαρκα άτομα. Περαιτέρω μελέτες είναι απαραίτητες για να διευκρινιστεί ο μηχανισμός με τον οποίον αυτοί οι παράγοντες μπορεί να επιδρούν στην δράση της ινσουλίνης.

## CORRELATION OF PRO-INFLAMMATORY CD68 AND MCP-1 WITH OBESITY AND INSULIN SENSITIVITY

*Nikolenas Em.<sup>1</sup>, Rojas Gil A.-P.<sup>1</sup>, Karvela A.<sup>1</sup>, Kehagias I.<sup>3</sup>, Alexandrides Th.K.<sup>2</sup>,  
Linos D.<sup>4</sup>, Kalfarentzos F.<sup>3</sup>, Spiliotis B.E.<sup>1</sup>*

*Pediatric Endocrine Research Laboratory<sup>1</sup>, Division of Pediatric Endocrinology and  
Diabetes, Department of Pediatrics, Endocrine Division<sup>2</sup>, Department of Internal  
Medicine, Department of Surgery<sup>3</sup>, University of Patras School of Medicine, Patras, and  
Department of Surgery<sup>4</sup>, Hygeia Hospital, Athens*

**Introduction:** Obesity is closely associated with several metabolic disturbances and with a low-grade inflammation, which may predispose obese individuals to atherosclerosis and diabetes type II (DMII). CD68 is a macrophage marker while MCP1 attracts macrophages to endothelial cells. These molecules play an important role in atherogenesis and are increased in the adipose tissue of obese mice. Macrophage infiltration and the presence of MCP-1 and CD68 have been correlated with insulin resistance.

**Aim:** To examine the expression of MCP-1 and CD68 in obese and lean adults in different states of insulin resistance.

**Methods:** Primary cultures of pre-adipocytes were developed from surgical biopsies of visceral (VS), subcutaneous abdominal (SUB) and subcutaneous gluteal (GL) adipose tissue from 7 morbid obese adults (MO) with DMII (MOD), 4 MO with hypersinsulinemia (HI) (MOH), 6 MO without DMII or HI (MOW), and 7 lean adults (C). The mRNA expression of MCP-1 and CD68 was studied by RT-PCR.

**Results:** 1) Increased mRNA expression of MCP-1 was observed in MOD, MOH and MOW in comparison to C in VS and SB adipose tissue. 2) Increased expression of MCP-1 was increased in VS, SB and GL adipose tissue in MOH in comparison to MOD, MOW and C 3) The expression of CD65 tends to be increased in all the morbid obese groups in comparison to C in VS adipose tissue. In SB and GL adipose tissue no differences in CD68 expression was observed. 4) In VS adipose tissue the expression of CD65 tends to be increased in MOD and MOH in comparison to MOW and C.

**Conclusions:** The expression of MCP-1 is increased and CD68 tends to be increased in the VS adipose tissue of obese subjects with insulin resistance and with DMII. These findings suggest that an increase in MCP-1 and CD68 expression in adipose tissue may contribute to impaired insulin action and DMII. Further investigation is necessary to determine the mechanisms with which these factors may influence insulin action.

**ΕΠΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΑΝΙΟΝΤΩΝ ΣΟΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΟΥ ( $\cdot\text{O}_2^-$ ) ΚΑΙ  
ΝΙΤΡΙΚΩΝ ΟΞΕΙΔΙΩΝ ΣΕ ΑΙΜΟΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΜΥΔΙΟΥ *Mytilus*  
*galloprovincialis* (Lmk.), ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΈΚΘΕΣΗ ΣΕ ΜΙΚΡΟΜΟΡΙΑΚΕΣ  
ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΚΑΔΜΙΟΥ: Η ΠΙΘΑΝΗ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΤΗΣ ΣΥΝΘΑΣΗΣ  
ΤΩΝ ΝΙΤΡΙΚΩΝ ΟΞΕΙΔΙΩΝ, ΩΣ ΚΎΡΙΟ ΈΝΖΥΜΟ ΤΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ  
ΤΗΣ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΗΣ ΈΚΡΗΣΗΣ (RESPIRATORY BURST)**

*Νταϊλιάνης Στ.*

*Τομέας Βιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πάτρας 26 500, Ρίο,  
Πάτρα, Ελλάδα.*

Στην παρούσα εργασία μελετάται η ικανότητα του καδμίου (Cd) να επάγει τη σύνθεση ανιόντων σουπεροξειδίου ( $\cdot\text{O}_2^-$ ) και νιτρικών οξειδίων (NO) σε αιμοκύτταρα του μυδιού *Mytilus galloprovincialis*. Για την αντικειμενική εκτίμηση των αποτελεσμάτων και τη συγκριτική μελέτη τους χρησιμοποιήθηκε ο φωρβολεστέρας PMA, ο οποίος είναι γνωστός διεγέρτης της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC), μέσω της οποίας προκαλεί επαγωγή της δράσης της NADPH οξειδάσης και της NO συνθάσης, κύρια ένζυμα της διαδικασίας της αναπνευστικής έκρηξης των αιμοκυττάρων. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, μικρομοριακές συγκεντρώσεις Cd (0.05, 5, 10 και 50  $\mu\text{M}$ ) επάγουν τη σύνθεση  $\cdot\text{O}_2^-$  και NO, μέσω της ενεργοποίησης των παραπάνω ενζύμων, κατά τη διάρκεια της αναπνευστικής έκρηξης των αιμοκυττάρων. Επιπλέον, η σύνθεση  $\cdot\text{O}_2^-$  προέρχεται όχι μόνο από τη διαδικασία της αναπνευστικής έκρηξης που συμβαίνει στα αιμοκύτταρα, προκειμένου να αντιμετωπιστούν ανοσολογικά οι επιπτώσεις του μετάλλου, αλλά και μέσω της οξειδωτικής δράσης και της ικανότητάς του να επάγει τη δημιουργία ελευθέρων ριζών οξυγόνου (ROS). Συγκεκριμένα, αναστολή της NO συνθάσης σε αιμοκύτταρα τα οποία προεπώαστηκαν με L-NAME 10  $\mu\text{M}$ , ένα ισχυρό αναστολέα του συγκεκριμένου ενζύμου, είχε ως αποτέλεσμα την πλήρη αναστολή των επιπτώσεων του Cd στη σύνθεση NO, ενώ η παραγωγή  $\cdot\text{O}_2^-$  μειώθηκε συγκριτικά με τις τιμές σε αιμοκύτταρα που εκτέθηκαν μόνο στο μέταλλο, αλλά όχι και σε σχέση με την τιμή σε κύτταρα αναφοράς, δεδομένου ότι η παραγωγή  $\cdot\text{O}_2^-$  δεν οφείλεται μόνο στην επαγωγή της δράσης της οξειδάσης, αλλά και σε φαινόμενα πρόκλησης οξειδωτικού stress.

**PRODUCTION OF SUPEROXIDES AND NITRIC OXIDE GENERATION IN  
HAEMOCYTES OF MUSSEL *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* (LMK.), AFTER  
EXPOSURE TO CADMIUM: A POSSIBLE INVOLVEMENT OF NO  
SYNTHASE AS A MAIN ENZYME DURING RESPIRATORY BURST**

*Dailianis St.*

*Section of Animal Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of  
Patras, 26 500, Greece.*

The present study investigates cadmium (Cd) ability to enhance superoxides ( $\cdot\text{O}_2^-$ ) and nitric oxide (NO) production (as nitrites) in haemocytes of mussel *Mytilus galloprovincialis*. PMA, a well-known PKC-mediated NADPH oxidase as well as NO synthase stimulator was also used, in order to verify Cd effects on both  $\cdot\text{O}_2^-$  and NO generation. According to the results of the present study, micromolar concentrations of Cd (0.05, 5, 10 and 50  $\mu\text{M}$ ) seemed to enhance  $\cdot\text{O}_2^-$  and NO generation in haemocytes of mussels. Moreover,  $\cdot\text{O}_2^-$  and NO generation in haemocytes of mussels exposed to Cd could be enhanced by its ability to induce reactive oxygen species (ROS) but respiratory burst activation as well. Inhibition of NO synthase with L-NAME 10  $\mu\text{M}$ , significantly attenuated Cd ability to enhance  $\cdot\text{O}_2^-$  production and diminished NO generation, thus leading to the suggestion that Cd toxic effects, started at concentration of 50  $\mu\text{M}$ , could enhance NADPH oxidase and NO synthase stimulation in haemocytes of mussels.

**Η ΗΛΙΚΙΑ ΤΩΝ ΓΙΓΑΝΤΙΑΙΩΝ ΓΟΥΛΙΑΝΩΝ ΤΗΣ ΦΡΑΓΜΑΛΙΜΝΗΣ  
ΠΟΛΥΦΥΤΟΥ**

**Ντάκης Α.<sup>1</sup>, Καραγεωργίου Γ.<sup>1</sup>, Πάπιστας Α.<sup>2</sup>, Τσίκλιρας Α.<sup>3</sup>, Οικονομίδης Π.Σ.<sup>4</sup>  
και Ι.Δ.Λεονάρδος<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών,  
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. E-mail: [ileonard@uoi.gr](mailto:ileonard@uoi.gr)

<sup>2</sup>Νομαρχιακή Αυτοδιοίκηση Κοζάνης, Διεύθυνση Αγροτικής Ανάπτυξης, Γραφείο  
Αλιείας

<sup>3</sup>Τμήμα Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας,  
οδός Φυτόκου, 384 46 Νέα Ιωνία, Βόλος. E-mail: [Tsikliras@uth.gr](mailto:Tsikliras@uth.gr)

<sup>4</sup>Οδός Καρακάση 75, Θεσσαλονίκη 54453 E-mail: [PSEcon@bio.auth.gr](mailto:PSEcon@bio.auth.gr)

Ο γουλιανός (*Silurus glanis*, Linnaeus, 1758), είναι ένα κοινό είδος των εσωτερικών υδάτων της Ευρώπης και ανήκει στην οικογένεια των *Siluridae*. Είναι από τα μακροβιότερα (έως 80 έτη) και μεγαλύτερα σε μέγεθος (μέγιστο ολικό μήκος 5 m) είδη των εσωτερικών υδάτων της Ευρώπης. Στην Ελλάδα, συναντάται σε αρκετές λίμνες και ποτάμια της Θεσσαλίας, της Μακεδονίας και της Θράκης. Ένας σημαντικός πληθυσμός αυτού του είδους, έχει καταγραφεί στη τεχνητή λίμνη του Πολύφυτου (Νομός Κοζάνης), που επιβιώνει από τον παλιό πληθυσμό του Αλιάκμονα. Η φραγμαλίμνη αυτή δημιουργήθηκε το 1974 και διατηρεί την παλιά ιχθυοπανίδα του Αλιάκμονα. Στις 17 Μαρτίου 2009, αλιεύθηκε ένα άτομο ολικού μήκους 2.8 m και βάρους 230 kg. Από τα μέχρι σήμερα γνωστά στοιχεία, φαίνεται ότι πρόκειται για το μεγαλύτερο σε μέγεθος άτομο που έχει συλληχθεί στα εσωτερικά ύδατα της Ελλάδας. Στην παρούσα εργασία γίνεται προσπάθεια να εκτιμηθεί η ηλικία αυτού του ατόμου, με βάση τους δακτυλίους που σχηματίζονται στις ακτίνες του θωρακικού πτερυγίου. Οι τομές έγιναν με τη βοήθεια περιστροφικού μικροτόμου χαμηλής ταχύτητας και πάχους (0.5, 1 και 1.5 mm). Η παρατήρηση έγινε με διερχόμενο ισχυρό φως σε στερεοσκόπιο. Η εξέταση έδειξε ότι το άτομο ήταν ηλικίας 31+ ετών. Η μέθοδος εφαρμόστηκε για πρώτη φορά στο συγκεκριμένο είδος στο οποίο ο προσδιορισμός της ηλικίας είναι δυσχερής. Τα αποτελέσματα θεωρούνται ικανοποιητικά και για τον πρόσθετο λόγο ότι στη φραγμαλίμνη του Πολύφυτου υπάρχει ένας σημαντικός πληθυσμός ατόμων μεγάλης ηλικίας και μεγέθους, ο οποίος χρήζει ιδιαίτερης προστασίας και περαιτέρω μελέτης.

**THE AGE OF THE GIANT WELS CATFISHES OF THE POLYFYTOS DAM-  
LAKE (MACEDONIA, GREECE)**

**Ntakis A.<sup>1</sup>, Karageorgiou G.<sup>1</sup>, Papistas A.<sup>2</sup>, Tsikliras Ath.<sup>3</sup>, Economidis P.<sup>4</sup>,  
Leonardos I.D.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratory of Zoology, Biological Applications and Technology Dept. University of  
Ioannina, 45110 Ioannina.

<sup>2</sup>Prefecture of Kozani, Department of Agricultural Development, Office of Fisheries

<sup>3</sup>Department of Ichthyology and Aquatic Environment, University of Thessaly, Fytokou  
Street, 384 46, Nea Ionia, Volos, Greece

<sup>4</sup>75 Karakasi str., GR-54453 Thessaloniki, GREECE. E-mail: [PSEcon@bio.auth.gr](mailto:PSEcon@bio.auth.gr)

The Wels catfish (Linnaeus, 1758) is a common fish species of the inland waters of Europe and belongs to the family of *Siluridae*. It is one of the long-livest (maximum age of 80 years) and largest (maximum total length of 5 m) species of the inland waters of Europe. In Greece, it is found in many lakes and rivers of Thessaly, Macedonia and Thrace. A significant population of this species has been reported in the dam-lake of Polyfytos (Central Macedonia), which has survived from the old population of Aliakmon. This dam-lake has been constructed during 1974 in the bed of the Aliakmon and it preserves its old fish fauna. In March 17 2009, a specimen, with a total length of 2.8 m and a total weight of 230 kg was caught. Comparing to other reports, this specimen is the largest and heaviest specimen that has ever been caught in the inland waters of Greece. In order to estimate the age of this specimen in this study, the hard rays of both pectoral fins were removed and their growth marks were examined. Thin sections of 0.5 mm, 1 mm and 1.5 mm were made by the use of a low-speed saw. The observation was accomplished under a stereoscope with transmitted bright light. From the observation of the thin sections, it was found that the age of this specimen was 31+ years. This method was applied in this species for the first time because of the difficulty of age determination. The results were satisfactory. In addition, in the dam-lake of Polyfytos, there is a significant population of old and large sized specimens that needs more protection and further study.

**Η ΕΠΙΛΕΚΤΙΚΗ ΣΥΖΕΥΞΗ ΜΕΤΑΞΥ ΤΗΣ ΑΔΕΝΥΛΙΚΗΣ ΚΥΚΛΑΣΗΣ VI  
ΜΕ ΤΟΝ IP<sub>3</sub> ΥΠΟΔΟΧΕΑ II ΜΕΣΟΛΑΒΕΙ ΣΤΗΝ ΑΜΜΕΣΗ  
ΕΥΑΙΣΘΗΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ IP<sub>3</sub> ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΑΠΟ ΤΟ CAMP****Ντέντος Σ.Γ.\****Τμήμα Φαρμακολογίας, Πανεπιστήμιο του Cambridge, Cambridge, UK*

Η χωροταξική κατανομή της κυκλικής μονοφωσφορικής αδενοσίνης (cAMP) και του ασβεστίου (Ca<sup>2+</sup>) στους μικροχώρους και τις μικροδομές του ενδοκυττάριου χώρου καθορίζει τις ποικίλες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των δύο αυτών δεύτερων αγγελιοφόρων. Μελετώντας τον τρόπο δράσης της παραθορμόνης (PTH) βρέθηκε ότι αυτή ενεργοποιεί το σχηματισμό ενδοκυττάριου cAMP και ευαισθητοποιεί την πρόσδεση ενός άλλου δεύτερου αγγελιοφόρου, της 1,4,5-τριφωσφορικής ινοσιτόλης (IP<sub>3</sub>), στον υποδοχέα της (IP<sub>3</sub>R) με επακόλουθο την αύξηση των ενδοκυττάριων επιπέδων Ca<sup>2+</sup>. Στην παρούσα εργασία περιγράφεται πως η PTH επικοινωνεί με τον IP<sub>3</sub>R μέσω "cAMP κόμβων" που επιτρέπουν την επιτόπια μεταφορά εξαιρετικά υψηλών συγκεντρώσεων cAMP κοντά στον IP<sub>3</sub>R, αυξάνοντας άμεσα την ευαισθησία του υποδοχέα αυτού στον IP<sub>3</sub>. Σε κύτταρα στα οποία επιτεύχθηκε ετερόλογη έκφραση του υποδοχέα της PTH βρέθηκε ότι η ισομορφή II του IP<sub>3</sub>R και ισομορφή VI της αδενυλικής κυκλάσης αλληλεπιδρούν με τέτοιο τρόπο ώστε παρεμπόδιση της έκφρασης καθενός εκ των δύο, μέσω RNA παρεμπόδισης, μειώνει επιλεκτικά το μέγεθος των σημάτων Ca<sup>2+</sup> που ενεργοποιούνται από την PTH. Τα παρουσιαζόμενα αποτελέσματα μας επιτρέπουν να καθορίσουμε δύο θεωρητικά μοντέλα τρόπων μετάδοσης σήματος μέσω του δεύτερου αγγελιοφόρου cAMP: στο πρώτο μοντέλο το cAMP μεταφέρεται μέσω μικροδομών διανύοντας μια μικρή απόσταση από την αδενυλική κυκλάση VI που το παράγει, στον IP<sub>3</sub>R II που ευαισθητοποιείται από αυτό; στο δεύτερο μοντέλο οι τοπικές διαβαθμίσεις της συγκέντρωσης του cAMP μεταβάλλουν τη δράση συγκεκριμένων πρωτεϊνών και κατά συνέπεια τη μετάδοση σήματος σε αποστάσεις μακρινές από την αδενυλική κυκλάση. (J. Cell Biol. 2008, 183: 297-311).

*(\*) προσκεκλημένος ομιλητής*



**SELECTIVE COUPLING OF TYPE 6 ADENYLYL CYCLASE WITH TYPE 2 IP<sub>3</sub>  
RECEPTORS MEDIATES DIRECT SENSITIZATION OF IP<sub>3</sub> RECEPTORS BY  
CAMP**

*Dedos S.G.\**

*Dept of Pharmacology, University of Cambridge, Tennis Court Road, Cambridge, UK*

Interactions between cyclic adenosine monophosphate (cAMP) and Ca<sup>2+</sup> are widespread, and for both intracellular messengers, their spatial organization is important. Parathyroid hormone (PTH) stimulates formation of cAMP and sensitizes inositol 1,4,5-trisphosphate receptors (IP<sub>3</sub>R) to IP<sub>3</sub>. We show that PTH communicates with IP<sub>3</sub>R via "cAMP junctions" that allow local delivery of a supramaximal concentration of cAMP to IP<sub>3</sub>R, directly increasing their sensitivity to IP<sub>3</sub>. These junctions are robust binary switches that are digitally recruited by increasing concentrations of PTH. Human embryonic kidney cells express several isoforms of adenylyl cyclase (AC) and IP<sub>3</sub>R, but IP<sub>3</sub>R2 and AC6 are specifically associated, and inhibition of AC6 or IP<sub>3</sub>R2 expression by small interfering RNA selectively attenuates potentiation of Ca<sup>2+</sup> signals by PTH. We define two modes of cAMP signaling: binary, where cAMP passes directly from AC6 to IP<sub>3</sub>R2; and analogue, where local gradients of cAMP concentration regulate cAMP effectors more remote from AC. Binary signaling requires localized delivery of cAMP, whereas analogue signaling is more dependent on localized cAMP degradation. (J. Cell Biol. 2008, 183: 297-311)

*(\*) invited speaker*

**ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *LIGIDIUM* (ΚΑΡΚΙΝΟΕΙΔΗ,  
ΙΣΟΠΟΔΑ) ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ, ΒΑΣΕΙ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ  
DNA**

**Ντόβα Χ.-Κ., Κλώσσα-Κίλια Ε., Σφενδουράκης Σ., Κίλιας Γ.**

Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου & Ανάπτυξης, Τμήμα Βιολογίας,  
Πανεπιστήμιο Πατρών, Ρίο Πατρών 26500

Η πραγματική ταξινομική κατάσταση των πληθυσμών του γένους *Ligidium*, κυρίως αυτών που κατανέμονται στη νότια Ελλάδα, δεν είναι ξεκάθαρη, καθώς μέχρι τώρα βασίζονταν κυρίως σε μορφολογικούς χαρακτήρες. Οι παλαιότερες μελέτες των φυλογενετικών σχέσεων των Ισοπόδων του γένους *Ligidium*, με χρήση μοριακών δεικτών είναι ολιγάριθμες. Η παρούσα μελέτη αποτελεί την πιο εκτεταμένη φυλογενετική ανάλυση μέσα στο γένος *Ligidium*. Η έρευνα επιλέχθηκε να γίνει σε επίπεδο ατόμων, χρησιμοποιώντας μοριακούς δείκτες από 26 πληθυσμούς ισοπόδων, οι οποίοι καλύπτουν σχεδόν όλο το φάσμα των ειδών, που ανήκουν στο γένος *Ligidium* και διαβιούν στον ελλαδικό χώρο. Η πειραματική προσέγγιση περιελάμβανε τον πολλαπλασιασμό αλληλουχιών με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR), τον προσδιορισμό της αλληλουχίας τους, και τη στατιστική και φυλογενετική ανάλυσή τους. Οι αλληλουχίες που χρησιμοποιήθηκαν προέρχονται από τους πυρηνικούς γονιδιακούς τόπους ITS1, 5.8s, ITS2 οι οποίοι είναι από τους πιο ευρέως διαδεδομένους μοριακούς δείκτες για μελέτες σε επίπεδο πληθυσμών και ειδών και δεν έχουν προηγουμένως μελετηθεί για άλλα χερσαία ισόποδα. Οι αλληλουχίες επεξεργάστηκαν με τρεις μεθόδους φυλογενετικής ανάλυσης οι οποίες είναι η μέθοδος Σύνδεσης Γειτόνων (Neighbor-Joining), η Μέθοδος Μέγιστης Φειδωλότητας (Maximum Parsimony) και η Μπεϊεσιανή Συμπερασματολογία (Bayesian Inference). Το τελικό σύνολο των στοιχισμένων αλληλουχιών, μετά την αφαίρεση τμημάτων από την αρχή και το τέλος τους, είχε μήκος 614 βάσεων. Επίσης πραγματοποιήθηκε σύγκριση αποτελεσμάτων προηγούμενων μελετών με αυτά που προκύπτουν από τη δική μας έρευνα, καθώς και αξιολόγηση της αξιοπιστίας των μοριακών δεικτών που χρησιμοποιήθηκαν.

**GENETIC DIFFERENTIATION OF GENUS LIGIDIUM (CRUSTACEA,  
ISOPODA) IN GREECE, BASED ON MOLECULAR MARKERS OF NUCLEAR  
DNA**

*Ntova H.-K., Klossa-Kilia E., Sfenthourakis S., Kiliias G.*

*Section of Genetics, Biology of Cell & Development, Department of Biology, University of  
Patras, GR-26500 Patras.*

The genus *Ligidium* (Crustacea, Isopoda) is the most species-rich genus within the family *Ligiidae*. The taxonomy of the genus has hitherto been based on a few morphological characters, most of which exhibit high intrapopulation variation. As a consequence, the current taxonomy of *Ligidium* is problematic and the validity of described species cannot be taken for granted. Molecular data for only a few species have been used in broader phylogenetic analyses within terrestrial isopods. In the present study we perform the most extensive phylogenetic analysis within the genus *Ligidium*. We attempt to clarify the taxonomic status of the various populations and try to identify geographical patterns in genealogical affinities that might help us reconstruct the evolutionary history of the respective species. We used three nuclear ribosomal gene segments (ITS1, 5.8s, ITS2) for the phylogenetic analysis of *Ligidium* populations, which were collected from several locations in Greece, representing almost all species reported from this region. For comparative reasons, we have also included one population from each of the two widespread European species, *L. hypnorum*, Cuvier, 1792 and *L. Germanicum*, Verhoeff, 1901. We have chosen to perform the analysis at the individual level, sampling several populations from different locations that belong either to the same or to different river systems. Fragments of the three rDNA genes (ITS1, 5.8s, ITS2) were amplified using the PCR technique and then individual sequences were determined via automated sequencing. We compare the results which occurred from our study with those of previous ones and we evaluated the phylogenetic utility of the molecular markers that we used. In general the results that came out by the analyses of three following phylogenetic methods Neighbor joining (NJ), Maximum parsimony (MP) and Bayesian Inference (BI), are not considered to be safe for making generalized conclusions.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΥΓΕΙΑΣ ΣΤΗΝ  
ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΙΚΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΤΗΣ ΑΙΓΑΙΟΣΑΥΡΑΣ (*Podarcis erhardii*)****Ducoffe A.R.<sup>1,2</sup>, Παφίλης Π.<sup>2,3</sup>, και Ι. Φουφόπουλος<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Department of Psychology, 1012 East Hall, 530 Church Street, Univ. of Michigan, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA. <sup>2</sup>School of Natural Resources and Environment, Dana Building, 430 East Univ., Univ. of Michigan, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA <sup>3</sup>Modern Greek Program, Dept of Classical Studies, 2160 Angell Hall, 435 S. State, Univ. of Michigan, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA

Οι συγκριτικές μελέτες σε νησιωτικούς πληθυσμούς παρέχουν την ευκαιρία μελέτης της εξέλιξης συμπεριφορικών και φυσιολογικών χαρακτήρων. Στην παρούσα εργασία συγκρίνουμε την συμπεριφορά της Αιγαιοσαυρας (*Podarcis erhardii*) σε έξι νησιά των Κυκλάδων. Τρία από αυτά τα νησιά (Νάξος, Άνδρος, Ίος) είναι μεγάλα και φιλοξενούν αρκετούς θηρευτές ενώ τα άλλα τρία (Μακρονήσι, Γαϊδουρονήσι, Φθίρα) είναι μικρές νησίδες περιφερικά της Πάρου δίχως θηρευτές. Οι σαύρες μολύνονται από ένα δυνητικά θανατηφόρο πρωτόζωο, το *Hepatozoon* sp. Το νησί από το οποίο προέρχονται οι σαύρες και η κατάσταση της υγείας τους ήταν οι βασικές μεταβλητές που εξετάστηκαν σε αυτή τη μελέτη ως προς την επίδρασή τους στην ανταγωνιστική συμπεριφορά που προκαλείται σε συνθήκες συνωστισμού. Το πείραμα έγινε στις εγκαταστάσεις του Μουσείου Ζωολογίας του Πανεπιστημίου του Michigan. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε με το σχεδιασμό ηθογραμμάτων ανά περιόδους 15 λεπτών όπου καταγράφονταν οι κανονικές και οι επιθετικές συμπεριφορικές αντιδράσεις. Οι μικρές, χωρίς θηρευτές νησίδες χαρακτηρίζονται από σημαντικά υψηλότερες πυκνότητες σαυρών με συνέπεια την περιορισμένη τροφική διαθεσιμότητα σε σύγκριση με τα μεγάλα νησιά. Έτσι προβλέψαμε ότι σαύρες από τα μικρά νησιά θα είναι λιγότερο επιφυλακτικές (καθώς δεν υπάρχει θήρευση στους βιοτόπους τους), θα δείχνουν πιο έντονες συμπεριφορές εύρεσης τροφής και θα είναι πιο επιθετικές στις αλληλεπιδράσεις τους με άλλα άτομα σε σχέση με τα ζώα που προέρχονται από τα μεγάλα νησιά. Επιπλέον αναμέναμε ότι αύξηση της παρουσίας του *Hepatozoon*, ποσοτικοποιημένη ως ποσοστό μόλυνσης ανά ομάδα, θα είχε σαν αποτέλεσμα την ελάττωση της ανταγωνιστικής συμπεριφοράς. Σύμφωνα με αυτές τις προβλέψεις βρήκαμε ότι οι σαύρες από τα μικρά νησιά χωρίς θηρευτές 1. Παρουσιάζουν σημαντικά εντονότερες συμπεριφορές έκθεσης, 2. Κρύβονται λιγότερο συχνά στα παρεχόμενα καταφύγια και 3. δείχνουν σαφώς υψηλότερα ποσοστά κινητικότητας. Παρατηρήθηκε επίσης μια μη σημαντική αύξηση στις επιθέσεις σε άτομα του ίδιου είδους στα μικρά νησιά. Η έκφραση της κινητικότητας και της συμπεριφοράς έκθεσης συσχετίζεται αρνητικά με το μέγεθος του νησιού και του πληθυσμού. Πράγματι διαπιστώσαμε μια σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στο μέγεθος του νησιού και την κινητικότητα καθώς και την συμπεριφορά έκθεσης, με τις σαύρες που προέρχονται από τα πιο μικρά νησιά να επιδεικνύουν υψηλότερους δείκτες και για τις δύο αυτές συμπεριφορές. Η κατάσταση υγείας των ζώων δεν φαίνεται να συσχετίζεται με καμία κατηγορία συμπεριφοράς. Η επαναλαμβανόμενη και ανεξάρτητη εξέλιξη παρόμοιων συμπεριφορικών ακολουθιών σε διάφορα νησιά συνιστά ότι πρόκειται για ισχυρά πρότυπα που μπορεί να σχετίζονται μεταξύ τους σε πολλά taxa.

**EFFECTS OF GEOGRAPHIC ORIGIN AND HEALTH STATUS ON  
AGONISTIC BEHAVIOR OF AEGEAN WALL LIZARDS (*Podarcis erhardii*)**

**Ducoffe A.R.<sup>1,2</sup>, Pafilis P.<sup>2,3</sup>, and J. Foufopoulos<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Department of Psychology, 1012 East Hall, 530 Church Street, University of Michigan, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA. <sup>2</sup>School of Natural Resources and Environment, Dana Building, 430 East University, University of Michigan, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA  
<sup>3</sup>Modern Greek Program, Department of Classical Studies, 2160 Angell Hall, 435 S. State, University of Michigan, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA

Comparative studies of island populations provide a powerful way to examine the evolution of behavioral and physiological traits in a well-replicated context. One promising area for such investigations concerns the relationship between ecological origin and standardized behavioral responses. In this study we compare the behavior of the Aegean Wall Lizards (*Podarcis erhardii*) originating from six different Aegean islands. Three of these islands (Naxos, Andros, Ios) are large and have relatively diverse predator communities while the other three (Makronissi, Gaidouronissi, Phtira, all off Paros Isl.) are small satellite islets without predators. The lizards are commonly infected with a sublethal, malaria-like protozoan parasite, *Hepatozoon sp.* Thus, island origin and health status were the primary covariants in this experiment study, which evaluated agonistic behavior in response to a crowding challenge. Lizards were held in captivity at the University of Michigan Museum of Zoology. We compared group behavior in lizard groups originating from different islands by preparing ethograms during two 15-minute sessions and scoring multiple aggressive and non-aggressive behaviors. The small, predator-free islands harbor significantly higher lizard densities and this results in chronic food shortages in comparison to large islands. We therefore predicted that lizards from small islets would be less predator-wary, exhibit more pronounced foraging and patrolling behaviors, and be more aggressive in their intraspecific interactions in comparison to large island populations. Moreover, we also predicted that an increase in the presence of *Hepatozoon*, quantified as infection percentage per focal group, would result in reduced aggression behaviors. In accordance with these predictions we found that small island lizards 1. exhibited significantly more exposure behaviors, 2. hid less often in available refugia, and 3. displayed significantly higher levels of locomotory restlessness. There was also a non-significant increase in attacks towards conspecifics among small versus large island groups. Expression of locomotory restlessness and exposure behaviors was negatively related to island (and population) size. Indeed we detected a significant correlation between island size and locomotory restlessness, as well as exposure behavior, with small islands lizards having the highest numbers of both behaviors overall. We found no significant correlation of any behavior category to group health status. The repeated and independent evolution of similar behavioral suites suggests that these are robust life history patterns that are likely to be relevant across a range of taxa

**ΣΥΜΠΙΕΣΗ ΧΡΩΜΑΤΙΔΙΑΚΩΝ ΑΝΤΑΛΛΑΓΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ  
ΑΝΘΡΩΠΟΥ ΑΠΟ 1,5-BENZODIAZEPINES**

**Οικονομοπούλου Μ.Θ.<sup>1</sup>, Τσολερίδης Κ.Α.<sup>2</sup>, Αργυράκη Μ.<sup>1</sup>, Πολάτογλου Ε.<sup>1</sup>,  
Λουκίδης Γ.<sup>1</sup>, Νεοχωρίτης Κ.<sup>2</sup>, Ιακωβίδου-Κρίτση Ζ.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Εργ. Γεν. Βιολογίας, Ιατρική Σχολή, <sup>2</sup>Εργ. Οργ. Χημείας, Τμήμα Χημείας,  
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Αρκετά μέλη της οικογένειας των 1,4-βενζοδιαζεπινών αποτελούν κοινά ψυχοδραστικά φάρμακα και δρουν ως αγωνιστές του GABA. Έχουν αγχολυτικές, υπνωτικές, αντισπασμωδικές και μυοχαλαρωτικές ιδιότητες. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι ορισμένες από αυτές (αλπραζολάμη, διαζεπάμη, λοραζεπάμη) εμφανίζουν κυτταρογενετική δράση σε καλλιέργειες φυσιολογικών λεμφοκυττάρων ανθρώπου. Η βασική δομή των βενζοδιαζεπινών περιλαμβάνει έναν αρωματικό (βενζολικό) δακτύλιο συμπυκνωμένο με έναν επταμελή ετεροκυκλικό δακτύλιο με δυο άτομα αζώτου (διαζεπινικό). Νεοσυντέθηκαν παράγωγα των 1,5-βενζοδιαζεπινών με στόχο τη βελτίωση της φαρμακολογικής δράσης και τη μείωση των ανεπιθύμητων παρενεργειών. Συγκεκριμένα, έγινε συγκριτική μελέτη της *in vitro* κυτταρογενετικής δραστηριότητας τεσσάρων νέων 1,5-βενζοδιαζεπινών με μικρές διαφορές στη χημική τους δομή. Κριτήρια αποτέλεσαν ο προσδιορισμός της συχνότητας των χρωματιδιακών ανταλλαγών (SCEs, Sister Chromatid Exchanges) και η αξιολόγηση του δείκτη ρυθμού πολλαπλασιασμού (PRI, Proliferation Rate Index) των λεμφοκυττάρων σε καλλιέργειες από περιφερικό αίμα υγιών ανθρώπων. Οι τιμές των SCEs χρησιμοποιούνται ως ένας από τους πλέον ευαίσθητους δείκτες γονοτοξικό-τητας, ενώ εκείνες του PRI θεωρούνται αξιόπιστοι μάρτυρες κυτταροστατικό-τητας. Οι υπό μελέτη ενώσεις προστέθηκαν στις καλλιέργειες σε τελικές συγκεντρώσεις (1, 5, 10 μM) ισοδύναμες με τις από του στόματος χορηγούμενες δόσεις των 1,4-βενζοδιαζεπινών. Από τις νεοσυντιθέμενες 1,5-βενζοδιαζεπίνες, οι τρεις επέφεραν στατιστικά σημαντική μείωση των SCEs ( $p < 0,01$  t-test), δεν επηρέασαν όμως τις τιμές του PRI, ενώ η τέταρτη εμφανίστηκε κυτταρογενετικά αδρανής. Διαπιστώθηκαν διαφορετικά επίπεδα συμπίεσης μεταξύ των δραστη-κών ενώσεων, που πιθανώς οφείλονται στις δομικές διαφορές τους. Η παρατη-ρούμενη μείωση της συχνότητας των SCEs των λεμφοκυττάρων λόγω της δράσης των 1,5-βενζοδιαζεπινών είναι εντυπωσιακή και επιβάλλει περαιτέρω διερεύνηση.

**DECREASE OF SISTER CHROMATID EXCHANGE FREQUENCY IN HUMAN  
LYMPHOCYTES BY 1,5-BENZODIAZEPINES**

*Ekonomopoulou M.T.<sup>1</sup>, Tsoleridis C.A.<sup>2</sup>, Argyraki M.<sup>1</sup>, Polatoglou E.<sup>1</sup>, Loukidis G.<sup>1</sup>,  
Neochoritis C.<sup>2</sup>, Iakovidou-Kritsi Z.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Lab. of General Biology, Medical School, <sup>2</sup>Lab. of Org. Chemistry, Chemistry Dept,  
Aristotle University of Thessaloniki.*

Several members of the 1,4-benzodiazepine family are used as psychoactive drugs and act as agonists of GABA. They have anxiolytic, hypnotic, anticonvulsant and muscle relaxant properties, whereas as common side-effects are referred drowsiness, constipation, ataxia, slurred speech, concentration problems. Recent studies have shown that some of them exhibit cytogenetic activity (alprazolam, diazepam, lorazepam) in normal human lymphocyte cultures. The basic chemical structure of benzodiazepines includes an aromatic (benzene) ring fused with a seven-membered heterocyclic ring with two nitrogen atoms (diazepine). We synthesized new 1,5-benzodiazepine derivatives in order to improve the pharmacological activity and reduce the side effects. In particular, a comparative study of the *in vitro* cytogenetic activity of four new 1,5-benzodiazepines with small structural differences was performed. As markers, we used the estimation of the frequency of SCEs (Sister Chromatid Exchanges) and the values of PRI (Proliferation Rate Index) of lymphocytes from cultures of peripheral blood from healthy donors. SCEs are considered as one of the most sensitive markers of genotoxicity, whereas PRI is used as a reliable index of cytostaticity. The compounds were added in the cultures at final concentrations (1, 5, 10  $\mu$ M) equivalent to the oral doses of 1,4-benzodiazepines. Among the newly synthesized 1,5-benzodiazepines, three of them caused statistically significant reduction of SCEs ( $p < 0,01$  t-test) without showing cytostatic properties, whereas the fourth one was cytogenetically inactive. The different levels of reduction between the active compounds may be attributed to their structural differences. The observed reduction of the lymphocytes' SCE frequency because of the 1,5-benzodiazepines' action is impressive and should be further investigated.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΤΡΟΦΙΚΗΣ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑΣ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *Gambusia holbrooki* ΣΤΗ ΛΙΜΝΗ ΠΑΜΒΩΤΙΔΑ****Οικονόμου Α., Κιοσσέ Θ., Γκένας Χρ., Λεονάρδος Ι.Δ.**

Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών,  
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110, Ιωάννινα. E-mail: [ileonard@cc.uoi.gr](mailto:ileonard@cc.uoi.gr)

Το κουνουπόψαρο, *Gambusia holbrooki* (Girard, 1859), εισήχθη στην Ελλάδα με σκοπό τον βιολογικό έλεγχο των κουνουπιών για την καταπολέμηση της μαλάριας. Απαντάται σε στάσιμα ή τρεχούμενα εσωτερικά ύδατα και δείχνει προτίμηση σε τοποθεσίες κοντά στην ακτή, με άφθονη υδροβία βλάστηση. Ωστόσο, μπορεί να επιβιώσει σε υφάλμυρα αλλά και σε ρυπασμένα ύδατα. Για τη μελέτη της διατροφής του στην λίμνη Παμβώτιδα πραγματοποιήθηκαν μηνιαίες δειγματοληψίες διάρκειας 15 μηνών (Μάιος 2007 – Ιούλιος 2008). Επίσης για τη μελέτη της ημερήσιας τροφικής του στρατηγικής πραγματοποιήθηκαν 24ωρες δειγματοληψίες ανά εποχή. Η ανάλυση του στομαχικού περιεχομένου πραγματοποιήθηκε με την εφαρμογή της εμφάνισης συχνότητας, της αριθμητικής και της ογκομετρικής μεθόδου. Η σύνθεση της διαίτας του είδους έδειξε ότι πρόκειται για ζωπλαγκτοφάγο θηρευτή που τρέφεται κυρίως με κωπήποδα και κλαδόκερα. Η συμμετοχή των εντόμων στη διαίτα του είδους ήταν ιδιαίτερα αυξημένη κυρίως τους θερινούς μήνες. Από τη σύνθεση της διαίτας προέκυψε ότι δεν παρατηρούνται ουσιαστικές εποχικές αλλαγές ως προς τις ομάδες λείας που καταναλώνει το κουνουπόψαρο, ενώ αντίθετα η επικράτηση κάποιων ειδών λείας μεταβάλεται ανάλογα με το μήνα. Οι μηνιαίες διακυμάνσεις στα είδη λείας που επικρατούν στη διαίτα του κουνουπόψαρου έδειξαν ότι θηρεύει εκείνα τα είδη λείας με τη μεγαλύτερη σχετική αφθονία και διαθεσιμότητα σε κάθε σταθμό. Οι υψηλές τιμές της επικάλυψης του τροφικού θώκου μεταξύ των ηλικιακών κλάσεων έδειξαν ότι δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές ως προς την εκμετάλλευση των διαθέσιμων τροφικών πόρων.



## THE FEEDING BEHAVIOUR OF *Gambusia holbrooki* IN LAKE PAMVOTIS

*Oikonomou A., Kiosse Th., Gkenas Chr., Leonardos I. D.*

*Laboratory of Zoology, Department of Biological Applications and Technologies,  
University of Ioannina, 45110, Ioannina. E-mail: [ileonard@cc.uoi.gr](mailto:ileonard@cc.uoi.gr)*

Mosquitofish, *Gambusia holbrooki* (Girard, 1859), was introduced in Greek regions as a predator of mosquitoes populations to fight against the malaria. Mosquitofish can be found in stagnant or flowing freshwater and prefer the habitats with abundant vegetation near the littoral zone. They can also be found in brackish or polluted water. A 15-months (May 2007 – July 2008) study was made on the diet of mosquitofish in Lake Pamvotis. In addition, sampling over a 24 hr period was carried out in order to determine the diel feeding activity of the examined fish in each season. The analysis of the stomach content was assessed using frequency of occurrence, numerical and volumetric techniques. Mosquitofish was zooplanktivore and fed mainly on copepods and cladocerans. Insects were the most important taxonomic group in the diet of the species during summer. There was no noticeable monthly variation in the dietary composition of the fish investigated when the major prey taxa were taken into consideration, while the contribution of prey species exhibited significant monthly changes. These observations led to the conclusion that fish each month, exploited those prey species with relatively high abundance and availability in the environment. The high values of niche overlap revealed that resource partitioning between the length classes does not occur.

**ΒΑΘΥΜΕΤΡΙΚΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ ΤΩΝ ΑΜΦΙΠΟΔΩΝ ΣΕ ΚΟΙΝΩΝΙΕΣ ΤΟΥ  
ΦΑΙΟΦΥΚΟΥΣ *CYSTOSEIRA CORNICULATA* (TURNER) ZANARDINI ΣΤΟ  
ΒΟΡΕΙΟ ΑΙΓΑΙΟ (ΣΙΘΩΝΙΑ, ΧΑΛΚΙΔΙΚΗ)**

Παγιούλα Α.<sup>1</sup>, Παναγάκος Α.<sup>1</sup>, Τσιρίκα Α.<sup>2</sup>, Σκούφας Γ.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Α.Τ.Ε.Ι.Θ., Τμήμα Τεχνολογίας Αλιείας και Υδατοκαλλιεργειών, Νέα Μουδανιά  
Χαλκιδικής, <sup>2</sup>Α.Π.Θ., Γεωπονική Σχολή, Εργαστήριο Εφαρμοσμένης Εδαφολογίας,  
Θεσσαλονίκη.

E-mail: [skoufas@aqua.teithe.gr](mailto:skoufas@aqua.teithe.gr), [atsirika@agro.auth.gr](mailto:atsirika@agro.auth.gr)

Οι κοινωνίες του φαιοφύκου *Cystoseira corniculata* αποτελούν ένα σημαντικό ενδιαίτημα σκληρού υποστρώματος στην περιοχή της Χαλκιδικής. Τα δείγματα συλλέχθηκαν με αυτόνομη κατάδυση με τη χρήση μεταλλικών πλασίων (25cm x 25cm), στα βάθη των 5m, 10m και 15m, το χειμώνα του 2006.

Συνολικά αναγνωρίστηκαν 16 ταξινομικές μονάδες (taxa) αμφιπόδων. Ειδικότερα: i. δειγματοληπτικός σταθμός 5 μέτρων: *Caprella acanthifera* (7,79%), *Caprella grandimana* (7,17%), *Dexamine spiniventris* (3,12%), *Gammaropsis dentata* (6,23%), *Hyale camptonyx* (14,95%), *Hyale crassipes* (11,84%), *Hyale grimaldii* (11,84%), *Iphimedia minuta* (2,49%), *Parhyale aquilina* (14,95%), *Parhyale eburnea* (15,89%) και *Parvivalpus linea* (3,74%), ii. δειγματοληπτικός σταθμός 10 μέτρων: *Caprella acanthifera* (15,59%), *Caprella grandimana* (0,99%), *Dexamine spiniventris* (7,18%), *Gammaropsis dentata* (2,72%), *Hyale camptonyx* (10,64%), *Hyale crassipes* (14,60%), *Hyale grimaldii* (17,57%), *Iphimedia minuta* (1,24%), *Leucothoe spinicarpa* (0,74%), *Lysianassa costae* (0,99%), *Orcomene humilis* (0,74%), *Parhyale aquilina* (12,38%), *Parhyale eburnea* (13,37%) και *Parvivalpus linea* (1,24%) και iii. δειγματοληπτικός σταθμός 15 μέτρων: *Caprella acanthifera* (21,55%), *Dexamine spiniventris* (0,86%), *Gammaropsis dentata* (6,03%), *Hyale camptonyx* (16,38%), *Hyale crassipes* (9,48%), *Hyale grimaldii* (18,10%), *Parhyale eburnea* (6,90%), *Parvivalpus major* (12,07%) και *Phtisica marina* (8,62%).

Η παρούσα μελέτη δίνει σημαντικά στοιχεία σχετικά με τη σύνθεση της πανίδας των αμφιπόδων σε κοινωνίες σκληρού υποστρώματος των ειδών *Cystoseira* spp., και συμβάλλει στη βιογεωγραφία της συγκεκριμένης ταξινομικής ομάδας.

**BATHYMETRIC VARIATION OF AMPHIPODS IN ASSOCIATIONS OF THE  
BROWN ALGA *CYTOSEIRA CORNICULATA* (TURNER) ZANARDINI FROM  
THE NORTH AEGEAN SEA (SITHONIA, CHALKIDIKI)**

**Pagioula A.<sup>1</sup>, Panagakos A.<sup>1</sup>, Tsirika A.<sup>2</sup>, Skoufas G.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>A.T.E.I.Th., Department of fisheries technology and aquacultures, Nea Moudania  
Chalkidiki, <sup>2</sup>A.U.TH., School of Agriculture, Laboratory of Applied Soil Science,  
Thessaloniki.

E-mail: [skoufas@aqua.teithe.gr](mailto:skoufas@aqua.teithe.gr), [atsirika@agro.auth.gr](mailto:atsirika@agro.auth.gr)

Associations of the brown alga *Cystoseira corniculata* constitute an important hard substrate habitat in Chalkidiki region. Samples were collected via Scuba – Diving (quadrates of 25cm x 25cm), from 5m, 10m and 15m depth, during winter of 2006.

A sum of 16 amphipod taxonomic units (taxa) was identified. In particular: i. sampling site of 5m depth: *Caprella acanthifera* (7,79%), *Caprella grandimana* (7,17%), *Dexamine spiniventris* (3,12%), *Gammaropsis dentata* (6,23%), *Hyale camptonyx* (14,95%), *Hyale crassipes* (11,84%), *Hyale grimaldii* (11,84%), *Iphimedia minuta* (2,49%), *Parhyale aquilina* (14,95%), *Parhyale eburnea* (15,89%) and *Parvivalpus linea* (3,74%), ii. sampling site of 10m depth: *Caprella acanthifera* (15,59%), *Caprella grandimana* (0,99%), *Dexamine spiniventris* (7,18%), *Gammaropsis dentata* (2,72%), *Hyale camptonyx* (10,64%), *Hyale crassipes* (14,60%), *Hyale grimaldii* (17,57%), *Iphimedia minuta* (1,24%), *Leucothoe spinicarpa* (0,74%), *Lysianassa costae* (0,99%), *Orcomene humilis* (0,74%), *Parhyale aquilina* (12,38%), *Parhyale eburnea* (13,37%) and *Parvivalpus linea* (1,24%) and iii. sampling site of 15m depth: *Caprella acanthifera* (21,55%), *Dexamine spiniventris* (0,86%), *Gammaropsis dentata* (6,03%), *Hyale camptonyx* (16,38%), *Hyale crassipes* (9,48%), *Hyale grimaldii* (18,10%), *Parhyale eburnea* (6,90%), *Parvivalpus major* (12,07%) and *Phtisica marina* (8,62%).

The current study provides important data, concerning the amphipods found in *Cystoseira* spp. communities, and contributes as well in the biogeography of this taxonomic group.

**ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΘΡΟΜΒΟΦΙΛΙΑΣ ΣΕ ΑΤΟΜΑ ΜΕ ΘΑΛΑΣΣΑΙΜΙΚΑ  
ΣΥΝΔΡΟΜΑ**

*Παπαγεωργίου Α., Κορομηλά Θ., Δρόσος Ι., Μιχαλέτου Δ.,  
Αλεπόρου-Μαρίνου Β., Κόλλια Π.*

*Εργαστήριο Γενετικής Ανθρώπου, Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα  
Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιόπολη 157 81 Αθήνα.*

Η φλεβική και αρτηριακή θρόμβωση είναι ένα κοινό νόσημα που εμφανίζεται σε 1/1000 άτομα ετησίως με ιδιαίτερα αυξημένο κίνδυνο σε ασθενείς με θαλασσαιμικά σύνδρομα. Η θαλασσαιμία οφείλεται σε μερική ή πλήρη έλλειψη των α- ή β-αλυσίδων σφαιρίνης. Οι περισσότερες μεταλλάξεις που σχετίζονται με τη θρόμβωση επηρεάζουν κυρίως τη λειτουργία των αντιπηκτικών μονοπατιών και συγκεκριμένα το πρωτεϊνικό σύστημα C. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η συσχέτιση των μεταλλαγών του β γονιδίου σφαιρίνης με τις μεταλλάξεις των παραγόντων θρομβοφιλίας [V Leiden, προθρομβίνης (FII), MTHFR και PAI-1]. Για τον σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκε απομόνωση DNA (QIAamp DNA Mini Kit-QIAGEN) από περιφερικό αίμα 79 ατόμων-ετεροζυγωτών για β θαλασσαιμία και ακολούθησε ενίσχυση του β γονιδίου σφαιρίνης με PCR και υβριδισμός (Geno Type Kit - HAIN) για τους παραπάνω παράγοντες θρομβοφιλίας. Τα αποτελέσματα στο σύνολο των δειγμάτων έδειξαν ότι οι μεταλλάξεις FV Leiden και FII G20210A απαντώνται σε ετεροζυγωτία (2,5% και 3,8%, αντίστοιχα). Ως προς τον παράγοντα MTHFR, οι συχνότητες των C677T και A1298C μεταλλαγών είναι παρόμοιες [C677T: 10,6% (+/+)/43,9% (+/-), A1298C: 7,6% (+/+)/ 45,4% (+/-)]. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και στις μεταλλάξεις (675 4G/5G και 844 AG) του παράγοντα PAI-1 [675 4G/4G:16,5%, 675 4G/5G:67% -844 AG:62%, 844 GG:17,7%]. Η συσχέτιση των μεταλλαγών θρομβοφιλίας με τις μεταλλάξεις του β γονιδίου έδειξαν ότι: 1) ετεροζυγώτες για τη μεταλλαγή IVSI-110 δεν συσχετίζονται με την παρουσία ή όχι μεταλλαγών MTHFR, σε αντίθεση με β39 ετεροζυγώτες οι οποίοι σε ποσοστό 40% είναι ετεροζυγώτες για τη μεταλλαγή C677T, ενώ σε σημαντικά μικρότερο ποσοστό (20%) εμφανίζουν διπλή ετεροζυγωτία για τις μεταλλάξεις C677T/A1298C του γονιδίου MTHFR. Ετεροζυγώτες IVSI-1 και IVSI-6 ήταν διπλοί ετεροζυγώτες για τις μεταλλάξεις του MTHFR C677T/A1298C σε υψηλό ποσοστό (28,6% και 50%, αντίστοιχα). Ως προς τον παράγοντα PAI-1, ετεροζυγώτες για τις μεταλλάξεις IVSI-1, IVSI-6 και IVSI-110 εμφανίζουν αυξημένες συχνότητες διπλής ετεροζυγωτίας για τις μεταλλάξεις 675 5G/4G και 844AG, σε αντίθεση με τους ετεροζυγώτες για τη μεταλλαγή β39 που είναι ομόζυγοι για την μεταλλαγή 844 GG (45,5%) και φυσιολογικοί για 675 5G του γονιδίου PAI-1.

## **THROMBOSIS FACTORS IN PATIENTS WITH THALASSEMIC SYNDROMES**

*Papageorgiou A., Koromila Th., Drosos Y., Michaletou D.,  
Aleporou-Marinou V., Kollia P.*

*Department of Genetics and Biotechnology, Faculty of Biology, University of Athens,  
Panepistimiopolis 157 81 Athens, Greece.*

Venous thrombosis is a common disease annually affecting 1 in 1000 individuals with high risk in patients with thalassemic syndromes. Thalassemia is the most common form of congenital hemolytic anemia caused by partial or complete deficiency in one of the major  $\alpha$  or  $\beta$  proteins of haemoglobin A. Most of the genetic defects known today affect the function of the natural anticoagulant pathways and in particular the protein C system. Our purpose is to find the correlation between the mutations of  $\beta$  hemoglobin's gene (IVSI-110, IVSI-1, IVSI-6, b39) and the mutant thrombosis factors (V Leiden, prothrombin, MTHFR and PAI-1). We evaluated 79 heterozygous for  $\beta$  thalassemia patients in the Greek population. Genomic DNA purification was performed using DNA isolation kit (QIAamp DNA Mini Kit – QIAGEN), according to the manufacturer's instructions. After DNA extraction, factor V, MTHFR, prothrombin and PAI-1 were amplified by PCR followed by further hybridization of the PCR product, using Geno Type Kit -HAIN. The results of this research show that heterozygous FV Leiden mutation was found in 2 patients (2.5%) while no patients were homozygous for FV Leiden mutation. The heterozygous prothrombin G20210A mutation was found in 3 out of 79(3.8%) patients. The frequencies of MTHFR C677T και A1298C mutations were similar [C677T:10,6% (+/+)/43,9% (+/-), A1298C: 7,6% (+/+)/ 45,4% (+/-)]. As far as the factor PAI-1 is concerned, we found the following percentages [675 4G/4G:16,5%,675 4G/5G:67% -844 AG:62%, 844 GG:17,7%]. The correlation between thrombosis factors mutations and  $\beta$  haemoglobin's mutations revealed the following: a) the heterozygous with IVSI-110 were not related to the presence of MTHFR mutations, contrary to the heterozygous for b39 where the 40% was heterozygous only for mutation C677T, followed by considerably smaller percentage than double heterozygote [C677T, A1298C (+/-, +/-): 20%]. The individuals with IVSI-1 and IVSI-6 exhibited increased percentages of double heterozygote for the mutations of factor MTHFR (28,6% and 50% respectively). b) For the factor PAI-1, heterozygous for IVSI-1, IVSI-6 and IVSI-110 present increased frequencies double heterozygote (675 5G4G, 844AG), contrary to thalassemic patients with b39 who were homozygous for 844 GG mutation (45,5%) and normal for 675 5G.

**ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΦΥΚΟΚΥΑΝΙΝΗΣ ΣΕ ΜΙΑ ΕΥΤΡΟΦΗ ΛΙΜΝΗ.  
ΜΠΟΡΕΙ Η ΦΥΚΟΚΥΑΝΙΝΗ ΝΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΕΙ ΩΣ ΕΡΓΑΛΕΙΟ  
ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΤΩΝ ΚΥΑΝΟΒΑΚΤΗΡΙΩΝ;**

*Παπαδημητρίου Θ., Κάγκαλου Ι., Λεονάρδος Ι.Δ.*

*Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών,  
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110, Ελλάδα*

Πολλά εσωτερικά ύδατα, λόγω της αυξανόμενης μόλυνσης τους με θρεπτικά, εμφανίζουν το δυσάρεστο φαινόμενο της υπέρμετρης αύξησης των κυανοβακτηρίων, κυρίως το καλοκαίρι. Πολλά από τα κυανοβακτήρια παράγουν ένα ευρύ φάσμα ενώσεων με χημικές και τοξικές ιδιότητες. Ο συνεχής έλεγχος τους είναι απαραίτητος για τη διασφάλιση της ποιότητας του νερού. Πρόσφατα, έχει αποδειχτεί ότι η μέτρηση του φθορισμού της φυκοκυανίνης αποτελεί έναν αποτελεσματικό προειδοποιητικό δείκτη για τη πυκνότητα των κυανοβακτηρίων. Σκοπός της εργασίας είναι η εκτίμηση της συγκέντρωσης της φυκοκυανίνης κατά τη διάρκεια ενός έτους, στη λίμνη Παμβώτιδα, με τη χρήση φθορισμομετρικής μεθόδου. Επίσης, ελέγχθηκε η συσχέτιση της συγκέντρωσης της φυκοκυανίνης με τη συγκέντρωση της χλωροφύλλης  $\alpha$ . Η λίμνη Παμβώτιδα είναι εύτροφη με συχνή εμφάνιση κυανοβακτηρίων. Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης της φυκοκυανίνης και της χλωροφύλλης  $\alpha$ , συλλέχθηκαν από δύο σταθμούς (s1,s2), μηνιαία δείγματα νερού διαφορετικού βάθους (0-5μ.), από το Φεβρουάριο του 2008 έως το Φεβρουάριο του 2009. Πραγματοποιήθηκε η μέτρηση του φθορισμού της φυκοκυανίνης των δειγμάτων σε μήκος κύματος διέγερσης 620 nm και εκπομπής 645 nm. Ο προσδιορισμός της χλωροφύλλης έγινε φωτομετρικά σύμφωνα με τη μέθοδο A.P.H.A. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της εργασίας, οι συγκεντρώσεις της φυκοκυανίνης και της χλωροφύλλης  $\alpha$  είναι μέγιστες από τον Ιούλιο έως τον Οκτώβριο και στους δύο σταθμούς. Επίσης αποδείχτηκε η ύπαρξη ισχυρής συσχέτισης μεταξύ των συγκεντρώσεων φυκοκυανίνης και χλωροφύλλης  $\alpha$  ( $r=0.989$ ), συνιστώντας τη χρήση της φυκοκυανίνης ως εργαλείο για την εκτίμηση της πυκνότητας των κυανοβακτηρίων στη Λίμνη Παμβώτιδα. Οι τιμές της φυκοκυανίνης κατά τη διάρκεια του έτους 2008, εντάσσουν τη Λίμνη Παμβώτιδα μεταξύ του μεσαίου και υψηλού επιπέδου του συστήματος επικινδυνότητας σχετικά με την παρουσία των κυανοβακτηρίων και την παραγωγή κυανοτοξινών.

**DETERMINATION OF PHYCOCYANIN IN A HIGHLY EUTROPHIC LAKE.  
COULD PHYCOCYANIN ACT AS A TOOL FOR CYANOBACTERIAL  
ESTIMATION?**

*Papadimitriou Th., Kagalou If., and I.D. Leonaros*

*Laboratory of Zoology, Department of Biological Applications and Technology, University  
of Ioannina, 45110 Greece.*

With the increasing nutrient pollution of freshwater ecosystems, lots of freshwaters, suffer from extensive cyanobacterial blooms in the summer. Most of cyanobacteria produce a broad range of compounds with various chemical and toxicological properties. Continuous monitoring is essential for responding adequately to changes in water quality. Recently it has been demonstrated that the measurement of phycocyanin fluorescence is an effective early warning system for cyanobacteria. The aim of the present study is to evaluate the seasonal dynamics of phycocyanin in Lake Pamvotis, using fluorescence method. Also, a correlation of phycocyanin concentration with chl-a concentration was performed. Pamvotis Lake is a highly eutrophic ecosystem with frequent cyanobacterial blooms. Depth integrated water samples (0-5m) for chlorophyll-a and phycocyanin determinations were collected monthly from two sampling stations (s1,s2) in Lake Pamvotis from February 2008 to February 2009. The phycocyanin concentrations were determined with measurements of the fluorescence of phycocyanin, extracted from samples, at an excitation wavelength of 620 nm and an emission wavelength of 645 nm. Chl-a was quantified spectrophotometrically as outlined in A.P.H.A. The results of this study indicate that phycocyanin and chl-a concentrations were highest during the period July-October for both of the sampling stations. Also, phycocyanin concentration showed a strong correlation with chl-a concentration ( $r=0.989$ ) suggesting that it could be a useful index for cyanobacterial estimation in Lake Pamvotis. Concentrations of phycocyanin throughout the year, classify Lake Pamvotis between the medium and high level of the alert system, specific for cyanobacteria occurrence and further for cyanotoxins production.

**ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ *wiser* ΤΗΣ *Drosophila melanogaster* ΕΜΠΛΕΚΕΤΑΙ ΣΤΟΝ  
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΟΥ ΡΑΧΙΟΚΟΙΛΙΑΚΟΥ ΑΞΟΝΑ ΤΟΥ ΦΤΕΡΟΥ****Παπαδημητρόπουλος Μ.-Εμ. και Γ. Γιαννόπουλος**Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Τμήμα Βιολογίας,  
Πανεπιστήμιο Πατρών

Η μελέτη της φυλοσύνδετης μετάλλαξης *wiser<sup>ts1</sup>* αποκάλυψε ότι υπεύθυνο για το scalloped φαινότυπο και τη θερμοευαισθησία είναι το γονίδιο CG32711, που ονομάζουμε *wiser* (wings scalloped- eyes rough). Το γονίδιο *wiser* είναι απαραίτητο για τη σωστή ανάπτυξη της Δροσόφιλας. Η μετάλλαξη *wiser<sup>ts1</sup>* χαρτογραφείται στη 5' ρυθμιστική περιοχή του γονιδίου *wiser*. Στην ίδια περιοχή χαρτογραφείται και η θανατογόνος μετάλλαξη PL26. Με τη χρήση αυτών των δυο μεταλλάξεων βρήκαμε ότι: α) Οι μεταλλάξεις *wiser<sup>ts1</sup>* και PL26 ενισχύουν το φαινότυπο των μεταλλάξεων *Bx<sup>1</sup>* και *Ser<sup>1</sup>*. Τα γονίδια *Bx* και *Ser* εμπλέκονται στην ενεργοποίηση του Notch μονοπατιού σηματοδότησης κατά μήκος του ραχιαίο-κοιλιακού άξονα του φτερού. Η παρατήρηση αυτή δείχνει ότι το *wiser* εμπλέκεται στον προσδιορισμό του ραχιαίο-κοιλιακού άξονα. β) Η μετάλλαξη *wiser<sup>ts1</sup>* σε ομοζυγωτία μειώνει σημαντικά την έκφραση των γονιδίων *fringe*, *E(spl)*, *vestigial* και *Distalless*, μειώνει λιγότερο την έκφραση του *wingless* και καθόλου την έκφραση του *apterous* (όπως έδειξε η μελέτη των αντίστοιχων *-lacZ* στελεχών) σε εμβρυικούς δίσκους φτερού. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η έκφραση του *fringe* (τροποποιητής του Notch) εξαρτάται και από το *wiser*. γ) Η δημιουργία σωματικών κλώνων με το σύστημα FRT/FLP, σε PL26 άτομα οδήγησε στη δημιουργία μιτωτικών +/+ και PL26/PL26 κλώνων με διαφορετικό μέγεθος. Οι πρώτοι κλώνοι (+/+) έχουν σημαντικά μεγαλύτερο μέγεθος από τους δεύτερους όταν συμβαίνουν στη περιοχή του εμβρυικού δίσκου που θα δώσει το φτερό του ακμαίου ατόμου. Επίσης προκύπτουν ακμαία θηλυκά με scalloped φαινότυπο φτερών. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι το γονίδιο *wiser* εμπλέκεται στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Όλα τα παραπάνω αποτελέσματα δείχνουν ότι το γονίδιο *wiser* είναι απαραίτητο για την ανάπτυξη του φτερού, καθώς εμπλέκεται στο σχηματισμό του ραχιοκοιλιακού άξονα και επηρεάζει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων.



**THE *wiser* GENE IS IMPLICATED IN THE DEVELOPMENT OF DORSAL-  
VENTRAL AXIS OF *Drosophila* WING**

*Papadimitropoulos M-Em., and G. Yannopoulos*

*Division of Genetics, Cell and Developmental Biology, Department of Biology, University  
of Patras.*

The analysis of the X-linked *wiser<sup>tsl</sup>* mutation has shown that responsible for the scalloped phenotype and the temperature sensitivity is the CG32711 gene, which we name *wiser* (*wings scalloped-eyes rough*). The gene *wiser* is essential for *Drosophila* development. The *wiser<sup>tsl</sup>* mutation is mapped at the 5' regulatory region of the gene CG32711. The PL26 lethal mutation is mapped in the same region. Using these two mutations we have shown that: a) The *wiser<sup>tsl</sup>* and PL26 mutations increase the wing scalloping (phenotype) of the mutations *Bx<sup>1</sup>* και *Ser<sup>1</sup>*. The genes *Bx* και *Ser* are implicated in the activation of *Notch*. This observation indicates that the *wiser* gene is involved in determination of dorsal-ventral axis. b) The *wiser<sup>tsl</sup>* mutation in homozygous condition reduces substantially the expression of *fringe*, *E(spl)*, *vestigial* and *Distalless* genes, reduces poorly the expression of *wingless* and does not affect the expression of *apterous* gene (revealed by the corresponding *-lacZ* strains) in the wing imaginal disc. This indicates that the expression of *fringe* (a modifier of Notch) is regulated by *wiser* too. c) Induction of somatic clones with the FRT/FLP system in PL26 mutants led to mitotic +/+ and PL26/PL26 clones of different sizes. The first clones were much larger than the second ones in the territory of wing pouch. Adult females with scalloped wings were also produced. These results indicate that the *wiser* gene is involved in cell proliferation. All the above findings suggest that the *wiser* gene is essential for wing development and cell proliferation.

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΣΧΕΣΕΙΣ ΕΙΔΩΝ ΤΗΣ  
ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ *Sphaeromatidae* (Crustacea, Isopoda)Παπαϊωάννου Χ.<sup>1</sup>, Κλώσσα-Κίλια Ε.<sup>2</sup>, Σφενδουράκης Σ.<sup>2</sup>, Κίλιας Γ.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου & Ανάπτυξης, <sup>2</sup>Τομέας Βιολογίας Ζώων,  
Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών,  
E-mail: [joyipapaioannou@gmail.com](mailto:joyipapaioannou@gmail.com), [sfendo@upatras.gr](mailto:sfendo@upatras.gr)

Τα ισόποδα αποτελούν τα πιο ποικίλα σε δομή και τα πλουσιότερα σε είδη καρκινοειδή της υπέρταξης Peracarida. Περιλαμβάνουν, κατά προσέγγιση, 10.000 περιγεγραμμένα είδη και κατατάσσονται σε 10 υποτάξεις. Η οικογένεια *Sphaeromatidae* (Flabellifera) περιλαμβάνει αντιπροσώπους οι οποίοι εποικούν σε όλες τις παράκτιες περιοχές (θάλασσες, λίμνες, ποταμούς, υπόγεια ρεύματα, θερμές πηγές, κλπ.). Ο βασικός στόχος της παρούσας μελέτης είναι ο προσδιορισμός της γενετικής δομής και των φυλογενετικών σχέσεων μεταξύ πληθυσμών ενός «είδους» της οικογένειας *Sphaeromatidae* (*Sphaeroma serratum sensu lato*), το οποίο εξαπλώνεται ευρέως στα ρηχά νερά της παραλιακής ζώνης, ώστε να διαπιστωθεί ο βαθμός απομόνωσής τους και να ελεγχθεί η ύπαρξη πιθανής γεωγραφικής δομής στο πρότυπο εξάπλωσής τους. Οι πληθυσμοί που χρησιμοποιήθηκαν προέρχονται τόσο από περιοχές της δυτικής και της κεντρικής Ελλάδας όσο και από περιοχές του Αιγαίου. Ως μοριακοί δείκτες στη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκαν δυο μιτοχονδριακά γονίδια, συγκεκριμένα, τμήματα του 16S rDNA και της COI, τα οποία πολλαπλασιάστηκαν με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR). Από τον προσδιορισμό της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας των τμημάτων αυτών προέκυψαν 396 βάσεις για το 16S rDNA και 500 βάσεις για την COI. Με βάση τα αποτελέσματα αυτά υπολογίστηκαν οι γενετικές αποστάσεις και κατασκευάστηκαν φυλογενετικά δέντρα με τρεις διαφορετικές μεθόδους (Neighbor Joining, Maximum Parsimony & Bayesian Inference). Τα πρώτα αποτελέσματα δείχνουν έντονη γενετική διαφοροποίηση μεταξύ των πληθυσμών του *S. serratum*, καθώς και μεγάλη διαφοροποίηση μεταξύ του είδους αυτού και του *Lekanesphaera hookeri*, το οποίο χρησιμοποιήθηκε ως εξωμάδα. Η διαφοροποίηση εντός του είδους δεν δείχνει σαφές γεωγραφικό πρότυπο αλλά εμφανίζονται μεγάλες αποστάσεις μεταξύ πολύ κοντινών γεωγραφικά πληθυσμών, κάτι που πιθανώς υποδηλώνει την ύπαρξη κρυπτικού είδους μέσα στους πληθυσμούς του *S. serratum*. Η έρευνα συνεχίζεται με τη μελέτη περισσότερων πληθυσμών, από διαφορετικές περιοχές.

**GENETIC STRUCTURE AND PHYLOGENETIC RELATIONS OF SPECIES IN  
THE FAMILY Sphaeromatidae (Crustacea, Isopoda)**

*Papaioannou Ch.<sup>1</sup>, Klossa-Kilia E.<sup>2</sup>, Sfenthourakis S.<sup>2</sup>, Kiliadis G.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Section of Genetics, Cell Biology & Development, <sup>2</sup>Section of Animal Biology,  
Department of Biology, University of Patras  
E-mail: [joyipapaioannou@gmail.com](mailto:joyipapaioannou@gmail.com), [sfendo@upatras.gr](mailto:sfendo@upatras.gr)

Isopods are the most diverse in form and the most species-rich crustaceans of the superorder Peracarida. The Isopoda include approximately 10,000 described species, in 10 suborders. The family Sphaeromatidae (Flabellifera) includes species that colonize marine shorelines, as well as freshwater habitats (lakes, rivers, underground waters, thermal springs, etc.). The main object of this study is the description of the genetic structure and the identification of the phylogenetic relations among populations of one 'species' of Sphaeromatidae, namely *Sphaeroma serratum* (sensu lato), which is distributed widely in the shallows of the tidal zone. The study aims to estimate isolation rates and test for possible geographic structure in the genetic make-up of the respective populations. The material used was collected from both the western and central Greece (Ionian Sea, Patraikos and Korinthiakos Gulfs) and the Aegean Sea. Two mitochondrial markers (16S rDNA & COI) were used, which were amplified by the Polymerase Chain Reaction (PCR). Sequencing resulted in 396 base pairs for 16S rDNA and 500 base pairs for COI, from which genetic distances were calculated and phylogenetic trees were constructed using three different algorithms (Neighbor Joining, Maximum Parsimony & Bayesian Inference). The first results show great genetic divergence among *S. serratum* populations, as well as between this species and *Lekanesphaera hookeri*, which was used as outgroup. Divergence patterns do not show any clear geographic structure, but there is great genetic distance between neighbouring populations implicating the existence of some cryptic species. The study will continue with the analysis of more populations, from more locations.

**ΑΡΧΑΙΑ ΚΟΡΙΝΘΟΣ: ΕΝΑ ΠΙΛΟΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ  
ΒΙΟΑΡΧΑΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ**

*Παπαναστασόπουλος Κ., Κουσκούκης Α., Γεωργίου Μ. και Σ.Κ. Μανώλης*

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 84 Αθήνα.*

*E-mail: [smanol@biol.uoa.gr](mailto:smanol@biol.uoa.gr)*

Η βιοαρχαιολογική προσέγγιση στη μελέτη αρχαιολογικών σκελετών κερδίζει συνεχώς έδαφος με αποτέλεσμα την απόκτηση όλο και περισσότερων πληροφοριών για τους προϊστορικούς πληθυσμούς. Η μελέτη της Αρχαίας Κορίνθου, μιας περιοχής με πλούσια ιστορία, αποτελεί ένα πιλοτικό ερευνητικό πρόγραμμα. Στο πρόγραμμα αυτό μελετάμε ολιστικά το ανθρώπινο σκελετικό υλικό, δηλαδή από άποψη δημογραφίας, διατροφής, ασθένειας – υγείας και γενετικών συγγενειών (μετρικά, μη-μετρούμενα χαρακτηριστικά και αρχαίο DNA). Το ανθρώπινο σκελετικό υλικό της παρούσας μελέτης προέρχεται από σωστικές ανασκαφές που έλαβαν χώρα από την δεκαετία του 1960 (Κρητικά, 1966) μέχρι το 2004 (ανασκαφή προαστιακού σιδηροδρόμου). Χρονικά κατανέμεται από τη Μυκηναϊκή περίοδο μέχρι τους Κλασικούς χρόνους. Το σύνολο των νεκρών που αναγνωρίστηκαν είναι 405 άτομα (109 άρρενα, 73 θήλεα και 223 απροσδιόριστα). Το μέσο ανάστημα κυμαίνεται από 168-172 εκ. και 155-158 για άνδρες και γυναίκες αντίστοιχα. Από την ανάλυση σταθερών ισotόπων C, N, για 3 θέσεις (Περαχώρα, Κρητικά και Αλμυρή) προκύπτει ότι έχουμε κατανάλωση ζωικών πρωτεϊνών (κρέας και γαλακτοκομικά προϊόντα) σε ποσοστά 50-70%, ενώ για 2 θέσεις (Αλμυρή, Περαχώρα) φαίνεται ότι έχουμε κατανάλωση C4 φυτών. Η παλαιοπαθο-λογική μελέτη κατέγραψε περιπτώσεις οστεοαρθρίτιδας, οζιδίων Schmorl, οστέο-φυτων, *Cribra orbitalia* (ένδειξη σιδηροπενικής αναιμίας και/ή κάποιας μορφής φλεγμονής), οστεομυελίτιδας και συνοστέωσης σπονδύλων, όπως επίσης και προθανάτιες απώλειες δοντιών. Η οδοντική βιομετρική μελέτη έδειξε μια ομοιογένεια μεταξύ των θέσεων. Σε μια πρώτη εκτίμηση των δεδομένων που έχουμε φαίνεται ότι πρόκειται για πληθυσμό με γενικά καλή υγεία και διατροφή, αλλά με σημαντική σωματική καταπόνηση. Εκκρεμούν ακόμη οι παλαιοδιατροφικές αναλύσεις των υπολοίπων θέσεων όπως και η διερεύνηση της συγγένειας (με αρχαίο DNA) του πληθυσμού της Αρχαίας Κορίνθου με γειτονικούς πληθυσμούς και κυρίως με την αποικία της στην Κέρκυρα.

**ANCIENT CORINTH: A PILOT BIOARCHAEOLOGICAL RESEARCH  
PROJECT**

*Papanastasopoulos C., Kouskoukis A., Georgiou M., and S.K. Manolis*

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

The bioarchaeological approach in the study of archaeological skeletons gains continuously ground with result the acquisition of much more information for the prehistoric populations. The study of Ancient Corinth, a region with rich prehistory and history, constitutes a pilot research program. In this program we study holistically the human skeletal material, (i.e. demography, diet, health-disease, genetic relationships (metric, nonmetric traits, and ancient DNA). The human skeletal material of the present study is coming from archaeological excavations that conducted from the '60s (Kritika Corinth, 1966) up to 2004 (excavation of suburban railway). The material is dated from Late Bronze Age to Classical times. The total number of dead is 405 individuals (109 males, 73 females, and 223 indeterminable). The medium stature ranges from 168-172 and 155-158 cm for males and females respectively. From the analysis of stable isotopes C, N, for 3 sites (EBA Perachora, Kritika and Almyri) it seems that the people of Ancient Corinth consumed animal proteins (meat and dairy products) in high percentages (50-70%), while for 2 places (Almyri, Perachora) it appears that they consumed C4 plants. The palaeopathological study recorded cases of osteoarthritis, Schmorl's nodules, osteophytes, Cribra orbitalia (possible iron deficiency anaemia and/or some form of inflammation), osteomyelitis and vertebral synostoses, as also pre mortem tooth loss. The dental biometric study showed homogeneity between the excavated sites. A first evaluation of the data that we have it seems that the population of Ancient Corinth had generally good level of health and diet, but there are signs of severe body stress (due to heavy agropastoral work). We are planning to continue the research continuing the palaeodietary analyses of the rest 3 sites, as well as the investigation of the genetic relationships (by ancient DNA) of the population of Ancient Corinth to other neighbouring populations and mainly to its colony at Corfu Island.

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ, ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΚΑΙ ΧΑΡΤΟΓΡΑΦΗΣΗ ΤΩΝ  
ΣΥΧΝΟΤΗΤΩΝ ΣΗΜΕΙΑΚΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ β-ΘΑΛΑΣΣΑΙΜΙΑΣ ΣΤΟΝ  
ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΤΗΣ ΝΟΤΙΟΔΥΤΙΚΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ**

**Παπαχατζοπούλου Α.<sup>1</sup>, Κουρακλή Α.<sup>2</sup>, Σταύρου Ε.<sup>1</sup>, Βανταράκης Α.<sup>3</sup>, Φράγκου  
Α.<sup>3</sup>, Πατρινός Γ.<sup>4,5</sup>, Αθανασιάδου Α.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Εργ. Γεν. Βιολογίας, Μονάδα Μοριακής Γενετικής, και <sup>3</sup>Εργ. Υγιεινής, Τμήμα  
Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, <sup>2</sup>Αιματολογικό Τμήμα, ΠΠΓΝΠ, <sup>4</sup> Τμήμα  
Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, <sup>5</sup> Erasmus MC, Faculty of Medicine and  
Health Sciences, Dep. of Cell Biology and Genetics, Rotterdam, Ολλανδία.

Η β-θαλασσαιμία είναι αρκετά διαδεδομένη στην χώρα μας, όπου το ποσοστό των ετεροζυγωτών κατά μέσο όρο φτάνει το 8%. Ο παθολογικός φαινότυπος της νόσου οφείλεται κυρίως σε σημειακές μεταλλάξεις, που μειώνουν ή απαλείφουν τελείως την παραγωγή αλυσίδων β-σφαιρίνης. Άτομα που φέρουν τέτοιες μεταλλάξεις σε ομοζυγωτία ή διπλή ετεροζυγωτία, παράγουν ελάχιστη ή καθόλου αιμοσφαιρίνη Α των ενηλίκων. Αποτέλεσμα αυτού είναι οι πάσχοντες να εμφανίζουν βαριά αναιμία, σκελετικές αλλοιώσεις, ηπατομεγαλία και σπληνομεγαλία. Η επιβίωση αυτών των πασχόντων εξασφαλίζεται με συχνές μεταγγίσεις αίματος και ταυτόχρονη αποσιδήρωση. Η μοριακή ανάλυση των πασχόντων έγινε με αλληλούχιση του DNA (DNA sequencing) των β-σφαιρινικών γονιδίων κάθε πάσχοντα και με PCR πραγματικού χρόνου (real-time PCR). Αναλύθηκαν 203 ασθενείς, από την Πάτρα (38,5%), το Αγρίνιο (9,9%) και τον Πύργο (7,1%). Από τη γενετική ανάλυση των ασθενών βρέθηκε, ότι οι συχνότητες των μεταλλάξεων: IVSI-110 38,70% (η πρώτη σε συχνότητα μετάλλαξη) και cd39 21.15% (η δεύτερη σε συχνότητα) αποκλίνουν από τις μέχρι τώρα αναφερόμενες. Ο βαθμός συσχέτισης των μεταλλάξεων στην ομάδα του πληθυσμού μεταξύ των δύο χρωμοσωμάτων είναι σχετικά υψηλός ( $r=0.67$ ). Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η δημιουργία εμπειριστατωμένων αρχείων για τους πάσχοντες στην Ν.Δυτική Ελλάδα με τις συχνότητες των μεταλλάξεων των β-σφαιρινικών γονιδίων, διότι με βάση πρόσφατες μελέτες οι συχνότητες αυτές, τουλάχιστον για ορισμένες μεταλλάξεις, διαφέρουν από περιοχή σε περιοχή σε σχέση με εκείνες που έχουν καταγραφεί για ολόκληρη την Ελλάδα. Επίσης, παρέχεται η δυνατότητα ενημέρωσης των ήδη πασχόντων, και κατ' επέκταση και η ευκαιρία, μέσω του προγεννητικού ελέγχου, για καλύτερο οικογενειακό προγραμματισμό.

**DETERMINATION AND DOCUMENTATION OF THE INCIDENCE OF  $\beta$ -  
THALASSEMIA AND  $\beta$ -GLOBIN GENE MUTATION FREQUENCIES IN  
SOUTH WESTERN GREECE**

*Papachatzopoulou A.<sup>1</sup>, Kourakli A.<sup>2</sup>, Stavrou E.<sup>1</sup>, Vantarakis A.<sup>3</sup>, Frangou E.<sup>3</sup>,  
Patrinos G.<sup>4,5</sup>, Athanassiadou A.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup> Lab. of Gen.Biology, and <sup>3</sup>Lab. of Public Health, University of Patras, School of Health  
Sciences, <sup>2</sup>University Regional Hospital of Patras, Hematology Unit,  
<sup>4</sup> Dep.t of Pharmacy, University of Patras, <sup>5</sup>Erasmus MC, Faculty of Medicine and Health  
Science, Dep. of Cel.Biol & Genetics, Rotterdam, the Netherlands*

In Greece, heterozygotes account for 8% of the general population.  $\beta$ -thalassemia is highly heterogeneous at the clinical and molecular levels, caused mainly by point mutations in the  $\beta$ -globin gene, affecting almost every aspect of its expression. Due to this effect, production of the  $\beta$ -globin chains are partially or totally reduced with a direct effect in the resulting amounts of adult hemoglobin (Hb A). Homozygotes or compound heterozygotes presenting with severe defects suffer from  $\beta$ -thalassemia major. A  $\beta$ -globin defect in homozygosity (or compound heterozygosity) leads to pronounced anemia, bone deformities, hepatomegaly and splenomegaly. Current treatment of those patients consists of regular, life-long blood transfusions combined with iron chelation. In this study we determined and recorded the  $\beta$ -thalassemia mutations that frequently occur in the population of South Western Greece in patients with  $\beta$ -thalassemia major and intermedia, as well as compound heterozygotes patients for  $\beta$ -thalassemia and sickle cell disease. Molecular diagnosis of these patients was performed with DNA sequencing coupled with real-time PCR. We analyzed 203 patients and determined the frequencies of  $\beta$ - globin gene mutations, which seemed to differ of those, reported in other studies. The mutations IVSI-110 (38.70%) and cd39 (21.15%) were the most frequent ones. The coefficient correlation of these two mutations among the two chromosomes was strong ( $r=0.67$ ). The aim of this study was to document the incidence of  $\beta$ -thalassemia and the  $\beta$ -globin gene mutation frequencies in S. W.Greece, since recent studies revealed that these frequencies differ substantially, for certain mutations, compared to the entire country. Genotyping may offer the chance for better family planning, in these patients.

**ΜΕΛΕΤΕΣ ΔΟΜΗΣ-ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΤΟΝ ΜΕΤΑΦΟΡΕΑ ΠΟΥΡΙΝΩΝ  
UapA**

Παπαχριστοδούλου Α.<sup>1</sup>, Κωστίδης Σ.<sup>1</sup>, Μπενάκη Δ.<sup>2</sup>, Διαλλινάς Γ.<sup>3</sup>, Μικρός Ε.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο  
Αθηνών, Ελλάδα, <sup>2</sup>Ινστιτούτο Βιολογίας, Ε.Κ.Ε.Φ.Ε Δημόκριτος, 15310 Αθήνα,

<sup>3</sup>Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ελλάδα

Ο μεταφορέας UapA του ασκομύκητα *Aspergillus nidulans* χαρακτηρίζεται από εξαιρετική εξειδίκευση και υψηλή συγγένεια για το ουρικό και την ξανθίνη. Αποτελείται από 574 αμινοξέα, τα οποία προβλέπεται ότι διατάσσονται σε 12 διαμεμβρανικά τμήματα (α-έλικες, TMS). Τα κινητικά χαρακτηριστικά του UapA βασίζονται σε μία περιοχή μεταξύ του TMS8 και TMS9, όπου έχει προταθεί ότι βρίσκεται το ενεργό κέντρο της πρωτεΐνης. Πιο συγκεκριμένα, γενετικές μελέτες έχουν δείξει ότι μία αλληλουχία τεσσάρων αμινοξέων (QNNG) του παραπάνω τμήματος έχει σημαντικό ρόλο στην αναγνώριση και μεταφορά του ουρικού και της ξανθίνης, καθώς και αναλόγων μορίων, από τον UapA. Η αποσαφήνιση της δομής της πρωτεΐνης αποτελεί σημαντικό βήμα στην κατανόηση της αλληλεπίδρασής της με πιθανά υποστρώματα ή μόρια προσδέτες, δεν έχει όμως καταστεί δυνατή μέχρι σήμερα με τις κλασσικές μεθόδους κρυσταλλογραφίας και φασματοσκοπίας NMR. Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη δομικών χαρακτηριστικών που επηρεάζουν τη δράση του UapA. Για το σκοπό αυτό συντέθηκε το δεκαπενταπεπτιδίο MTTFANNGVIALTR, το οποίο αποτελεί τμήμα της αλληλουχίας του ενεργού κέντρου της πρωτεΐνης και πραγματοποιήθηκε διαμορφωτική ανάλυση με φασματοσκοπία NMR. Σύμφωνα με τα πειραματικά δεδομένα 2D NMR, TOCSY και NOESY σε υδατικό διάλυμα, υπάρχει μία σαφής τάση αναδίπλωσης του πεπτιδικού σκελετού στα αμινοξέα που θεωρούνται υπεύθυνα για τη βιολογική δράση του μεταφορέα. Επιπλέον, η εισαγωγή των NMR δεδομένων σε κατάλληλο λογισμικό μοριακής προσομοίωσης (CNS) επιβεβαιώνει την ύπαρξη στροφής στο τμήμα -NNGV-, όπως επίσης και την τάση του -VIALTR- τμήματος του πεπτιδικού σκελετού να υιοθετεί ελικοειδή διαμόρφωση. Περαιτέρω πληροφορίες για τον τρόπο αλληλεπίδρασης του UapA με τον πουρινικό δακτύλιο, αναμένεται να προκύψουν από μελέτες πρόσδεσης του δεκαπενταπεπτιδίου με φυσιολογικά υποστρώματα και προσδέτες, και την παρατήρησή τους με πειράματα NMR και κυκλικού διχρωισμού.



## STRUCTURE-ACTIVITY STUDIES IN A PURINE TRANSPORTER (UapA)

*Papachristodoulou A.<sup>1</sup>, Kostidis S.<sup>1</sup>, Benaki D.<sup>2</sup>, Diallinas G.<sup>3</sup>, Mikros E.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> Division of Pharmaceutical Chemistry, Dept of Pharmacy, University of Athens, Greece

<sup>2</sup> Institute of Biology, NCSR "Democritos", 15310 Athens, Greece

<sup>3</sup> Division of Botany, Department of Biology, University of Athens, Greece

UapA is a highly specific transmembrane transporter of xanthine and uric acid in the ascomycete *Aspergillus nidulans*. It consists of 574 aminoacids predicted to form 12 transmembrane helical domains (TMS). The specificity of UapA is primarily based on conformational characteristics of the protein active center, which is proposed to be located between TMS8 and TMS9. It has been shown by mutational studies that four aminoacids (QNNG) immediately upstream from TMS9 play an important role for the binding and transport of substrates. The elucidation of the protein conformation is an important step to understand its interactions with substrates and other possible ligands, but no structure is available from crystallography and/or NMR spectroscopy until now. The aim of this work was to study structural features that affect the activity of UapA. To this end a 15 residue fragment, MTTFAQNNGVIALTR, which incorporates part of the proposed active center of the protein, was synthesized and the structure was studied by NMR spectroscopy. Analysis of the NMR experimental data (2D NMR TOCSY and NOESY) in aqueous solution has shown a propensity of the peptidic backbone, to adopt a local turn-like structure around the residues responsible for the biological activity of the transporter. In addition, molecular simulation calculations based on the NMR data, using the CNS distance geometry software package, confirm the existence of a turn at the fragment -NNGV- as well as the potency of the -VIALTR- part of the peptide to adopt a helical conformation. This result is supported by Cys-scanning mutagenesis analysis of the homologous transporter in *Escherichia coli*. Further NMR and CD experiments are planed in order to study the binding of the decapeptide with various ligands in order to reveal the factors influencing the interaction of UapA with its physiological substrates and analogues which can be tested as novel antifungals.

**ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ADIPOR1, APPL1 ΚΑΙ RAB5 ΣΕ ΣΧΕΣΗ  
ΜΕ ΤΗΝ ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ ΣΕ ΛΕΠΤΟΣΩΜΑ ΚΑΙ  
ΠΑΧΥΣΑΡΚΑ ΠΑΙΔΙΑ**

*Παππά Α.<sup>1</sup>, Καρβέλα Α.<sup>1</sup>, Ρόχας-Χίλ Α.-Π.<sup>1</sup>, Σαμκινίδου Ε.<sup>2</sup>, Γεωργίου Γ.<sup>2</sup>,  
Γκρέκα-Σπηλιώτη Β.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Ερευνητικό Εργαστήριο Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας, Μονάδα Παιδιατρικής  
Ενδοκρινολογίας και Διαβήτη, Τμήμα Παιδιατρικής Κλινικής, Ιατρική Σχολή,  
Πανεπιστήμιο Πατρών, <sup>2</sup>Τμήμα Παιδιατρικής Χειρουργικής, Καραμανδάνειο  
Νοσοκομείο Παιδών, Πάτρα*

**Εισαγωγή:** Η παιδική παχυσαρκία σχετίζεται με την ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη. Η αδιπονεκτίνη και ο υποδοχέας της AdipoR1 ρυθμίζουν την ευαισθησία στην ινσουλίνη μέσω των μορίων Appl1 και Rab5, τα οποία ενεργοποιούν τη μεταφορά του Glut4. **Σκοπός:** Να μελετήσουμε τα επίπεδα έκφρασης των AdipoR1, APPL1 και Rab5 σε παχύσαρκα και λεπτόσωμα παιδιά σε σχέση με τα επίπεδα HMW αδιπονεκτίνης (HMW) και ινσουλίνης. **Μέθοδοι:** Αναπτύχθηκαν πρωτογενής καλλιέργειες πρό- και ώριμων λιποκυττάρων (ΩΛ) από βιοψίες υποδόριου κοιλιακού λιπώδους ιστού χειρουργείων ρουτίνας, 17 παχύσαρκων (BMI  $\geq$  95%) και 36 λεπτών (BMI < 85%) προεφηβικών παιδιών, όπου χωρίστηκαν στις ηλικιακές ομάδες: **A:** 2 μηνών-7 ετών, **B:** 8-12 ετών. Η έκφραση των AdipoR1, APPL1 και Rab5 μελετήθηκε σε επίπεδο mRNA (mR) με την μέθοδο RT-PCR και των AdipoR1, APPL1 σε πρωτεϊνικό επίπεδο (Pr) με western immunoblotting. Η HMW και η ινσουλίνη μετρήθηκαν με ELISA. **Αποτελέσματα:** Η HMW βρέθηκε μειωμένη στα παιδιά της ομάδας B και αυξημένη στα μικρότερα παχύσαρκα παιδιά, συγκριτικά με την ομάδα A και όλα τα παιδιά, αντίστοιχα. Το AdipoR1 Pr βρέθηκε μειωμένο στα ΩΛ των παχύσαρκων παιδιών και των δύο ομάδων σε σύγκριση με τα λεπτά τους ( $p < 0.05$ ). Το APPL1 mR και Pr, ήταν αυξημένο ( $p = 0.005$ ) στα ΩΛ των μικρότερων παχύσαρκων παιδιών σε σχέση με τα λεπτά. Η ινσουλίνη ήταν αυξημένη στα μεγαλύτερα παιδιά σε σύγκριση με τα μικρότερα. **Συμπεράσματα:** Η μειωμένη HMW και η αυξημένη ινσουλίνη στα μεγαλύτερα παιδιά, πιθανόν να αντικατοπτρίζουν τη «φυσιολογική» αντίσταση στην ινσουλίνη της εφηβείας. Η μείωση του AdipoR1 και του Rab5, μαζί με την μειωμένη HMW στα μεγαλύτερα παχύσαρκα παιδιά, ενδεχομένως να αυξάνει την εφηβική αντίσταση στην ινσουλίνη. Η ινσουλινοευαισθησία των μικρών παχύσαρκων παιδιών, ίσως οφείλεται στην προστατευτική αύξηση της HMW και του APPL1, σε αντιπαράθεση με τα μειωμένα AdipoR1 και Rab5.

**DIFFERENCES IN THE EXPRESSION OF ADIPOR1, APPL1 AND RAB5 IN  
RELATION TO ADIPONECTIN AND INSULIN IN LEAN AND OBESE  
CHILDREN**

*Pappa A.<sup>1</sup>, Karvela A.<sup>1</sup>, Rojas-Gil A.-P.<sup>1</sup>, Samkinidou E.<sup>2</sup>, Georgiou G<sup>2</sup>,  
Spiliotis B.E.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Pediatric Endocrine Research Laboratory, Division of Pediatric Endocrinology and  
Diabetes, Department of Pediatrics, School of Medicine, University of Patras, <sup>2</sup>Department  
of Pediatric Surgery, Karamandaneio Childrens Hospital, Patra.*

**Introduction:** Childhood obesity is associated with the development of insulin resistance. Adiponectin and its receptor AdipoR1 regulate insulin sensitivity via APPL1 and Rab5, which stimulate Glut4 transporter translocation. **Aim:** To study the expression levels of AdipoR1, APPL1 and Rab5 in obese and lean children in association with Adiponectin and Insulin. **Methods:** Primary cultures of pre- and mature adipocytes (m/ad) were developed from routine surgical biopsies of subcutaneous abdominal adipose tissue from 17 obese (BMI  $\geq$  95%) and 36 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, APPL1 and Rab5 was studied at the mRNA level (mR) by RT-PCR and AdipoR1, APPL1 at the protein level (Pr) by western immunoblotting. HMW Adiponectin (HMW) and serum Insulin were measured by ELISA. **Results:** HMW was decreased in lean and obese children of group B and increased in the younger obese children in comparison to all children. The Pr of AdipoR1 was significantly decreased in the mature adipocytes (m/ad) of the obese children in both age groups when compared to their lean ( $p < 0.05$ ). The mR and Pr of APPL1 were increased ( $p = 0.005$ ) in the m/ad of the younger obese children in comparison to the younger lean. Rab5 mR was significantly decreased in the m/ad of the older and younger obese children in comparison to their lean. Insulin was increased in the older obese and lean as compared to the younger children. **Conclusions:** The decreased HMW and increased insulin in the older children may pre-empt the "physiologic" insulin resistance of puberty. The decreased expression of AdipoR1 Pr and Rab5 mR together with the decreased HMW in the older obese pre-pubertal children may increase the risk of increased insulin resistance during puberty. The normal insulin sensitivity of the young obese children may be due to the protective increase in HMW and APPL1 despite the decreased AdipoR1 and Rab5.

**ΔΙΑΜΕΣΟΛΑΒΗΤΕΣ ΤΗΣ ΕΝΔΟΚΥΤΩΣΗΣ ΜΕΤΑΦΟΡΕΩΝ ΣΤΟΝ *A. NIDULANS*: Ο ΠΡΩΤΑΓΩΝΙΣΤΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ Hu1A ΛΙΓΑΣΗΣ ΤΗΣ ΟΥΒΙΚΟΥΙΤΙΝΗΣ**

*Παυλίδης Α., Αμίλλης Σ., Πασπαλιάρης Β., Διαλλινάς Γ. και Χρ. Γουρνάς*

*Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθήνας, Ελλάδα, E-mail: [diallina@biol.uoa.gr](mailto:diallina@biol.uoa.gr)*

Η ουβικουιτινίωση είναι το σήμα για τον έλεγχο της διακίνησης και αποικοδόμησης μεταφορέων και υποδοχέων μέσω ενδοκύτωσης. Η τροποποίηση αυτή πραγματοποιείται από την E3 HECT λιγάση ουβικουιτίνης Rsp5p που περιέχει WW μοτίβα, τα οποία αλληλεπιδρούν με ειδικές ΡΥ αλληλουχίες των υποστρωμάτων της. Η λειτουργία και εξειδίκευση της Rsp5p απαιτεί την παρουσία ειδικών προσαρμοστών. Έχει δειχθεί πρόσφατα πως πρωτεΐνες ομοιάζουσες σε *αρρεστίνες* που περιέχουν ΡΥ αλληλουχίες μπορούν να δράσουν σαν προσαρμοστές για μια σειρά μεταφορέων του *Saccharomyces cerevisiae*, σε γενικές ή/και ειδικές συνθήκες. Ο νηματοειδής ασκομύκητας *Aspergillus nidulans* αποτελεί άριστο πρότυπο σύστημα μελέτης της διακίνησης και ενδοκύτωσης μεταφορέων σε πολωμένα κύτταρα. Διάφοροι μεταφορείς του *A. nidulans* έχουν πρόσφατα δειχθεί στο εργαστήριό μας να ενδοκυτώνονται από δύο διακριτά μονοπάτια, τα οποία ενεργοποιούνται από αμμωνία ή τα υποστρώματά τους. Σε αυτή την εργασία, κατασκευάζουμε μια σειρά ειδικών γενετικών και μοριακών εργαλείων για την περαιτέρω μελέτη των μηχανισμών ρύθμισης της έκφρασης μεταφορέων μέσω ενδοκυτωτικών φαινομένων. Ειδικότερα, μελετούμε το ρόλο των πρωτεϊνών Hu1A<sup>Rsp5p</sup> (λιγάση ουβικουιτίνης), NprA (κινάση), CreD και PalF (προσαρμογείς που ομοιάζουν σε *αρρεστίνες*) στην έκφραση εξελικτικά και λειτουργικά διακριτών μεταφορέων, οι οποίοι σχετίζονται με την πρόσληψη αμινοξέων (PrnB), πουρινών (UapA, UapC, AzgA), πυριμιδινών (FurD, FcyB) και νουκλεοσιδίων (CntA). Το κύριο συμπέρασμα είναι πως η Hu1A είναι απολύτως απαραίτητη για την ενδοκύτωση όλων των υπό μελέτη μεταφορέων, τόσο από αμμωνία, όσο και από υποστρώματα. Η NprA έχει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση του PrnB, ενώ οι CreD και PalF φαίνεται να μην λειτουργούν σαν προσαρμοστές της Hu1A-εξααρτώμενης ενδοκύτωσης των υπό μελέτη μεταφορέων.

**MEDIATORS OF TRANSPORTER ENDOCYTOSIS IN *A. NIDULANS*: THE  
PROTAGONIST ROLE OF Hula UBIQUITIN LIGASE**

*Pavlidis A., Amillis S., Paspaliaris V., Diallinas G., and Chr. Gournas*

*Faculty of Biology, University of Athens, Greece. E-mail: [diallina@biol.uoa.gr](mailto:diallina@biol.uoa.gr)*

Ubiquitination is the signal for the control of trafficking and the down-regulation by endocytosis of transporters and receptors. This modification is mediated by the Rsp5p (E3 HECT) ubiquitin ligase that possesses WW domains, interacting with cargo specific PY motifs. Rsp5p function and specificity requires the involvement of specific adaptors. It has been shown recently that arrestin-like proteins with PY motives can act as general and/or condition-specific adaptors for a set of transporters in *Saccharomyces cerevisiae*. The filamentous ascomycete *Aspergillus nidulans* is an excellent model system for studying transporter trafficking and endocytosis in polarised cells. Several transporters of *A. nidulans* have recently been shown, in our lab, to be endocytosed by two distinct pathways, activated by ammonium or substrates. In this work, we construct a set of specific genetic and molecular tools for further investigating the mechanisms of regulation of transporter expression by endocytic phenomena in *A. nidulans*. In particular, we study the role of the Hula (ubiquitin ligase), NprA (kinase), CreD and PalF (arrestin-like adaptors) proteins in the expression of several evolutionary and functionally distinct transporters involved in the uptake amino acids (PrnB), purines (UapA, UapC, AzgA), pyrimidines (FurD, FcyB) or nucleosides (CntA). The main conclusion is that Hula is absolutely required for the endocytosis of all transporters studied, both by ammonia and substrates. NprA plays a critical role in the regulation of PrnB, while CreD and PalF do not seem to function as mediators of Hula-dependent endocytosis of transporters studied.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ NUCKS ΚΑΤΑ ΤΗΝ  
ΕΜΒΡΥΪΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΑΡΟΥΡΑΙΟΥ**

Παύλου Μ.<sup>1</sup>, Δρόσος Γ.<sup>1</sup>, Γεωργούλης Αν.<sup>2</sup>, Χαβάκη Σ.<sup>2</sup>, Østvold A.C.<sup>3</sup>,  
Παταργιάς Θ.<sup>1</sup>, Κίττας Χρ.<sup>2</sup>, Μαρίνος Ε.<sup>2</sup>, Κουλούκουσα Μ.<sup>2</sup>, Κόλλια Π.<sup>1</sup>,  
Αλεπόρου-Μαρίνου Β.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας,

<sup>2</sup>Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιατρική Σχολή, Εργαστήριο Ιστολογίας και  
Εμβρυολογίας, <sup>3</sup>University of Oslo, Norway, Department of Medical Biochemistry,  
Institute Group of Basic Medical Science

Η NUCKS (Nuclear, Casein Kinase and cyclin-dependent kinase Substrate) είναι μία πυρηνική πρωτεΐνη που προσδένεται στο DNA και αποτελεί υπόστρωμα για πολλές κινάσες του κυτταρικού κύκλου, όπως η CK2 και η Cdk. Πρόσφατες μελέτες αποκάλυψαν 25 θέσεις φωσφορύλιωσης και πολλαπλές θέσεις ακετυλίωσης, μεθυλίωσης και φορμυλίωσης καταδεικνύοντας ότι η NUCKS υπόκειται σε εκτεταμένη μετα-μεταφραστική ρύθμιση. Το γονίδιο της NUCKS εμφανίζει τα χαρακτηριστικά ενός γονιδίου αναφοράς και εκφράζεται σε όλους τους ιστούς των σπονδυλοζώων. Ο ακριβής ρόλος της NUCKS δεν είναι γνωστός, αλλά πολλά δεδομένα υποστηρίζουν ότι εμπλέκεται στη διαδικασία της κυτταρικής διαίρεσης. Επίσης, έχει σημαντικό ρόλο στην εμβρυϊκή ανάπτυξη δεδομένου ότι εκφράζεται στα έμβρυα σταδίου 2-κυττάρων του ποντικού αλλά όχι στα αγονιμοποίητα και γονιμοποιημένα ωάρια. Υπάρχουν επίσης ενδείξεις αυξημένης έκφρασης της NUCKS στην απόπτωση που επάγεται από βλάβες στο DNA. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της έκφρασης της NUCKS σε έμβρυα αρουραίου διαφόρων ηλικιών προκειμένου να διερευνηθεί ο ρόλος της κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη και η συσχέτισή της με τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Η έκφραση της NUCKS μελετήθηκε σε ολόκληρα έμβρυα με τεχνικές ανοσοφθορισμού και *in situ* υβριδισμού και σε συγκεκριμένους ιστούς εμβρύων με Reverse Transcription PCR και ανοσοσύτρωμα κατά Western. Στους ίδιους ιστούς μελετήθηκαν τα επίπεδα των Bcl2, Bax και της ενεργοποιημένης κασπάσης-3. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η NUCKS εκφράζεται διαφορετικά σε διαφορετικά όργανα κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη. Η έκφραση του γονιδίου της NUCKS σχετίζεται άμεσα με την κυτταρική διαφοροποίηση και σε ορισμένους ιστούς όπως οι γονάδες και τα άκρα, φαίνεται να υπάρχει συσχέτιση με τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο.

## STUDY OF THE EXPRESSION OF NUCKS PROTEIN DURING EMBRYONIC DEVELOPMENT OF RAT

*Pavlou M.<sup>1</sup>, Drosos Y.<sup>1</sup>, Georgoulis An.<sup>2</sup>, Havaki S.<sup>2</sup>, Østvold A.C.<sup>3</sup>, Pataryas Th.<sup>1</sup>,  
Kittas Chr.<sup>2</sup>, Marinos E.<sup>2</sup>, Kouloukoussa M.<sup>2</sup>, Kollia P.<sup>1</sup>, Aleporou-Marinou V.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>University of Athens, Department of Biology, Division of Genetics and Biotechnology,  
<sup>2</sup>University of Athens, School of Medicine, Lab of Histology and Embryology, <sup>3</sup>University  
of Oslo, Norway, Department of Medical Biochemistry, Institute Group of Basic Medical  
Science

NUCKS (Nuclear, Casein Kinase and cyclin-dependent kinase Substrate) is a nuclear, DNA-binding protein known to be a substrate for CK2, Cdk1 and DNA-activated kinase *in vivo*. Proteomic studies have revealed 25 phosphorylation sites and multiple sites of acetylation, methylation and formylation, suggesting that NUCKS has the highest ratio of modified to unmodified residues of any protein so far described. The *NUCKS* gene has many features of being a housekeeping gene, and it is expressed in all vertebrate tissues investigated. The exact role of NUCKS is not clear, but the mitosis specific modification observed on the protein suggests that it may play a role in cell cycle progression. NUCKS protein is not expressed in unfertilized and fertilized mouse oocytes but it is expressed in 2 cell-stage embryos, indicating a major role in embryonic development. There is also evidence that NUCKS is up regulated in apoptosis induced by DNA damage. In the present work NUCKS expression has been studied in rat embryos of various ages in order to investigate its role during embryonic development as well as its correlation to programmed cell death. NUCKS expression was examined in whole rat embryos using immunofluorescence and *in situ* hybridization and in specific tissues of embryos using Reverse Transcription PCR and Western immuno blotting. The levels of Bcl2, Bax and activated caspase-3 were examined in the same tissues. The expression of NUCKS during embryonic development is clearly correlated to cell proliferation but in some tissues such as gonads and limbs it seems to be related to programmed cell death.

Η ΩΟΓΕΝΕΣΗ ΤΗΣ *Drosophila melanogaster* ΩΣ ΕΝΑ *in vivo* ΠΡΟΤΥΠΟ  
ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΓΙΑ ΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΟΥ  
ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΤΗΣ ΔΟΞΟΡΟΥΒΙΚΙΝΗΣ: Ο ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ  
ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ Dmp53

Περδικάρη Α.Σ.<sup>1</sup>, Βελέντζας Π.Δ.<sup>1</sup>, Βελέντζας Α.Δ.<sup>1</sup>, Μπάκου Β.Ε.<sup>1</sup>, Ζέρβας Χ.<sup>2</sup>,  
Βασιλάκη Ε.Γ.<sup>1</sup>, Πρέκα Κ.Π.<sup>1</sup>, Παπασιδέρη Ι.Σ.<sup>1</sup>, Μαργαρίτης Λ.Χ.<sup>1</sup>  
και Δ.Ι. Στραβοπόδη<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και  
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 15784,  
Αθήνα; <sup>2</sup>Εργαστήριο Γενετικής, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας  
Αθηνών, Σωράνου Εφεσίου 4, 11527, Αθήνα

Η Δοξορουβικίνη (Doxorubicin) αποτελεί ένα ανθρακυκλικό αντιβιοτικό που χρησιμοποιείται ευρύτατα στη χημειοθεραπεία του καρκίνου, αν και συχνά παρουσιάζει αξιοσημείωτη «συστημική» τοξικότητα. Η παρούσα μελέτη αφορά στη διερεύνηση του αποπτωτικού δυναμικού διαφορετικών συγκεντρώσεων Δοξορουβικίνης κατά την ωογένεση του Δίπτερου εντόμου *Drosophila melanogaster* φυσικού τύπου (*Dmp53<sup>+/+</sup>*) και μονογονιδιακά στοχευμένου-γενετικά ανεπαρκούς *Dmp53* τύπου (*Dmp53<sup>-/-</sup>*). Στην κατεύθυνση αυτή, πραγματοποιήθηκε η εφαρμογή στοχευμένων κυτταροβιολογικών χρώσεων, όπως πορτοκαλί της ακριδίνης, ιωδιούχου προπιδίου, φαλλοϊδίνης-ροδαμίνης και «lysotracker red», με σκοπό την ανίχνευση και ταυτοποίηση διακριτών μορφολογικών χαρακτηριστικών του αποπτωτικού θανάτου. Διαπιστώθηκε ότι η παρουσία της Δοξορουβικίνης οδηγεί σε αύξηση της ισχύος του φαινομένου της απόπτωσης στα φυσικού τύπου έντομα, σε αντίθεση με τα *Dmp53<sup>-/-</sup>* έντομα, όπου η επίδρασή της φαίνεται να τροποποιείται ανάλογα με το αποπτωτικό χαρακτηριστικό που εξετάζεται. Επιπρόσθετα, μελετήθηκε και «ποσοτικοποιήθηκε» η απουσία ή παρουσία των ωοθηκών της *D. melanogaster* μετά τη χορήγηση διαφορετικών συγκεντρώσεων Δοξορουβικίνης, καθώς και το μέγεθος αυτών, ενώ αποκαλύφθηκε η διαφορετική επίδραση του φαρμάκου στα δύο υπό μελέτη στελέχη, με τις ωοθήκες των *Dmp53<sup>-/-</sup>* ατόμων να αυξάνονται σε μέγεθος παρουσία Δοξορουβικίνης, όπου, σε αντίθεση με το φυσικού τύπου στέλεχος, δεν παρατηρήθηκαν έντομα χωρίς ωοθήκες. Παράλληλα, πραγματοποιήθηκε ανάλυση της βιωσιμότητας των δύο στελεχών, η οποία έκανε εμφανή τον εξαιρετικά σημαντικό ρόλο που διαδραματίζει η πρωτεΐνη Dmp53 στη φυσιολογία του εντόμου *D. melanogaster*.



***Drosophila melanogaster* OOGENESIS AS AN *in vivo* BIOLOGICAL MODEL  
SYSTEM FOR THE ASSESSMENT OF DOXORUBICIN APOPTOTIC  
POTENCY: THE REGULATORY ROLE OF Dmp53 PROTEIN**

**Perdikari A.S.<sup>1</sup>, Velentzas P.D.<sup>1</sup>, Velentzas A.D.<sup>1</sup>, Bakou V.E.<sup>1</sup>, Zervas C.<sup>2</sup>, Vasilaki  
E.G.<sup>1</sup>, Preka K.P.<sup>1</sup>, Papassideri I.S.<sup>1</sup>, Margaritis L.H.<sup>1</sup>, and D.J. Stravopodis<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens,  
Panepistimiopolis, Zografou 15784, Athens, Greece; <sup>2</sup>Genetics Lab., Biomedical Research  
Foundation Academy of Athens, 4 Soranou Ephessiou, 11527, Athens, Greece

Doxorubicin represents an anthracycline type of antibiotic that is frequently utilized in various chemotherapeutic protocols against human cancers, albeit it usually evinces considerable systemic toxicity. In the present study, we have thoroughly examined the apoptotic potency of different Doxorubicin doses during oogenesis of wild type (*Dmp53<sup>+/+</sup>*) and *Dmp53* knockout (*Dmp53<sup>-/-</sup>*) *Drosophila melanogaster* insect strains. To this direction, we carried out specific biological staining techniques, such as acridine orange, propidium iodide, phalloidine-rhodamine and lysotracker red, targeting for the detection and identification of distinct apoptotic morphological features. Thereby, we clearly unveil that Doxorubicin treatment results in increased levels of apoptosis in the wild type insects, whereas in the *Dmp53<sup>-/-</sup>* mutant strain its effects seem to differ depending on the apoptotic characteristic examined. In order to further illuminate the cytotoxic potency of Doxorubicin, we analyzed and quantified the absence or presence of *D. melanogaster* ovaries in both strains under different drug dose conditions, as well as their (ovaries) respective acquired sizes. Interestingly, Doxorubicin activity was revealed to be quite different between the wild type and mutant strain, since the size of *Dmp53<sup>-/-</sup>* ovaries increased in the presence of the drug and, in contrast to the wild type strain, no “ovary-less” fly phenotype could be observed. Moreover, the two strains were comparatively analyzed in terms of their viability rates, thus allowing us to undoubtedly unmask the critical regulatory role of Dmp53 protein in *D. melanogaster* physiology.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΔΡΑΣΗΣ ΑΙΘΕΡΙΚΩΝ ΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΩΝ  
ΜΕ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ**

*Περιστέρη Ε.<sup>1</sup>, Αυλωνίτης Ν.<sup>2</sup>, Γεωργικοπούλου Κ.<sup>2</sup>, Καλογεροπούλου Θ.<sup>2</sup>,  
Παπαζαφείρη Π.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σχολή Θετικών Επιστημών,  
Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου

<sup>2</sup>Ινστιτούτο Οργανικής και Φαρμακευτικής Χημείας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών

Τα αιθερικά φωσφολιπίδια (AELs) είναι συνθετικά ανάλογα φωσφολιπιδίων, τα οποία ενσωματώνονται στην πλασματική μεμβράνη καρκινικών κυττάρων και την αποδιοργανώνουν, με αποτέλεσμα την τροποποίηση σηματοδοτικών μονοπατιών που σχετίζονται με την κυτταρική επιβίωση. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν ανθρώπινα επιθηλιακά καρκινικά κύτταρα δέρματος, A431, στα οποία διερευνήθηκε η επίδραση μιας σειράς δομικών αναλόγων αιθερικών φωσφολιπιδίων. Συγκεκριμένα διερευνήθηκε 1) η πιθανή επίδρασή τους σε δύο καρκινικούς δείκτες, την p-Akt και τον μεταγραφικό παράγοντα, HIF-1α 2) η πιθανή πρόκληση αποπτωτικού θανάτου και 3) η επίδραση στα ενδοκυτταρικά επίπεδα ασβεστίου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα αιθερικά φωσφολιπίδια που φάνηκε να μειώνουν τη βιωσιμότητα των καρκινικών κυττάρων, μπορούν να διακριθούν σε δύο ομάδες ως προς τον τρόπο δράσης τους. Η πρώτη ομάδα προκάλεσε μια μαζική και παρατεταμένη εισροή ιόντων ασβεστίου στο κυτταρόπλασμα, η οποία συνοδεύτηκε από απενεργοποίηση της κινάσης Akt, ενώ αντίθετα τα επίπεδα του HIF-1α αυξήθηκαν. Επιπλέον, προκλήθηκε κατακερματισμός του DNA, έξοδος του κυτοχρώματος c από τα μιτοχόνδρια καθώς και πτώση των ενεργειακών αποθεμάτων του κυττάρου, γεγονότα που σηματοδοτούν απόπτωση. Τα μέλη της δεύτερης ομάδας φωσφολιπιδίων, παρότι παρεμπόδισαν την αύξηση του κυτταρικού πληθυσμού, διατήρησαν σταθερά τα επίπεδα της Akt, δεν επηρέασαν την ενδοκυτταρική συγκέντρωση ασβεστίου αλλά ούτε τα ενεργειακά αποθέματα του κυττάρου, ενώ το DNA παρέμεινε άθικτο. Συμπερασματικά, φαίνεται ότι ορισμένα αιθερικά φωσφολιπίδια μπορούν να επάγουν απόπτωση στα καρκινικά κύτταρα, ενώ άλλα μπορούν να προκαλέσουν αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού.

*Η εργασία αυτή χρηματοδοτήθηκε από τη Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας (ΕΠΑν, ΦΠ5) και από το πρόγραμμα «Καποδίστριας» του Πανεπιστημίου Αθηνών.*

**STUDY OF THE MECHANISM OF ACTION OF ETHER LIPIDS WITH  
ANTICANCER PROPERTIES**

*Peristeri E.<sup>1</sup>, Avlonitis N.<sup>2</sup>, Georgikopoulou K.<sup>2</sup>, Calogeropoulou T.<sup>2</sup>,  
Papazafiri P.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Department of Animal & Human Physiology, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis 157 81 Athens – Greece. <sup>2</sup>Inst. of Organic and Pharmaceutical Chemistry, National Hellenic Research Foundation*

Anticancer Ether Lipids (AELs) are synthetic analogues of phospholipids, that can incorporate into the plasma membrane of –preferably- cancer cells and act as cytotoxic agents. As a result, they interfere with multiple cellular processes such as signal transduction pathways involved in cell survival, ultimately leading to cell death. In the present study, the human epithelial cancer cell line A431 was used in order to examine the effects of a number of phospholipid structural analogues on: 1) two proteins that play a key role in carcinogenesis, p-Akt and the transcription factor HIF-1a; 2) the induction of apoptotic cell death 3) intracellular calcium levels. Six, out of eleven AELs, that were examined, were found to inhibit A431 cell proliferation. Interestingly, these ether lipids can be divided into two groups according to their mechanism of action. The members of the first group caused a massive and persistent influx of calcium, followed by Akt inactivation, while an increase on the HIF-1a levels was detected. In addition, cytochrome c mitochondrial loss and cellular energy fall were detected, as well as DNA fragmentation. Altogether these results demonstrate induction of apoptotic cell death. On the contrary, in the presence of ether phospholipids of the second group - despite their inhibitory action on cell proliferation - the levels of phosphorylated Akt kinase as well as the energy levels remained stable, while no DNA fragmentation was observed. In conclusion, it appears that ether lipids can reduce cancer expansion either by inducing apoptotic pathways or inhibiting cell proliferation, depending on their specific structural motifs.

*This work was funded by the General Secretariat of Research and Technology, Athens, Greece (ΕΠΑν,ΥΒ39 ) and the "Kapodistrias" program of the University of Athens.*

ΠΟΣΟΤΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΣΥΛΛΗΨΕΩΝ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *PERCA FLUVIATILIS*  
LINNAEUS, 1758 ΣΤΗ ΦΡΑΓΜΑΛΙΜΝΗ ΚΕΡΚΙΝΗ

Πετρίκη Ο., Μπόμπορη Δ.Χ.

Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., 541 24, Θεσσαλονίκη.  
E-mail: [bobori@bio.auth.gr](mailto:bobori@bio.auth.gr)

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να εκτιμηθούν οι συλλήψεις του *Perca fluviatilis* ανά εποχή, μέγεθος ματιού δίχτυου και χωρική ζώνη (παράκτια, και πελαγική) στη φραγμαλίμηνη Κερκίνη. Πραγματοποιήθηκαν εποχικές δειγματοληψίες (φθινόπωρο 2007 - καλοκαίρι 2008) σε τέσσερις σταθμούς, δυο παράκτιους (βάθος 3 έως 3,5 m) και δύο πελαγικούς (βάθος >3,5 m). Χρησιμοποιήθηκαν απλάδια δίχτυα με διαφορετικά μεγέθη ματιών (άνοιγμα ματιού 8 - 70 mm από κόμπο σε κόμπο) και σταθερή διάρκεια αλιείας (~ 12 h). Σε κάθε άτομο μετρήθηκαν το ολικό μήκος (TL, cm  $\pm$  0,1) και το ολικό βάρος (W, g  $\pm$  0,1) και εκτιμήθηκε η σύλληψη ανά μονάδα αλιευτικής προσπάθειας με βάση τον αριθμό (NPUE, άτομα/ m<sup>2</sup>/ ημέρα) και το βάρος των ατόμων (MPUE, g/ m<sup>2</sup>/ημέρα) ανά μέγεθος ματιού, τόσο στο σύνολο όσο και ανά χωρική ζώνη. Συνολικά αλιεύθηκαν 1922 άτομα του είδους, βάρους 68,71 kg. Τα περισσότερα άτομα (54,06%) αλιεύθηκαν την άνοιξη. Την ίδια εποχή καταγράφηκε και η υψηλότερη τιμή βιομάζας (66,51%), χωρίς ωστόσο να υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των εποχών (Kruskal-Wallis, p>0,05). Ο μεγαλύτερος αριθμός ατόμων αλιεύθηκε με το δίχτυ των 14 mm (30,80%), ενώ η υψηλότερη ποσοστιαία συμμετοχή της βιομάζας εκτιμήθηκε στο δίχτυ των 20 mm (31,92%). Οι υψηλότερες τιμές NPUE (1,25 άτομα/ m<sup>2</sup>/ ημέρα) και MPUE (57,32 g/ m<sup>2</sup>/ημέρα) υπολογίστηκαν για το δίχτυ των 14 mm την άνοιξη. Ο μεγαλύτερος αριθμός των ατόμων του είδους (70,45%) αλιεύθηκε παράκτια, αν και μεταξύ των δυο χωρικών ζωνών (παράκτια, πελαγική) δε βρέθηκαν σημαντικές διαφορές (t-test, p>0,05) τόσο αριθμητικά όσο και με βάση τη βιομάζα. Τα δεδομένα αποτελούν τα πρώτα ποσοτικά δεδομένα που αφορούν στη σύλληψη του είδους με δίχτυα με πολλαπλά διαμετρήματα ματιών στη λίμνη Κερκίνη.

Μέρος της έρευνας χρηματοδοτήθηκε από την Περιφέρεια Κεντρικής Μακεδονίας, στα πλαίσια του προγράμματος «Υπηρεσίες εφαρμογής της μεθοδολογίας παρακολούθησης των επιφανειακών υδάτων της λεκάνης του ποταμού Στρυμόνα».

**CATCHES OF PERCA FLUVIATILIS LINNAEUS, 1758 IN KERKINI  
RESERVOIR**

*Petriki O., Bobori D.C.*

*Laboratory of Ichthyology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, UPBox  
134, 541 24, Thessaloniki, Greece. E-mail: [bobori@bio.auth.gr](mailto:bobori@bio.auth.gr)*

We present seasonal and spatial data on multimesh gill-net catches for the fish species *Perca fluviatilis* in Kerkini Reservoir. Sampling took place seasonally (autumn 2007 - summer 2008) in four sampling stations, two in the littoral zone (depths 3 - 3.5 m) and two in the pelagic zone (depths >3.5 m). Multimesh gill-nets, with mesh sizes 8 - 70 mm knot to knot were used. The fishing duration was stable (~ 12 h). For each specimen the measurements of total length (TL, cm  $\pm$  0.1) and total body weight (W, g  $\pm$  0.1) were recorded, and the total catch per unit effort based on the number (NPUE, individuals/ m<sup>2</sup> /day) and biomass (MPUE g/ m<sup>2</sup>/ day), was estimated for all combinations of gill-net mesh sizes/ season/ zone. A total of 1922 specimens, weighting 68.71 kg, were caught. Most specimens (54.06%) and the highest value of biomass (66.51%) were recorded in spring. However, differences among seasons were not significant (Kruskal-Wallis,  $p > 0.05$ ). Most individuals (30.80%) were caught with the 14 mm net, while the highest biomass (31.92%) was estimated in the 20 mm net. The highest values of NPUE (1.25 individuals/ m<sup>2</sup> /day) and MPUE (57.32 g/ m<sup>2</sup>/ day) were estimated in the 14 mm net in spring. Most specimens (70.45%) were fished in the littoral zone, although numerically as well as in terms of biomass, no significant differences (t-test,  $p > 0.05$ ) were detected between the two spatial zones (littoral, pelagic). The results constitute the first quantitative data for the species concerning multimesh gill-net catches in Kerkini Reservoir.

*Part of the present study was funded by the Prefecture of Central Macedonia in the frame of the research project "Application services of surface water monitoring methodology in watershed area of Strymonas river".*

**ΔΟΜΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΟΥ ΧΟΡΙΟΥ ΤΕΛΕΟΣΤΕΩΝ  
ΙΧΘΥΩΝ**

*Πετρονικολού Ν.Κ., Οικονομίδου Β.Α. και Σ.Ι. Χαμόδρακας*

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο  
Αθηνών, Αθήνα 157 01,*

*E-mail: [nektariapetronikoulou@gmail.com](mailto:nektariapetronikoulou@gmail.com) ; [veconom@biol.uoa.gr](mailto:veconom@biol.uoa.gr) ; [shamodr@biol.uoa.gr](mailto:shamodr@biol.uoa.gr)*

Τα ωοκύτταρα σχεδόν όλων των οργανισμών (σπονδυλοζώων κι ασπόνδυλων) περιβάλλονται από μία εξωκυτταρική δομή πρωτεϊνικής κυρίως φύσεως η οποία παίζει πρωταρχικό ρόλο στις διαδικασίες της ωογένεσης και γονιμοποίησης. Η δομή αυτή ονομάζεται zona pellucida (ZP) στα θηλαστικά και χόριο ή βιτελλινικός φάκελος στους ιχθύες. Στα θηλαστικά συγκροτείται από 3-4 πρωτεΐνες (ZP1-ZP4) και στους ιχθύες από διάφορες (ZP1-like και ZP3-like) πρωτεΐνες, οι οποίες έχουν μια χαρακτηριστική αυτοτελή δομική περιοχή κοντά στο C-τελικό άκρο, γνωστή ως ZP domain. Το δομικό αυτό στοιχείο βρίσκεται σε διάφορες εξωκυτταρικές πρωτεΐνες με ποικίλες λειτουργίες και σε μια ποικιλία οργανισμών, από τους νηματώδεις μέχρι τα θηλαστικά. Αποτελείται από ~260 αμινοξικά κατάλοιπα με 8 συντηρημένα κατάλοιπα κυστεΐνης (Cys) και είναι υπεύθυνο για τον πολυμερισμό των πρωτεϊνών που το φέρουν. Στα θηλαστικά, οι πρωτεΐνες ZP1 και ZP2 έχουν 10 συντηρημένα κατάλοιπα Cys αντί για 8, που έχουν οι ZP3, ενώ στους τελεόστεους ιχθύες οι αντίστοιχες ZP1-like πρωτεΐνες έχουν 12. Συλλέχθηκαν οι αλληλουχίες ZP1-like και ZP3-like πρωτεϊνών τελεόστεων ιχθύων, οι οποίες χωρίστηκαν σε δύο ομάδες, μία με τις πρωτεΐνες ZP1-like και μία με τις ZP3-like, 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-like και ZP3-like χωριστά). Με τη χρήση του αλγόριθμου μας AmylPred, βρέθηκαν πιθανές αμυλοειδογενείς περιοχές σε κάθε ακολουθία 'συναίνεσης', και συντέθηκαν 2 από τα προγνωσθέντα ως 'πιθανώς αμυλοειδογενή' πεπτιδία από την ακολουθία 'συναίνεσης' των ZP1-like πρωτεϊνών. Στη συνέχεια τα πεπτιδία διαλυτοποιήθηκαν σε υδατικό διάλυμα. Διαπιστώθηκε ότι και τα 2 πεπτιδία αυτοσυγκροτούνται σε ινίδια που πληρούν τα 3 διαγνωστικά κριτήρια αμυλοειδών ινιδίων, υποδεικνύοντας επομένως ότι, το χόριο των ωοκυττάρων των τελεόστεων ιχθύων είναι ένα φυσικό προστατευτικό αμυλοειδές.

## **STRUCTURAL STUDIES OF CHORION PROTEINS OF TELEOSTEAN FISHES**

*Petronikolou N.K., Iconomidou V.A., and S.J. Hamodrakas*

*Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of  
Athens, Athens 157 01, Greece.*

*E-mail: [nektariapetronikolou@gmail.com](mailto:nektariapetronikolou@gmail.com) ; [veconom@biol.uoa.gr](mailto:veconom@biol.uoa.gr) ; [shamodr@biol.uoa.gr](mailto:shamodr@biol.uoa.gr)*

Oocytes from virtually all organisms (both vertebrates and invertebrates) are surrounded by an extracellular proteinaceous coat that plays an important role during oogenesis and fertilization. This extracellular matrix is called zona pellucida (ZP) in mammals and chorion or vitelline envelope (VE) in fishes. In mammals it consists of 3-4 proteins (ZP1-ZP4) and in teleosts of several (ZP1-like and ZP3-like) proteins, which share a conserved sequence at their C-terminal ends, designated as the ZP domain. This structural element (domain) is present in many extracellular proteins with varied functions and from a wide variety of organisms, from nematodes to mammals, and is called ZP domain. It consists of ~260 amino acids with 8 conserved cysteine (Cys) residues and is responsible for ZP domain proteins' polymerization. In mammals the ZP1 and ZP2 proteins share 10 conserved Cys residues, in comparison to the 8 Cys that the ZP3 proteins share, whereas in teleostean fishes the ZP1-like proteins share 12 Cys. All amino acid sequences of ZP1-like and ZP3-like proteins of teleostean fishes were collected and they were divided into two sets, one including the ZP1-like proteins and the other the ZP3-like proteins, and then the sequences of each set were aligned separately. A consensus sequence for each set was then derived from these alignments. Utilizing our algorithm AmylPred, potential amyloidogenic determinants were predicted in each consensus sequence and 2 of the predicted amyloidogenic determinants of the ZP1-like proteins' consensus were synthesized. These peptides were dissolved in water and it was shown by a variety of Biophysical methods that they self-assemble into amyloid-like fibrils. This, most probably, indicates that the chorion of teleostean fishes is a natural protective amyloid.

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΠΟΙΚΙΛΟΧΡΩΜΩΝ ΑΝΘΩΝ ΠΙΚΡΟΔΑΦΝΗΣ,  
*Nerium oleander* L.****Πετροπούλου Π., Ριζοπούλου Σ.**

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο  
Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 157 84, Αθήνα.

E-mail: [ppigeonne@hotmail.com](mailto:ppigeonne@hotmail.com), [srhizop@biol.uoa.gr](mailto:srhizop@biol.uoa.gr)

Το χρώμα ενός άνθους διαμορφώνεται τόσο από τις χρωστικές όσο και από τη μικροαρχιτεκτονική των πετάλων. Επιλέξαμε την αείφυλλη πικροδάφνη που εκδηλώνει παρατεταμένη άνθιση με μεγάλα, ποικιλόχρωμα άνθη (άσπρα, ροζ, σομόν, υποκίτρινα, φούξια και κόκκινα). Σημειώνεται πως η ορολογία περί χρωμάτων αφορά την ανθρώπινη αντίληψη και δεν έχει σχέση με την αντίληψη των έγχρωμων ιστών από τους επικοναστές. Η παρατήρηση των μακροσκοπικών χαρακτηριστικών έγινε με στερεομικροσκόπιο, ενώ η παρατήρηση της επιφάνειας των πετάλων σε φωτονικό μικροσκόπιο (νωπός ιστός) και σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης-SEM (μονιμοποιημένος ιστός). Πραγματοποιήθηκαν εγκάρσιες τομές μονιμοποιημένων δειγμάτων τεμαχίων πετάλων σε φωτονικό μικροσκόπιο και φασματοσκοπικές μετρήσεις μεθανολικών εκχυλισμάτων πετάλων στο υπεριώδες και στο ορατό τμήμα του φάσματος. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι τα πέταλα αποτελούνται από μονόστρωμη άνω και κάτω επιδερμίδα με εκτεταμένους μεσοκυττάρους χώρους μεταξύ αυτών. Η άνω επιδερμίδα των πετάλων φέρει κωνικά-θηλώδη κύτταρα, ενώ η κάτω φακοειδή. Επιπλέον, η κάτω επιδερμίδα φέρει στόματα, πιθανότατα ενεργά. Εντός των επιδερμικών κυττάρων εντοπίζονται έγκλειστα ανθοκυανινών στην περιοχή των χυμοτοπίων. Τα θηλώδη κύτταρα της άνω επιδερμίδα καθώς και οι εκτεταμένοι μεσοκυττάριοι χώροι ενισχύουν την αξιοποίηση του προσπίπτοντος φωτός και την καθοδήγησή του ως τα χυμοτόπια που φέρουν τις χρωστικές. Οι κύριες χρωστικές των πετάλων της πικροδάφνης φαίνεται να είναι παράγωγα της δελφινιδίνης.



**A COMPARATIVE STUDY OF MULTICOLOURED FLOWERS OF  
OLEANDER, *Nerium oleander* L.**

*Petropoulou P., Rhizopoulou S.*

*Dept of Botany, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of Athens,  
Panepistimiopolis, 157 84, Athens, Greece.*

*E-mail: [ppigeonne@hotmail.com](mailto:ppigeonne@hotmail.com) , [srhizop@biol.uoa.gr](mailto:srhizop@biol.uoa.gr)*

Floral colour is formed by pigments and is due to the petal micro-architecture. In this study, plant specimens from the evergreen oleander that exhibits a prolonged anthesis and multicoloured flowers (i.e. white, pink, salmon, pale yellow, fuchsia and red) were used. It is worthwhile to mention that terms used to denote flower colour refer to the human-judged colour categories, in the visible wave band, which do not reflect how flowers appear to the pollinators to which they should appeal. The observation of macroscopic features was accomplished with a stereomicroscope, while petal surface was observed with optical microscope-OM (fresh tissue) and scanning electron microscope-SEM (fixed tissue). Furthermore, transverse sections of fixed petal specimens were observed using optical microscope. Additionally, spectroscopic measurements of methanolic extracts were carried out at the UV-visible area of the spectrum. Results reveal that petals consist of a single cells layer upper and lower epidermis and an extensive loosely arranged mesophyll between them. Upper epidermis is composed of conical-papillate cells, while the lower contains lenticular cells. In addition, lower epidermis comprises stomata (probably functional). Within the epidermal cells, anthocyanic inclusions are identified in the vacuolar area. Papillate upper epidermis and extensive intracellular space enhance the utilization and direction of incident light towards pigment containing vacuoles. The main petal pigments of oleander seem to be certain delphinidin derivatives.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΩΝ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΩΝ ADA2B ΚΑΙ GCN5  
ΣΤΟΥΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ARABIDOPSIS  
THALIANA ΣΤΟ ΠΑΘΟΓΟΝΟ PSEUDOMONAS SYRINGAE**

Πεχλιβάνη Ν.<sup>1</sup>, Σιβροπούλου Α.<sup>2</sup>, και Κ. Βλαχονάσιος<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τομέας Βοτανικής, <sup>2</sup>Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας,  
Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο  
Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη, E-mail: [kvlachon@bio.auth.gr](mailto:kvlachon@bio.auth.gr)

Τα γεγονότα μεταγωγής σήματος που ακολουθούν την προσβολή του φυτού από παθογόνους οργανισμούς είναι πολύπλοκα. Σηματοδοτούν τη συσσώρευση σαλικυλικού οξέος (SA), αιθυλενίου (ET), ιασμονικού οξέος (JA) και επιπλέον συνοδεύονται από την επαγόμενη έκφραση αμυντικών γονιδίων. Η ακετυλίωση των ιστονών πιθανόν να συνδέεται με την απόκριση των φυτών στις αλληλεπιδράσεις τους με τους παθογόνους οργανισμούς. Στην παρούσα εργασία, μελετήθηκε η επίδραση των μεταγραφικών προσαρμοστών ADA2b και GCN5 στους μηχανισμούς ανθεκτικότητας του *Arabidopsis thaliana* στο παθογόνο βακτήριο *Pseudomonas syringae*. Μολύνθηκαν φυτά του οικοτύπου Ws και δύο μεταλλαγμάτων *ada2b-1* και *gcn5-1* με το μολυσματικό βακτηριακό στέλεχος DC3000. Τα μεταλλάγματα *ada2b-1* και *gcn5-1* μετά τη μόλυνση εμφάνισαν συμπτώματα προσβολής από το βακτήριο όπως εκτεταμένη χλώρωση και σκούρες νεκρωτικές κηλίδες. Επιπρόσθετα ο πληθυσμός του βακτηρίου αυξήθηκε σημαντικά τρεις ημέρες μετά τη μόλυνση υποδηλώνοντας ότι οι ADA2b και GCN5 δρουν ως αρνητικοί ρυθμιστές τις αποκρίσεις των φυτών στο *Pseudomonas*. Ενώ στα φυτά αγρίου τύπου παρατηρήθηκε επαγωγή της έκφρασης των εξαρτώμενων από το SA γονιδίων *PR-1* και *PR-5*, των εξαρτώμενων από το ET και το JA γονιδίων *PDF1.2* και *VSP1*, στα φυτά *ada2b-1* και *gcn5-1* η έκφραση όλων των γονιδίων ήταν μειωμένη. Πριν τη μόλυνση τα *ada2b-1* και *gcn5-1* εμφάνισαν υπερέκφραση των γονιδίων *PR-1*, *PR-5*, *PDF1.2* η οποία δεν μεταφράσθηκε σε αυξημένη ανθεκτικότητα στο βακτήριο. Κατά συνέπεια, οι ADA2b και GCN5 έχουν αρνητική δράση στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης απουσία του παθογόνου και θετική δράση στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης παρουσία του *Pseudomonas syringae*.

**EFFECT OF TRANSCRIPTIONAL COACTIVATORS ADA2B AND GCN5 IN  
ARABIDOPSIS THALIANA RESISTANCE MECHANISMS TO PATHOGEN  
PSEUDOMONAS SYRINGAE**

*Pechlivani N.<sup>1</sup>, Sivropoulou A.<sup>2</sup>, and K. Vlachonasios<sup>1</sup>*

*Department of Botany<sup>1</sup> and Department of Genetics, Development and Molecular Biology<sup>2</sup>,  
School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University of Thessaloniki, 54124,  
Thessaloniki. E-mail: [kvlachon@bio.auth.gr](mailto:kvlachon@bio.auth.gr)*

Plant signal transduction pathways following pathogen attack are complex; including accumulation of salicylic acid (SA), ethylene (ET) and jasmonic acid (JA) and accompanied by inducible expression of defense genes. Histone acetylation could be involved in response mechanisms of plant-pathogen interactions. In this work, we studied the effect of transcriptional coactivators ADA2b and GCN5 in resistant mechanisms of *Arabidopsis thaliana* to pathogenic bacteria *Pseudomonas syringae*. Wild type and *ada2b-1* and *gcn5-1* mutant plants were infected with virulent strain DC3000. After infection both *ada2b-1* and *gcn5-1* plants displayed typical bacteria infection symptoms such as extensive chlorosis and dark necrotic patches. In addition, bacteria population increased significantly 3 days after infection suggesting that ADA2b and GCN5 act as negative regulators of plant responses to *Pseudomonas*. While in wild type plants, an increased expression of SA-dependent *PR1* and *PR5* genes, and of JA and ethylene dependent *PDF1.2* and *VSP1* genes were observed, in *ada2b-1* and *gcn5-1* mutants expression of those genes were decreased. Unexpectedly, before infection, *ada2b-1* and *gcn5-1* overexpressed *PR1*, *PR5* and *PDF1.2*, which were not translated to an increased tolerance to bacteria. As a result, ADA2b and GCN5 could negatively regulate gene expression in the absence of bacteria, while in the presence of *Pseudomonas syringae* both genes may act as positive regulators of pathogenesis-related gene expression.

**ΑΡΧΑΙΟ DNA: ΜΙΑ ΚΡΥΦΗ ΜΑΤΙΑ ΣΤΟ ΠΑΡΕΛΘΟΝ, ΝΕΟΙ ΟΡΙΖΟΝΤΕΣ  
ΓΙΑ ΤΟ ΜΕΛΛΟΝ****Πουλακάκης Ν.\***

*Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Βασιλικά Βουτών και Μουσείο Φυσικής  
Ιστορίας Κρήτης, Λεωφ. Κνωσού, Τ.Θ. 2208, ΤΚ 71409, Ηράκλειο, Κρήτη, Ελλάδα.*

Η μελέτη του DNA που προέρχεται από οργανισμούς που έζησαν στο παρελθόν (αρχαίο DNA) εμπεριέχει το δέλεαρ του ταξιδιού πίσω στο χρόνο και έχει προσελκύσει την προσοχή και το ενδιαφέρον πολυάριθμων ερευνητών. Ωστόσο, η επιτυχία στο χώρο του αρχαίου DNA απαιτεί σκεπτικισμό και την ορθολογική διάθεση του ερευνητή. Το 1994 και ενώ το *Jurassic Park* κέρδιζε εκατομμύρια δολάρια στις κινηματογραφικές αίθουσες, αμερικάνοι ερευνητές υποστήριζαν ότι αλληλούχησαν DNA από δεινόσαυρο ηλικίας 80 εκατομμυρίων ετών. Εντούτοις, οι ισχυρισμοί τους αποδείχθηκαν λανθασμένοι, αφού το DNA που είχαν στα χέρια τους δεν ήταν παρά προϊόν επιμόλυνσης. Λαμβάνοντας υπόψη ότι το αρχαίο DNA δεν είναι άφθονο, η ανάλυσή του προσφέρει την μοναδική δυνατότητα σε οργανισμούς που πέθαναν πριν από χιλιάδες χρόνια και σε είδη που έχουν εξαφανιστεί να συνεισφέρουν στην κατανόηση της εξέλιξης. Σε αντίθεση με τα απολιθώματα, που μπορούν μονάχα να υπαινιχθούν για το πώς προχωράει η εξέλιξη, το αρχαίο DNA μας επιτρέπει να την κοιτάξουμε στα μάτια. Σήμερα, το διάβασμα των υπολειμμάτων γενετικού υλικού ενός οργανισμού που πέθανε στο μακρινό παρελθόν ανοίγει νέους δρόμους και δημιουργεί νέες προοπτικές στη μελέτη του. Η συμβολή του σε τομείς όπως η συστηματική, η φυλογένεση, η φυλογεωγραφία, η πληθυσμιακή γενετική, η οικολογία και η γενετική διαχείριση αυξάνουν σημαντικά τη γνώση μας για το σήμερα, αναθεωρώντας τις στρατηγικές για το τι και πώς θα προστατεύσουμε ότι έχει απομείνει ή το πώς θα επαναφέρουμε ότι «άδικα» εξαφανίσαμε. Η πρόσφατη ανακάλυψη της παράλληλης αλληλούχισης αυξάνει την πιθανότητα επιτυχούς ανάκτησης αρχαίου DNA, γεγονός που επιτρέπει την θεώρηση μεγάλης κλίμακας αρχαίων γονιδιωμάτων και υπόσχεται την απελευθέρωση της δυναμικής του αρχαίου DNA στην αποκάλυψη της εξέλιξης εν δράσει.

*(\*) προσκεκλημένος ομιλητής*

**ANCIENT DNA: SNEAKING INTO THE PAST RAISES NEW HORIZONS  
FOR THE FUTURE**

*Poulakakis N.\**

*Department of Biology, University of Crete, Vassilika Vouton, and Natural History  
Museum of Crete, University of Crete, Knossos Av., P.O.Box 2208, GR-71409 Herakleio,  
Crete, Greece.*

The study of ancient DNA has the allure of time travel and attracts much attention and many practitioners. Therefore, the most important prerequisite for successful ancient DNA research is a highly skeptical attitude to one's own work. In 1994, while Jurassic Park was still taking in millions of dollars at the box office, scientists claimed to have extracted and sequenced DNA from an 80-million-year-old dinosaur. With this in mind, the analysis of ancient DNA offers the unique possibility to allow long-deceased individuals and extinct species to contribute to our understanding of evolution. In contrast to fossil record that can only hint at how evolution unfolded, aDNA provides researchers a window onto the systematic, phylogeny, phylogeography and population and conservation genetics of the long-deceased organisms, refining our conservation strategies to protect what remains and potentially resurrect what has been lost. The recent development of the parallel sequencing system, which increases the possibility to recover aDNA, will allow researchers to contemplate large-scale studies of ancient genomes, and promise to finally release the full potential of aDNA to reveal evolution in action.

*(\*) invited speaker*

**ΔΙΑΤΑΡΑΧΗ ΒΡΑΧΥΠΡΟΘΕΣΜΗΣ ΜΝΗΜΗΣ ΜΕ ΕΠΙΔΡΑΣΗ  
ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΚΙΝΗΤΩΝ ΤΗΛΕΦΩΝΩΝ ΣΕ ΜΥΣ *Mus musculus***

**Προύσαλη Α., Στασινοπούλου Μ., Φραγκοπούλου Α.Φ., Κουσουλάκος Σ.,  
Μαργαρίτης Α.Χ.**

Εργαστήριο Βιοφυσικής Ακτινοβολιών, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου &  
Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη 15784,  
Αθήνα.

E-mail: [madofrag@biol.uoa.gr](mailto:madofrag@biol.uoa.gr), [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)

Στο πλαίσιο των πειραμάτων που έγιναν για τη μελέτη της επίδρασης της ακτινοβολίας κινητών τηλεφώνων στη βραχυπρόθεσμη μνήμη, χρησιμοποιήθη-καν μύες *Mus musculus*. Η ακτινοβολία έγινε σε 2 ομάδες μυών διαφορετικής ηλικίας με χρήση κινητού τηλεφώνου σε ομιλούσα εκπομπή χρησιμοποιώντας διαφορετικό πρωτόκολλο, ενώ υπήρχαν και αντίστοιχα ζώα-μάρτυρες. Στο συγκεκριμένο πείραμα που ονομάζεται δοκιμασία αναγνώρισης αντικειμένων (object recognition task), τα ζώα τοποθετούνται σε ένα κουτί διαστάσεων 40X40X60 εκ. από πλεξιγκλάς. Η διάρκεια του πειράματος είναι 3 ημέρες. Ημέρα 1<sup>η</sup>-προσαρμογή: κάθε ζώο μπαίνει για 2 πεντάλεπτα με διαφορά μιας ώρας στο άδειο κουτί. Ημέρα 2<sup>η</sup>- ίδια αντικείμενα: τα ζώα μπαίνουν με την ίδια σειρά για 5 λεπτά στο κουτί, στο οποίο βρίσκονται τοποθετημένα δύο όμοια αντικείμενα σε συγκεκριμένες αποστάσεις από τα τοιχώματα και μεταξύ τους. Ημέρα 3<sup>η</sup>: φάση Α - ίδια αντικείμενα, όπως στη δεύτερη ημέρα, φάση Β - αντικατάσταση του ενός παλαιού με διαφορετικό αντικείμενο. Οι παράμετροι που μελετήθηκαν κυρίως είναι ο χρόνος εξερεύνησης του κάθε αντικειμένου και ο συνολικός χρόνος εξερεύνησης των αντικειμένων. Με τα στοιχεία αυτά έγινε υπολογισμός του δείκτη προτίμησης (Pitsikas N. et al., Behav Brain Res. 183 (2):141-6, 2007). Διαπιστώθηκαν τιμές <0,5 στα ακτινοβολημένα ζώα σε σχέση με τιμές >0,5 στα ζώα-μάρτυρες. Οι τιμές αυτές δείχνουν επίδραση της ακτινοβολίας στη βραχυπρόθεσμη μνήμη, καθώς τα ακτινοβολημένα ζώα δεν ξεχωρίζουν το νέο αντικείμενο σε σχέση με το παλαιό. Παράλληλα με αυτά τα πειράματα διεξάγονται και ιστολογικές παρατηρήσεις για τα ίδια πειραματόζωα.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς την Ερευνητική Ομάδα του Καθηγητή Α.Χ.Μαργαρίτη.

**DISTURBANCE OF SHORT-TERM MEMORY BY MOBILE PHONE  
RADIATION IN MICE *Mus musculus***

***Prousali A., Stassinopoulou M., Fragopoulou A.F., Koussoulakos S.,  
Margaritis L.H.***

*Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens,  
Panepistimiopolis 157 84, Athens. E-mail: [madofrag@biol.uoa.gr](mailto:madofrag@biol.uoa.gr), [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)*

Experiments were performed in order to study the effect of mobile phone radiation to short-term memory, using *Mus musculus* mice. Two groups of mice were irradiated using a mobile phone with modulated emission. Each group consisted of matching aged animals, by use of different protocols for each group, and control groups, for each irradiated group respectively. We conducted an object recognition test (ORT), where mice were placed in a box measuring 40x40x60 cm Plexiglas. The experiment lasted for 3 days. 1-day adaptation: every mouse is placed in the box for 2 x 5 mins with one hour interval. Day 2 - the same objects: the animals are placed in the same order in the box for 5 minutes where two identical objects are placed at specific distances from the walls and each other. Day 3: Phase A - the same items as the second day, phase B - Replacement of an old object with a new and different object. The parameters studied are mainly the time exploring each object and the total time exploring them both. With this data we calculated the Preference Index (Pitsikas N. et al, Behav Brain Res. 183 (2) :141-6, 2007). Values were <0.5 in the irradiated compared with values > 0.5 animal control. These values indicate an effect of radiation on short-term memory since mice do not distinguish the new object from the old. Histological observations on the same animals are in progress.

*This study was financed by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to the Research Group of Professor L.H. Margaritis.*

**ΜΕΤΑΦΡΑΣΤΙΚΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΜΥΔΙΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ  
ΕΚΤΕΘΕΝΤΩΝ ΣΕ ΒΑΡΕΑ ΜΕΤΑΛΛΑ**

*Πυθαροπούλου Σ.<sup>1</sup>, Σαζακλή Ε.<sup>2</sup>, Λεοτσινίδης Μ.<sup>2</sup> και Δ. Καλπαξής<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, <sup>2</sup>Εργαστήριο Υγιεινής, Τμήμα Ιατρικής,  
Πανεπιστήμιο Πατρών*

Ορισμένα μέταλλα, όπως ο Hg, ο Cu και το Cd, είναι ικανά να προκαλούν αλλαγές στην πρωτεϊνική σύνθεση διαφόρων θαλασσιών οργανισμών, συμπεριλαμβανομένου του *Mytilus galloprovincialis*. Ωστόσο, λόγω της πολυπλοκότητας του περιβαλλοντικού stress, είναι δύσκολο να εκτιμήσουμε σε μελέτες πεδίου την ιδιαίτερη επίδραση κάθε μετάλλου στην πρωτεϊνική σύνθεση. Για να παρακάμψουμε αυτή τη δυσκολία, πειραματικές μελέτες πραγματοποιήθηκαν σε ενυδρείο, χρησιμοποιώντας μύδια που εκτέθηκαν σε τρία άλατα μετάλλων, HgCl<sub>2</sub>, CuCl<sub>2</sub> και CdCl<sub>2</sub>. Οι συγκεντρώσεις των μετάλλων επιλέχθηκαν, έτσι ώστε αφ' ενός να επιτευχθεί ικανοποιητική πρόσληψη των μετάλλων από τα μύδια, αφ' ετέρου να ελεγχθούν συγκεντρώσεις συμβατές με αυτές που απαντούν στο περιβάλλον. Πολυσώματα, τα οποία συνιστούν τον ενεργό πληθυσμό των ριβοσωμάτων, η βιοσυσσώρευση των μετάλλων, καθώς και άλλοι βιοδείκτες μετρήθηκαν στον πεπτικό αδένα των μυδιών. Η έκθεση των μυδιών σε Hg και Cu είχε ως αποτέλεσμα μία δόσο-εξαρτώμενη ελάττωση του επιπέδου των πολυσωμάτων στα κύτταρα του πεπτικού αδένα, η οποία την 15<sup>η</sup> ημέρα της έκθεσης και για τις υψηλότερες συγκεντρώσεις μετάλλων που δοκιμάστηκαν, ανήλθε στο 35% της τιμής αναφοράς. Αντίθετα, το επίπεδο πολυσωμάτων σε κύτταρα μυδιών εκτεθέντων σε Cd παρουσίασε μία αρχική κάμψη (4<sup>η</sup> ημέρα της έκθεσης), αλλά στη συνέχεια αυξήθηκε σημαντικά (15<sup>η</sup> ημέρα της έκθεσης). Η εν λόγω μεταβολή συνοδεύονταν με σημαντική αύξηση της έκφρασης των μεταλλοθειονίνων. Τέτοιου βαθμού αλλαγή στις μεταλλοθειονίνες δεν παρατηρήθηκε σε μύδια εκτεθέντα σε Hg ή Cu. Είναι ενδιαφέρον, ότι η ικανότητα των ριβοσωμάτων να σχηματίζουν εναρκτήρια πρωτεϊνοσυνθετικά σύμπλοκα ακολουθούσε την ίδια ακριβώς πορεία μεταβολών με εκείνη των πολυσωμάτων, γεγονός το οποίο υποστηρίζει ότι η ρύθμιση της πρωτεϊνικής σύνθεσης πιθανώς συνέβη στο στάδιο έναρξης της μετάφρασης. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης εισηγούνται ότι η επίδραση κάθε μετάλλου στην πρωτεϊνική σύνθεση είναι ιδιοσυγκρατική και εξαρτάται από την ικανότητά του να επάγει κυτταρικούς μηχανισμούς άμυνας.



## **TRANSLATIONAL RESPONSES OF MUSSELS EXPERIMENTALLY EXPOSED TO HEAVY METALS**

*Pytharopoulou S.<sup>1</sup>, Sazakli E.<sup>2</sup>, Leotsinidis M.<sup>2</sup>, and D.L. Kalpaxis<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Laboratory of Biochemistry, <sup>2</sup>Laboratory of Public Health, School of Medicine, University of Patras.*

Certain metals, like Hg, Cu and Cd, are capable of causing changes in protein synthesis in several marine organisms, including *Mytilus galloprovincialis*. Nevertheless, due to the complexity of the environmental stress in field studies, it is difficult to evaluate the influence of individual metals on protein synthesis. To bypass this difficulty, experimental studies were carried out on *M. galloprovincialis* exposed in aquarium for 15 days to different concentrations of three selected metal salts, HgCl<sub>2</sub>, CuCl<sub>2</sub> and CdCl<sub>2</sub>. The exposure concentrations were neither too low nor too high, in order to achieve measurable uptake and environmentally relevant results. Polysomes, which constitute the fraction of active ribosomes, along with metal bioaccumulation and other biomarkers were determined in digestive glands. Our study showed that exposure of mussels to Hg and Cu resulted in a dose-dependent decrease in the polysome content of digestive gland cells, which at 15<sup>th</sup> day of exposure and at the highest tested metal concentration tested, reached 35% of the control. By contrast, polysome level in Cd-exposed mussels was initially decreased (4<sup>th</sup> day of exposure) in digestive gland cells and then elevated (15<sup>th</sup> day of exposure). Elevated protein synthesis was associated with significantly increased expression of metallothioneins, whereas no such increase was recorded in Hg- and Cu-exposed mussels. Interestingly, the ribosome efficiency at initiating protein synthesis followed the very same pattern of alterations as polysomes, a fact suggesting that regulation of protein synthesis may occur at the initiation phase of translation. Overall, these results suggest that the effect of each metal on protein synthesis is idiosyncratic and depends on its ability to induce cellular defense mechanisms.

**ΑΦΘΟΝΙΑ ΚΑΙ ΚΑΤΑ ΜΗΚΟΣ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΕΙΔΩΝ *HEXAPLEX TRUNCULUS* (LINNAEUS, 1758) ΚΑΙ *BOLINUS BRANDARIS* (LINNAEUS, 1758) (MOLLUSCA: GASTROPODA) ΑΠΟ ΤΟ ΘΕΡΜΑΪΚΟ ΚΟΛΠΟ**

Πώρρα Μ., Αντωνιάδου Χ., Χιντήρογλου Χ.

Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α. Π. Θ., Θεσ/νίκη 54 124,  
E-mail: [porra@bio.auth.gr](mailto:porra@bio.auth.gr)

Στην αρχαιότητα τα γαστερόποδα *Hexaplex trunculus*, (Linne, 1758) και *Bolinus brandaris* (Linne, 1758) χρησιμοποιούνταν ως πηγή χρωστικών ουσιών (πορφυρό χρώμα), ενώ σήμερα αποτελούν εδώδιμα είδη σε αρκετές μεσογειακές χώρες. Στην Ελλάδα αλιεύονται με δίχτυα και καταναλώνονται κυρίως στα Δωδεκάνησα, στα νησιά του ΒΑ Αιγαίου και στον Ευβοϊκό Κόλπο. Πυκνοί πληθυσμοί των δύο αυτών ειδών έχουν αναφερθεί από τον Θερμαϊκό Κόλπο, ενώ πρόσφατα διαπιστώθηκε η κυριαρχία τους στα απορριπτόμενα είδη από τη μικρή κλίμακα παρακτια αλιεία. Η παρούσα εργασία εντάσσεται στην προσπάθεια διερεύνησης των απορριπτόμενων οργανισμών της παρακτιας αλιείας στην περιοχή του Θερμαϊκού Κόλπου, σε συνθήκες επαγγελματικής αλιείας με χρήση στατικών δικτύων (απλάδια και μανωμένα, άνοιγμα ματιού 18-50 mm). Εξετάστηκαν 58 δείγματα απορριπτόμενου αλιεύματος που συλλέχθηκαν εποχικά από το Σεπτέμβριο του 2009 μέχρι και το Μάιο του 2008. Συνολικά συγκεντρώθηκαν 1305 άτομα του *H. trunculus* και 865 άτομα του *B. brandaris*. Τα είδη αυτά εμφανίζουν σταθερή παρουσία σε όλη τη γεωγραφική έκταση του κόλπου και αποτελούν μονίμως απορριπτόμενα είδη. Η μέση αφθονία του *H. trunculus* είναι 186 άτομα, ενώ του *B. brandaris* 124 άτομα. Το μήκος του *H. trunculus* κυμαίνεται από 2,1 - 7,9 cm και του *B. brandaris* από 0,1 - 10,7 cm. Η κατά μήκος σύνθεση των πληθυσμών και των δύο ειδών έδειξε την ύπαρξη μίας κορυφής με μέσο τα  $5,3 \pm 0,99$  cm και  $5,9 \pm 1,6$  cm, αντίστοιχα. Οι πληθυσμοί των δύο αυτών γαστερόποδων στο Θερμαϊκό Κόλπο απαρτίζονται από μεσαία σε μέγεθος άτομα, ενώ η σύλληψη ατόμων με πολύ μικρό μήκος υποδηλώνει τη χαμηλή επιλεκτικότητα των παραπάνω δικτύων. Φαίνεται λοιπόν ότι η ασκούμενη αλιεία έχει σημαντική επίδραση στη σύνθεση των πληθυσμών και των δύο ειδών, γεγονός που σε συνδυασμό με τις περιορισμένες πληροφορίες σχετικά με τη βιολογία τους, καταδεικνύει την ανάγκη περαιτέρω διερεύνησης.

**ABUNDANCE AND LENGTH FREQUENCY DISTRIBUTION OF *HEXAPLEX TRUNCULUS* (LINNAEUS, 1758) AND *BOLINUS BRANDARIS* (LINNAEUS, 1758) (MOLLUSCA: GASTROPODA) FROM THERMAIKOS GULF**

*Porra M., Antoniadou Chr., Chintiroglou Ch.*

*Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University, Thessaloniki, Gr 54124*  
*E-mail: [porra@bio.auth.gr](mailto:porra@bio.auth.gr)*

In the antiquity the edible gastropods *Hexaplex trunculus*, (Linne, 1758) and *Bolinus brandaris* (Linne, 1758) were used mainly as sources for the extraction of the purple dye, but today they are consumed in many Mediterranean countries. In Greece they are fished with nets and consumed mostly in the Dodekanese, the NE Aegean Sea islands and Evoikos Gulf. Dense populations of both species have been reported from Thermaikos Gulf; recently they have been recorded as the most dominant species in small-scale fishery discards. Thus, 58 samples were seasonally collected (September 2009 - May 2008), during a study of small-scale fishery discards in Thermaikos Gulf, under conditions of commercial fishery and using two types of nets (gillnets and trammel nets with mesh size 18-50 mm). Overall, 1,305 individuals of *H. trunculus* were recorded and 865 of *B. brandaris*. Both species were constantly present during samplings and always included to the discarded catch. Mean abundance was 186 and 124 individuals for *H. trunculus* and *B. brandaris*, respectively. The length of *H. trunculus* ranged between 2.1-7.9 cm, while that of *B. brandaris* between 0.1-10.7 cm. The length frequency distribution of the populations shows the presence of one mode for both species, with a mode at  $5.3 \pm 0.99$  cm and  $5.9 \pm 1.6$  cm, respectively. The studied populations from Thermaikos were composed of intermediate sized individuals, whereas the catch of small sized specimens implies the low selectivity of the specific nets. It seems that small-scale fishery has severely affected the population structure of both gastropods. Thus, further research is necessary, especially considering the limited information on their biology.

**ΕΝΟΠΙΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΑΠΟΚΡΙΣΕΩΝ ΓΙΑ  
ΤΗΝ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΒΑΘΜΟΥ ΡΥΠΑΝΣΗΣ ΣΤΟ ΘΕΡΜΑΪΚΟ ΚΟΛΠΟ ΜΕ  
ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ "EXPERT SYSTEM" ΚΑΙ ΤΟΥ "IBR"**

*Ραφτοπούλου Ε.Κ. και Β.Κ. Δημητριάδης*

*Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,  
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54124, Θεσσαλονίκη.*

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης εξετάζουν την ενοποίηση των βιομαρτύρων ρύπανσης, με τη χρήση του «expert system» και τον υπολογισμό του «IBR» (Integrated Biomarker Response), σε μύδια που συλλέχθηκαν από το Θερμαϊκό και Στρυμονικό κόλπο σε τρεις δειγματοληπτικές περιόδους: καλοκαίρι 2004, φθινόπωρο 2004 και άνοιξη 2005. Οι βιομάρτυρες που εκτιμήθηκαν στον πεπτικό αδένα των μυδιών *Mytilus galloprovincialis* ήταν η «σταθερότητα της λυσοσωμικής μεμβράνης», οι «μορφομετρικές αλλαγές των ουδέτερων λιπιδίων, των λιποφουσκινών και των λυσοσωμάτων», η «συγκέντρωση των μεταλλοθειονινών» και η «δραστικότητα της ακετυλ-χολινεστεράσης». Η μελέτη υποστηρίζει τη χρήση του «expert system», ως ένα πιθανό εργαλείο για την εκτίμηση του βαθμού ρύπανσης στα θαλάσσια οικοσυστήματα, κατηγοριοποιώντας τα μύδια σε πέντε επίπεδα στρες. Επιπρόσθετα, ο υπολογισμός του «IBR», που βασίστηκε στο συνδυασμό των παραπάνω κυτταρικών και βιοχημικών βιομαρτύρων δεν μπορεί να εκτιμήσει ποσοτικά τα επίπεδα της ρύπανσης, αλλά παρ' όλα αυτά θα μπορούσε να αποτελέσει μια χρήσιμη μέθοδο για την ποιοτική εκτίμηση της ρύπανσης ανάμεσα σε επιβαρυνμένες και μη επιβαρυνμένες περιοχές. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δίνουν επιπλέον πληροφορίες για τις εποχιακές διακυμάνσεις του περιεχομένου των λιποφουσκινών στον πεπτικό αδένα των μυδιών, σύμφωνα με τις οποίες μεγάλη ποσότητα κόκκων λιποφουσκίνης εντοπίστηκε στον πεπτικό αδένα κατά τη διάρκεια του φθινο-πώρου και της άνοιξης, ενώ το καλοκαίρι δεν παρατηρήθηκαν κόκκοι λιποφουσκίνης στα πεπτικά κύτταρα των μυδιών. Επίσης, από τα αποτελέσματα γίνονται εμφανείς οι εποχιακές διακυμάνσεις των λυσοσωμικών παραμέτρων, που εξετάστηκαν σε συνδυασμό με την παρουσία των κόκκων λιποφουσκίνης, στα πεπτικά κύτταρα των μυδιών *Mytilus galloprovincialis*.

**INTEGRATION OF CELLULAR AND BIOCHEMICAL RESPONSES FOR THE  
ESTIMATION OF POLLUTION GRADIENT ALONG THERMAIKOS GULF  
USING THE "EXPERT SYSTEM" AND THE "IBR"**

*Raftopoulou E.K., and V.K. Dimitriadis*

*Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle  
University, 54124 Thessaloniki*

The results of the present study evaluate the integration of biomarkers responses using the «expert system» and the calculation of «IBR» (Integrated Biomarker Response), in mussels collected from Thermaikos and Strymonikos gulf in three sampling periods: summer 2004, autumn 2004 and early spring 2005. The biomarkers measured in the digestive gland of mussels *Mytilus galloprovincialis* were the «lysosomal membrane stability», the «morphometrical alterations of neutral lipids, lipofuscins and lysosomes», as well as the «metallothionein content» and the «acetyl-cholinesterase activity». The present study supports the use of the «expert system», as a potential tool for the evaluation of the pollution degree along marine ecosystems, classifying the mussels in five stress levels. In addition, the calculation of «IBR», based on the combination of the above cellular and biochemical biomarkers, could not quantitatively evaluate the pollution degree, therefore, it could constitute a useful method for the qualitative estimation of pollution impact between contaminated and non-contaminated sites. The results of the present study provide further information about the seasonal fluctuations of lipofuscin content, showing a great amount of lipofuscin granules in the digestive cells of mussels during autumn and early spring, while in summer the digestive cells were scarce of these granules. Furthermore, seasonal fluctuations of lysosomal parameters, combined with the presence of lipofuscin content in the digestive cells of mussels *Mytilus galloprovincialis*, were also evident.

**ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΕΙΔΩΝ  
ΤΡΩΚΤΙΚΩΝ ΤΟΥ ΟΡΟΥΣ ΒΕΡΜΙΩΝ**

**Ροβάτσος Μ.Θ., Αγγέλου Λ.-Ξ.Δ., Αρακλιώτη Ε.Γ., Γιαγιά-Αθανασοπούλου Ε.Β.**

Τομέας Βιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Παν/μιο Πατρών, 26504, Ρίο.  
E-mail: [giagia@upatras.gr](mailto:giagia@upatras.gr)

Το όρος Βέρμιο βρίσκεται στη νοτιοδυτική Μακεδονία, με μέγιστο υψόμετρο 2.061 μ., καταλαμβάνοντας έκταση περίπου 202.641 εκτάρια. Κατά το χρονικό διάστημα 2001-2008, συλλέχθηκαν 45 δείγματα τρωκτικών από 5 τοποθεσίες του όρους, των οποίων ο καρυότυπος μελετήθηκε σε παρασκευάσματα μυελού των οστών, με τις τεχνικές της G- και C- ζώνωσης. Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν κυτταρολογικά 14 άτομα του δασοποντικού *Apodemus flavicollis* και ένα άτομο του εδαφόβιου σκίουρου *Spermophilus citellus*, ενώ από το γένος *Microtus* (σκαπτοποντικοί) μελετήθηκαν 13 άτομα του είδους *M. rossiaemeridionalis*, ένα άτομο του είδους *M. felteni*, 8 άτομα του είδους *M. subterraneus* και 8 άτομα του είδους *M. thomasi*. Από τη χρωμοσωματική μελέτη διαπιστώθηκε η ύπαρξη ενός υπεράριθμου Β χρωμοσώματος σε 4 από τα 8 άτομα του είδους *A. flavicollis*, με αποτέλεσμα να χαρακτηρίζονται από  $2n=49$  αντί από τον τυπικό διπλοειδή αριθμό χρωμοσωμάτων του είδους,  $2n=48$ . Επίσης, από τη σύγκριση της κατανομής της ετεροχρωματινής μεταξύ του Βαλκανικού ενδημικού σκαπτο-ποντικού *M. felteni* και του κοινού ευρωπαϊκού σκαπτοποντικού *M. rossiaemeridionalis* (και τα δύο είδη χαρακτηρίζονται από έναν παρόμοιο καρυότυπο με  $2n=54$ , FN=56) διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές στα φυλετικά χρωμοσώματα. Επιπλέον, ενώ όλα τα μελετηθέντα άτομα του *M. subterraneus* είχαν καρυότυπο  $2n=52$ , FN=60, ένα άτομο εμφάνιζε μία αυτοσωματική περικεντρομερική αναστροφή σε ετερόζυγη κατάσταση και χαρακτηριζόταν, έτσι, από  $2n=52$ , FN=61. Τέλος, όλα τα άτομα του είδους *M. thomasi* είχαν καρυότυπο με  $2n=42$ , FN=42 και ανήκαν στη χρωμοσωματική φυλή "subalpine", ενώ ο αντιπρόσωπος του είδους *Spermophilus citellus* έφερε στον καρυότυπό του μόνο χρωμοσώματα με δύο βραχίονες, δηλ.  $2n=40$ , FN=80.

---

**CHROMOSOMAL STUDY AND GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION OF THE  
RODENT FAUNA OF MT. VERMION**

**Rovatsos M.Th., Aggelou L.-X.D., Araklioti E.G., Giagia-Athanasopoulou E.B.**

*Section of Animal Biology, Dept. of Biology, Univ. of Patras, GR-26504, Rion  
E-mail: [giagia@upatras.gr](mailto:giagia@upatras.gr)*

Mt Vermion, lies in NW Macedonia, Greece, with a maximum altitude of 2,061 m. and an area of 202,641 hectares. Between 2001-2008, 45 rodent specimens from 5 different mountain localities were collected and their karyotype was studied, using G- and C- banded bone marrow slide preparations. In particular, 14 individuals of the Yellow-necked mouse, *Apodemus flavicollis*, and one individual of the European souslik, *Spermophilus citellus*, were karyologically studied, as well as specimens of four *Microtus* vole species, i.e. 13 *M. rossiaemeridionalis* individuals, one *M. felteni* individual, 8 *M. subterraneus* individuals and 8 *M. thomasi* individuals. The karyological study revealed that 4 out of the 8 *A. flavicollis* studied individuals, carried a supernumerary, B chromosome, thus being characterized by  $2n=49$ , instead of the nominal  $2n=48$  of the species. Also, the comparison of the heterochromatin distribution between the Balkan endemic vole *M. felteni* and the much commoner European vole *M. rossiaemeridionalis* (both species characterized by a similar karyotype of  $2n=54$ , FN=56), demonstrated significant differences in the sex chromosomes. Moreover, whereas most examined *M. subterraneus* individuals possessed a karyotype of  $2n=52$ , FN=60, one individual was characterized by  $2n=52$ , FN=61, due to an autosomal pericentric inversion in heterozygous state. Finally, all studied *M. thomasi* individuals had a karyotype of  $2n=42$ , FN=42, thus belonging to the "subalpine" karyomorph and the single *S. citellus* specimen carried only biarmed chromosomes in its karyotype, i.e.  $2n=40$ , FN=80.

**Η ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ ΤΟΥ ΑΣΥΡΜΑΤΟΥ ΤΗΛΕΦΩΝΟΥ DECT ΕΠΗΡΕΑΖΕΙ  
ΤΗΝ ΩΟΓΕΝΕΣΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΣΤΟ  
ENTOMO *Drosophila virilis***

**Ρουμελιώτη Φ., Χαβδούλα Ε. και Α.Χ. Μαργαρίτης**

*Εργ. Βιοφυσικής ακτινοβολιών, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής,  
Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη 157 84, Αθήνα.  
E-mail: [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)*

Η χρήση των σύγχρονων ψηφιακών ασύρματων τηλεφώνων DECT (digital enhanced cordless telephones) είναι ευρεία στην καθημερινή μας ζωή. Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία που εκπέμπεται από αυτά έχει μέση τιμή έντασης 6.5-7.5 V/m εκπέμπεται συνεχώς ανεξάρτητα αν είναι σε κλήση ή όχι το ασύρματο τηλέφωνο και διαπερνά ακόμα και τοίχους διαμερισμάτων. Η ερευνητική μας ομάδα έχει καταδείξει την επίδραση της ακτινοβολίας αυτής στην ωογένεση του Δίπτερου *D. melanogaster*, ενώ στην παρούσα μελέτη επεκτείναμε τα πειράματά μας στη διαδικασία ωογένεσης και στην αναπαραγωγική ικανότητα του δίπτερου εντόμου *Drosophila virilis*. Ομάδες εντόμων εκτίθενται στην ακτινοβολία σύμφωνα με καθιερωμένο πρωτόκολλο. Συγκεκριμένα, τα έντομα ακτινοβολούνται από τη βάση και από το ακουστικό του ασύρματου τηλεφώνου ακίνητα (με αναισθητοποίηση) ή κινούμενα (εντός των σωλήνων εκτροφής) ηλικίας 1 ημέρας για 25 λεπτά (όσον αφορά στα αναισθητοποιημένα έντομα) και 45 λεπτά (στα κινούμενα έντομα) ημερησίως επί τέσσερις ημέρες. Θέλοντας να ανιχνεύσουμε την επαγωγή κυτταρικού θανάτου στα ωοθυλάκια των ωοθηκών εφαρμόσαμε την τεχνική της ακριδίνης και παρατήρησης σε μικροσκόπιο φθορισμού. Για το σκοπό αυτό έγινε ανατομία 8 ½ ώρες μετά την τελευταία ακτινοβολία, απομόνωση ωοθηκών, επώαση με ακριδίνη, παρατήρηση και καταμέτρηση ωοθυλακίων με θετικό σήμα αποδομημένου DNA στα κύτταρά τους. Διαπιστώθηκε επαγωγή μέχρι και διπλασιασμός του ποσοστού του επαγόμενου κυτταρικού θανάτου στα ωοθυλάκια των ακτινοβολημένων εντόμων σε σύγκριση με τα δείγματα-μάρτυρες, καθώς και σε ορισμένες περιπτώσεις μείωση του μεγέθους των ωοθηκών. Διερευνάται η συσσωρευτική ή μη επίδραση της ακτινοβολίας που προέρχεται από τις συσκευές ασύρματων τηλεφώνων.

*Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς την Ερευνητική Ομάδα του Καθηγητή Α.Χ. Μαργαρίτη.*



**EFFECTS OF WIRELESS DECT RADIATION ON THE OOGENESIS AND  
REPRODUCTIVE CAPACITY OF THE INSECT *Drosophila virilis***

*Roumelioti F., Chavdoula E., and L.H. Margaritis*

*Radiation Biophysics Lab, Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology,  
University of Athens, Panepistimiopolis 157 84, Athens. E-mail: [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)*

The use of digital enhanced cordless telephones (DECT) is extended in our daily lives. The electromagnetic radiation is emitted constantly and has intensity values of 6.5-7.5 V/m. It is also very penetrating and can even pass through walls. Our research team has defined the effect of the radiation that is emitted from the DECT cordless telephone on the oogenesis of the insect *Drosophila melanogaster* (which is being written). However, in this study we extended our experiments in order to detect the effect of the DECT wireless radiation on the oogenesis and reproductive capacity of the insect *Drosophila virilis*. Groups of insects were exposed to the radiation according to a certain process that involved gathering of newly emerged flies. 1 day old-flies that were not moving (anaesthetized) or were moving (in the glass vials) were exposed to the radiation emitted from the base and the handset of the DECT for 25 minutes (anaesthetized flies) and 45 minutes or 1 hour (non anaesthetized flies) daily for four days. In order to detect cell death in the egg chambers cells of the ovaries we used the acridine orange staining method and we viewed them in a fluorescence microscope. For this purpose, 8½ hrs after the last exposure, ovaries were dissected, treated with acridine orange staining and viewed in order to define ovarian cells with positive signal of fragmented DNA. Specifically, we found a doubled percentage of induced cell death in the egg chambers cells of the exposed insects in comparison to the control ones. Furthermore, in certain cases, a decrease in the size of the ovaries was observed in the exposed insects contrary to the control ones. The possible cumulative effect of the DECT wireless radiation is also being examined.

*This study was financed by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to the Research Group of Professor L.H. Margaritis.*

**ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ *wiser* (CG32711) ΜΕ ΤΑ ΓΟΝΙΔΙΑ *Notch*  
ΚΑΙ *dpp* ΣΤΗ *Drosophila melanogaster***

Ρούσσου Η.Γ., Γιαννόπουλος Γ.

Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Τμήμα Βιολογίας,  
Πανεπιστήμιο Πατρών.

Το φυλοσύνδετο γονίδιο *wiser* (CG32711) είναι απαραίτητο για την ανάπτυξη της *Drosophila melanogaster*. Η μελέτη μιας θερμοευαίσθητης, θανατογόνου μετάλλαξης που ονομάζεται *wiser<sup>tsl</sup>* αποκάλυψε ότι το γονίδιο *wiser* εμπλέκεται μεταξύ άλλων στην ανάπτυξη των φτερών. Η μετάλλαξη *wiser<sup>tsl</sup>* οφείλεται σε ένα φυσικό *P* στοιχείο που βρίσκεται 490 bp ανοδικά από το προβλεπόμενο σημείο έναρξης της μεταγραφής του γονιδίου CG32711 στην περιοχή 7E. 95 bp καθοδικά του 7E *P* στοιχείου υπάρχει μια *P{lacW}* ένθεση υπεύθυνη για τη θανατογόνο μετάλλαξη PL26. Οι μεταλλάξεις *wiser<sup>tsl</sup>* και PL26 είναι αλληλόμορφα του ίδιου γονιδίου. Στην παρούσα εργασία δείχνουμε ότι: 1) το γονίδιο *wiser* αλληλεπιδρά με το γονίδιο *Notch* (*N*). Θηλυκά άτομα *N<sup>55e11</sup> wiser<sup>tsl</sup> / wiser<sup>tsl</sup>* έχουν σημαντικά εντονότερο φαινότυπο *scalloped* (φαγωμένα φτερά). Τα ίδια αποτελέσματα μας έδωσε και μία νέα *Notch* (*N<sup>Gγ</sup>*) που απομονώσαμε από μετάθεση του *P{lacW}* στοιχείου του στελέχους PL26. 2) Το γονίδιο *wiser* αλληλεπιδρά με το γονίδιο *dpp*. Εκτοπική έκφραση του *wiser* (*UAS wiserCDS* construct) με οδηγό το στελέχος *apGAL4*, μειώνει την έκφραση του *dpp* (όπως προκύπτει από χρώσεις με το στέλεχος *dpp-lacZ*) στην περιοχή του εμβρυικού δίσκου που θα δώσει τμήμα του θώρακα (*notum*). 3) Σε *wiser<sup>tsl</sup>* υπόβαθρο η έκφραση των γονιδίων *dpp*, *dad*, *salm* και *omb* (όπως αποκαλύπτεται από τα αντίστοιχα *-lacZ* στελέχη) μειώνεται στον εμβρυικό δίσκο του φτερού. Καθόσον τα παραπάνω γονίδια εμπλέκονται στην ανάπτυξη του προσθοπίσθιου άξονα του εμβρυικού δίσκου του φτερού, το γονίδιο *wiser* πρέπει να παίζει σπουδαίο ρόλο στην ανάπτυξη των φτερών.

**INTERACTION OF THE *wiser* GENE (CG32711) WITH THE *Notch* AND *dpp*  
GENES IN *Drosophila melanogaster***

**Roussou Il.-G., and G. Yannopoulos**

*Division of Genetics, Cell and Developmental Biology, Department of Biology, University  
of Patras.*

The X- linked *wiser* (CG32711) gene is a vital gene for the development of *Drosophila melanogaster*. The study of a temperature sensitive lethal mutation, named *wiser<sup>tsl</sup>*, revealed that the *wiser* gene is implicated among others in the development of wings. The *wiser<sup>tsl</sup>* mutation is due to a wild *P* element (7E *P*) located 490 bp upstream of the presumed transcription start site of the gene CG32711 at the region 7E. 95 bp downstream of the 7E *P* element is located a *P{lacW}* responsible for the lethal mutation PL26. *wiser<sup>tsl</sup>* and PL26 mutations are alleles. Here we present data showing that: 1) the *wiser* gene interacts with the *Notch* (*N*) gene. The *N<sup>55e11</sup> wiser<sup>tsl</sup> / wiser<sup>tsl</sup>* females have strong scalloping wings. The same results gave and a new *Notch* (*N<sup>GY</sup>*) mutation that we have isolated from the transposition of the *P{lacW}* element of PL26 strain. 2) The *wiser* gene interacts with *dpp* gene. Ectopic expression of the *UAS wiserCDS* construct under the control of *apGAL4* driver, reduced the *dpp* expression (revealed by *dpp-lacZ*) in the notum territory of the wing imaginal disc. 3) In *wiser<sup>tsl</sup>* background the expression of *dpp*, *dad*, *salm* and *omb* genes (revealed by the corresponding *-lacZ* strains) is reduced in the wing imaginal disc. As the above genes are implicated in the development of the anterior-posterior (A/P) axis of the wing imaginal disc, the *wiser* gene must play a critical role in wing development.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΣΤΗ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΠΕΠΤΙΚΩΝ  
ΕΝΖΥΜΩΝ ΣΕ ΕΙΔΗ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *PODARCIS*****Σαγώνας Κ.<sup>1</sup>, Κοτσακιάζη Π.<sup>1</sup>, Παφίλης Π.<sup>2</sup>, Βαλάκος Ε.Δ.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ,  
Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσσια, 157-84, Αθήνα, <sup>2</sup>School of Natural Resources and  
environment, Dana Building, 430 East University, U of M, Ann Arbor, MI 48109-1115,  
USA

Η θερμοκρασία διαδραματίζει πολύ σημαντικό ρόλο στις διάφορες κυτταρικές αντιδράσεις, έτσι σε κάθε ολοκληρωμένη προσέγγιση της φυσιολογίας εξετάζεται η επίδραση της, στον τρόπο λειτουργίας των οργανισμών. Η πέψη θεωρείται μια από τις πλέον σημαντικές λειτουργίες των οργανισμών. Η δραστηριότητα της, υπολογίζεται με βάση την πεπτική αποδοτικότητα, ικανότητα του οργανισμού να εκμεταλλεύεται το ενεργειακό περιεχόμενο της τροφής του και εξαρτάται από το χρόνο διέλευσης της τροφής και τη δράση εξειδικευμένων πεπτικών ενζύμων. Στην εργασία αυτή μελετήθηκαν είδη του γένους *Podarcis*. Τα νησιωτικά είδη του γένους αυτού διαφέρουν ως προς την πεπτική τους αποδοτικότητα (πρωτεϊνών, σακχάρων) σε σχέση με τα ηπειρωτικά. Συγκεκριμένα η πεπτική ικανότητα των νησιωτικών σε σχέση με των ηπειρωτικών ειδών είναι μεγαλύτερη για τις πρωτεΐνες αλλά όχι για τα σάκχαρα. Έχει επίσης δειχθεί ότι αυξανόμενη της θερμοκρασίας η πεπτική ικανότητα για τα σάκχαρα αυξάνεται, κάτι που όμως δεν συμβαίνει με τις πρωτεΐνες, που παρατηρείται μείωση, αλλά και ο χρόνος παραμονής της τροφής στον πεπτικό σωλήνα ελαττώνεται σημαντικά σε όλα τα είδη. Φαίνεται, δηλαδή, ότι το περιβάλλον είναι αυτό που επιδρά στην αποδοτικότητα της πέψης. Τι συμβαίνει όμως με τη δραστηριότητα των ενζύμων, ένας παράγοντας που επηρεάζει την πεπτική αποδοτικότητα; Ειδικά στη περίπτωση των σαυρών, η δραστηριότητα των ενζύμων αγγίζει το μέγιστο, στο πλαίσιο της θερμορύθμισης των ζώων. Πραγματοποιήσαμε συγκριτική μελέτη της επίδρασης της θερμοκρασίας στη δραστηριότητα των πεπτικών ενζύμων, σε νησιωτικά και ηπειρωτικά είδη του γένους *Podarcis* στην Ελλάδα με σκοπό τη διαλεύκανση του βαθμού επιρροής της φυλογένεσης αλλά και του περιβάλλοντος στη λειτουργία της πέψης. Η δραστηριότητα των πεπτικών ενζύμων εμφανίζει υψηλότερη απόδοση στη περιοχή του δωδεκαδακτύλου. Φαίνεται ότι αυξανόμενη της θερμοκρασίας αυξάνεται και η δραστηριότητα τόσο των πεπτιδασών όσο και των σακχαριτασών. Αύξηση όμως πάνω από τους 50°C προκαλεί απότομη μείωση της δραστηριότητας των ενζύμων.

**EFFECT OF TEMPERATURE IN DIGESTIVE ENZYMES' ACTIVITY IN  
SPECIES OF THE GENUS *PODARCIS***

**Sagonas K.<sup>1</sup>, Kotsakiozi P.<sup>1</sup>, Pafilis P.<sup>2</sup>, Valakos E.D.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Section of Animal and human Physiology, Department of Biology, UOA, Ilissia, 157-84, Athens, Greece, <sup>2</sup>School of Natural Resources and environment, Dana Building, 430 East University, U of M, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA

Temperature plays an important role on cell reactions, so in every physiological study is examined its impact on the way that organism function. Digestion considers being one of the main functions of animals and it is responsible for food degradation, which is followed by the absorbance of the nutrient components. Digestive performance is estimated by the digestive efficiency, which is the organism ability in using food energy and it is depended on the gut passive time and the specific digestive enzymes' activity. In our study we used species of the genus *Podarcis*. The island species, of the genus *Podarcis*, differ in their digestive efficiency of proteins and sugars in contrast to the mainland species. In particular the digestive performance of the island species is significant greater for proteins but not for sugars in relation to the mainland species. It has also been shown that apparent digestive efficiency (ADEs) for sugar showed a monotonic increase with temperature whereas ADEs for proteins decreased with temperature, but also the gut passage time for all species decreased significantly at higher temperature. Therefore it is indicated that environment affects digestions' efficiency. But, what is going on with enzymatic activity that affects digestives' efficiency? In lizards it is shown that enzymes reach maximum activity during thermoregulation. Here we evaluate the effect of temperature in digestive enzymes' activity (maltase and peptidases) in island and mainland species of the genus *Podarcis* in Greece. Our purpose is to determine the influence of phylogeny and environment in digestion. The higher output is showed to be in the area of duodenum. From our study it seems that as temperature rises, peptidase and maltase activity is increased. However, a rise of temperatures over 50°C, causes a dramatically decrease of the enzymes' activity. Furthermore, species tend to band together based on phylogeny than on environment.

**ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΖΩΙΚΩΝ ΜΟΝΤΕΛΩΝ ΤΥΠΟΥ ΑΛΛΟΜΟΣΧΕΥΜΑΤΟΣ ΓΙΑ  
ΤΗΝ *IN VIVO* ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΟΓΚΩΝ**

**Σέττα-Καφφετζή Ν.<sup>1</sup>, Θανασοπούλου Α.<sup>1</sup>, Ρουμπελάκη Μ.<sup>1</sup>, Σαμαρά Α.<sup>2</sup>,  
Κωνσταντάκου Ε.Γ.<sup>3</sup>, Βουτσινάς Γ.Ε.<sup>4</sup>, Ανάγνου Ν.<sup>1</sup>, Δήμας Κ.<sup>5</sup>,  
Στραβοπόδης Δ.Ι.<sup>3</sup> και Ε. Αναστασιάδου<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Γενετική & Γονιδιακή Θεραπεία, ΙΙΒΕΑΑ. <sup>2</sup>Νευροενδοκρινολογία, ΙΙΒΕΑΑ. <sup>3</sup>Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ. <sup>4</sup>Ινστιτούτο Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος». <sup>5</sup>Φαρμακολογία, ΙΙΒΕΑΑ.

Η παρούσα εργασία επικεντρώνεται στη δημιουργία ενός ζωικού μοντέλου για την *in vivo* μελέτη κακοηθειών, με σκοπό τόσο την ανάλυση των πρωτογενών όγκων και των μεταστάσεων αυτών όσο και στις επιπτώσεις θεραπευτικών σκευασμάτων στην εξέλιξη της νόσου. Για το σκοπό αυτό κατασκευάστηκαν φορείς, πλασμιδιακοί και ιικοί, που η έκφραση του γονιδίου της λουσιφεράσης ελέγχεται από τον ιικό υποκινητή CMV (cytomegalovirus). Η ύπαρξη νεομυκίνης προσδίδει ανθεκτικότητα στο συγκεκριμένο αντιβιοτικό στα κύτταρα που διαμολύνονται με αυτούς τους φορείς έκφρασης. Διαφορετικά πρωτογενή καρκινικά κύτταρα διαμολύνθηκαν με το πλασμίδιο της λουσιφεράσης. Κατόπιν επιλογής των μετασχηματισμένων κυττάρων με νεομυκίνη, πραγματοποιήθηκε *in vitro* μέτρηση βιοφωταύγειας, οπότε και επιβεβαιώθηκε η παραγωγή του ενζύμου από τα κύτταρα. Η ικανότητα πολλαπλασιασμού των κυττάρων ελέγχθηκε και καταγράφηκε σε καμπύλες ανάπτυξης. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές αποκλίσεις στο ρυθμό ανάπτυξης των διαμολυσμένων και μη διαμολυσμένων κυττάρων. Ακολούθησε η δημιουργία αλλομοσχευμάτων (xenografts) με την «ενεσοποίηση» υποδόρια, μετασχηματισμένων ή μη κυττάρων. Η ανάλυση των ζωικών μοντέλων πραγματοποιήθηκε τόσο με ιστο-παθολογική εξέταση των όγκων, όσο και δημιουργία καμπυλών θνησιμότητας τύπου Kaplan-Meier. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των δύο τύπων κυττάρων. Με τη χρήση του Xenogen IVIS Imaging System 50 Series έγινε δυνατή η απεικόνιση των περιοχών που εντοπίζεται εκπομπή φωτός σε αναισθητοποιημένους ποντικούς. Για την πραγματοποίηση αυτού, προηγήθηκε η χορήγηση του ομοειδούς υποστρώματος D-λουσιφερίνης. Το σύστημα παρουσιάζει πολύ ειδικό σήμα και συσχετίζεται μόνο με την παρουσία κυττάρων που εκφράζουν τη λουσιφεράση. Όσο μεγαλύτερες μετρήσεις βιοφωταύγειας παρουσιάζουν τα διαμολυσμένα κύτταρα τόσο αυξάνεται η ευαισθησία της εν λόγω μεθόδου *in vivo* απεικόνισης όγκων.

## XENOGRAFT ANIMAL MODELS FOR THE *in vivo* LIVE IMAGING OF HUMAN TUMORS

Setta-Kaffetzi N.<sup>1</sup>, Thanasopoulou A.<sup>1</sup>, Roumpelaki M.<sup>1</sup>, Samara A.<sup>2</sup>,  
Konstantakou E.G.<sup>3</sup>, Voutsinas G.E.<sup>4</sup>, Anagnou N.<sup>1</sup>, Dimas K.<sup>5</sup>,  
Stravopodis D.J.<sup>3</sup>, and E. Anastasiadou<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Genetics & Gene Therapy, BRFAA. <sup>2</sup>Neuroendocrinology, BRFAA. <sup>3</sup>Faculty of Biology, University of Athens. <sup>4</sup>Institute of Biology, NCSR "Demokritos". <sup>5</sup>Pharmacology, BRFAA.

The aim of the study is to generate xenograft animal models for the *in vivo* live imaging of tumor formation, metastasis and/or disease progression under chemotherapeutic drug response. Therefore, plasmid and viral vectors were designed and constructed carrying the luciferase reporter gene under the transcriptional control of CMV (cytomegalovirus) promoter. The constructs also express neomycin and consequently the cells transduced with these vectors will be resistant in the presence of the antibiotic. Different primary cancer cells were transfected with the constructs and after neomycin selection the cells were analyzed for luciferase expression by luminometer. Growth curves were performed to examine if the plasmid transduction altered the proliferation properties of the cells and no differences were observed. Xenografts were generated after injecting subcutaneously one million cells, transfected or non-transfected with the luciferase expression construct. Histopathological analysis and Kaplan-Meier curves were performed to monitor these mice and the respective developed tumors. No major alterations on morphology of the tumors were observed between the animals generated with cells expressing luciferase and the untransfected cells. The latency of the disease though was different; the mice injected with the luciferase-expressing cells develop tumors with significant delay, although the final outcome of the disease was the same. The live imaging of the tumor formation was accomplished with the Xenogen IVIS Imaging 50 Series. The mice were anesthetized and injected with D-luciferin, a substrate for luciferase. The imaging signal was very specific and no background was observed, even when the exposure was maximized. The sensitivity of the system depends on the expression levels of luciferase that the injected cells produce. In this study, we developed the tools to perform live imaging of xenograft mouse models. The system proved to be extremely specific and no background was observed, rendering it a powerful tool for *in vivo* animal studies.

## ΑΥΤΟΤΟΜΙΑ ΤΗΣ ΟΥΡΑΣ ΚΑΙ Η ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗ

Σίμου Χ.<sup>1</sup>, Γαϊτανάκη Αικ.<sup>1</sup>, Παφίλης Π.<sup>2</sup>, Βαλάκος Ε.Δ.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσσια, 157-84, Αθήνα, <sup>2</sup>School of Natural Resources and Environment, Dana Building, 430 East University, U of M, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA

Η αυτοτομία της ουράς αποτελεί ένα αποτελεσματικό αντιθηρευτικό μηχανισμό στις σαύρες. Η απόδοση της αυτοτομίας εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως η φυλογένεση, η παρουσία θηρευτών, το είδος θηρευτών, το μέγεθος των ζώων και κατά συνέπεια η ηλικία των ζώων. Την αυτοτομία ακολουθεί κατά κανόνα η αναγέννηση. Η ίδια η αναγεννημένη ουρά δεν διαθέτει την ικανότητα αυτοτομίας, αυτή μπορεί όμως να πραγματοποιηθεί στα εναπομένοντα άθικτα τμήματα. Στην εργασία αυτή μελετάμε: α) τους παράγοντες που επιδρούν στην απόδοση της αυτοτομίας και β) τους παράγοντες που καθορίζουν την κίνηση της ουράς, τόσο σε ζώα που είχαν άθικτη, όσο και σε ζώα που η ουρά τους ήταν αναγεννημένη. Χρησιμοποιούμε τα είδη *P.peloponnesiacus*, *P.tauricus*, *P.gaiageae*, *P.milensis*, *P.erhardii* και *P.cretensis*. Με βάση τους παράγοντες που επηρεάζουν την αυτοτομία, η ανάλυση των κύριων συνιστωσών τόσο τα ζώα που είχαν άθικτη όσο και τα ζώα που είχαν αναγεννημένη ουρά ομαδοποιούνται ανάλογα με το βιότοπο από τον οποίο προέρχονται. Αντίθετα η ανάλυση των κύριων συνιστωσών των μεταβλητών που σχετίζονται με την κίνηση της ουράς, δεν καταλήγει σε καμία ομαδοποίηση. Τελικά, η απόδοση της αυτοτομίας της ουράς φαίνεται να καθορίζεται από το βιότοπο, από περιβαλλοντικούς κατ' επέκταση παράγοντες, σε αντίθεση με την κίνηση της ουράς που αποτελεί έναν συντηρητικό μηχανισμό.



## THE AUTOTOMY OF TAIL AND THE ENVIRONMENTAL EFFECT

*Simou Ch.<sup>1</sup>, Gaitanaki C.<sup>1</sup>, Pafilis P.<sup>2</sup>, Valakos E.D.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Section of Animal and human Physiology, Department of Biology, UOA, Ilissia, 157-84, Athens, Greece, <sup>2</sup>School of Natural Resources and environment, Dana Building, 430 East University, U of M, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA*

Autotomy is one very effective antipredator mechanism used by lizards. Autotomic capacity depends on various factors including phylogeny, predators presence, predator types, animals's size and subsequently, animals' age. In most cases, immediately after autotomy, the tail begins to regenerate. The regenerated tail itself does not have the autotomy ability anymore, so this has to happen on the remaining intact parts. In this study, we examined a) the factors that affect autotomy and b) the factors that affect tail movement both in intact and in regenerated tail. We used animals of the following species: *P.peloponnesiacus*, *P.tauricus*, *P.gaigeae*, *P.milensis*, *P.erhardii* and *P.cretensis*. Principal component analysis showed that based on the factors that affect autotomy, both animals with intact and animals with regenerated tails, could be grouped regarding their biotope. In contrast, principal component analysis showed that there could be no grouping of the species regarding the factors that affect tail movement. Finally, tail autotomy seems to be affected by the biotope and other environmental factors. In contrast, tail movement seems to be a conservative mechanism.

**Η BRI2 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΤΗ Β-ΕΚΚΡΙΤΑΣΗ ΚΑΙ ΜΕΙΩΝΕΙ ΤΑ  
ΚΥΤΤΑΡΙΚΑ ΤΗΣ ΕΠΙΠΕΔΑ**

*Σλάβη Ν., Τσαχάκη Μ., Ευθυμίουπουλος Σ.*

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και  
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη 15784, Ιλίσια*

Οι οικογενείς άνοιες βρετανικού και δανέζικου τύπου είναι δύο νευρο-εκφυλιστικές ασθένειες, που προκύπτουν από μεταλλάξεις στο γονίδιο που κωδικοποιεί για τη BRI2 πρωτεΐνη. Νευροπαθολογικά, χαρακτηρίζονται από την εναπόθεση αμυλοειδών πεπτιδίων στον εγκέφαλο. Τα πεπτιδία αυτά προκύπτουν από την πρωτεόλυση των μεταλλαγμένων μορφών της BRI2. Οι άνοιες αυτές παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον καθώς εμφανίζουν σημαντικές ομοιότητες με τη νόσο του Alzheimer, η οποία χαρακτηρίζεται από την εναπόθεση στους εγκεφάλους του αμυλοειδούς πεπτιδίου Αβ. Το πεπτιδίο αυτό προκύπτει μέσω της πρωτεολυτικής επεξεργασίας της Προδρομής Πρωτεΐνης του Αμυλοειδούς (APP) από τη β-εκκριτάση (BACE1) και τη γ-εκκριτάση. Κατά το παρελθόν, προκειμένου να ερμηνεύσουμε τις νευροπαθολογικές ομοιότητες ανάμεσα στις άνοιες βρετανικού/δανέζικου τύπου και στη νόσο Alzheimer, δείξαμε ότι η BRI2 και η APP αλληλεπιδρούν. Επιπλέον, η BRI2 ρυθμίζει το μεταβολισμό της APP και μειώνει την έκκριση του Αβ πεπτιδίου, μέσω μείωσης στην πρωτεόλυση της APP από τη BACE1. Στην παρούσα μελέτη, με πειράματα ανοσοκατακρήμνισης δείχθηκε ότι η BRI2 και η BACE1 αλληλεπιδρούν φυσικά, και ότι η έκφραση της BRI2 μειώνει τα συνολικά κυτταρικά επίπεδα της BACE1. Ανάλυση με πρωτεΐνες BRI2 που φέρουν ελλείψεις σε διάφορες περιοχές έδειξε ότι η εξωκυτταροπλασματική περιοχή της πρωτεΐνης εμπλέκεται τόσο στην αλληλεπίδραση με τη BACE1 όσο και στην επίδρασή της στα συνολικά επίπεδα του ενζύμου. Συμπεράναμε ότι η αλληλεπίδραση της BRI2 με τη BACE1 άμεσα ή έμμεσα μειώνει τα κυτταρικά επίπεδα της BACE1. Αυτός είναι ένας πιθανός μηχανισμός μέσω του οποίου η BRI2 ελέγχει την παραγωγή του πεπτιδίου Αβ.

*Αυτή η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από το Εμπειρικό Ίδρυμα*

*Η Μαρία Τσαχάκη είναι υπότροφος του Ιδρύματος Κρατικών Υποτροφιών*

## **BRI2 PROTEIN INTERACTS WITH B-SECRETASE AND REDUCES ITS CELLULAR LEVELS**

*Slavi N., Tsachaki M., Efthimiopoulos S.*

*Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, National and  
Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis 157 84, Ilissia- Athens*

Familial British and Familial Danish Dementia are two neurodegenerative diseases that derive from mutations in the gene that encodes for BRI2 protein. The main neuropathological characteristic is the deposition of amyloidogenic peptides in the brains of patients. These peptides are generated by the proteolytic processing of the mutated forms of BRI2. These diseases are particularly interesting, since they present striking similarities with Alzheimer's disease, which is characterised by the aggregation of A $\beta$  peptide in the brain. A $\beta$  peptide derives from the sequential proteolysis of the Amyloid Precursor Protein (APP) by  $\beta$ -secretase (BACE1) and  $\gamma$ -secretase. In the past, in order to elucidate the neuropathological similarities between Familial British / Danish Dementia and Alzheimer's disease we showed that BRI2 and APP interact. Moreover, we found that BRI2 regulates the cleavage of APP and the secretion of A $\beta$  peptide, as it reduces the proteolysis of APP from BACE1. In the present study, with immunoprecipitation experiments we showed that BRI2 and BACE1 physically interact and that BRI2 reduces the total cellular levels of BACE1. By deleting different regions of BRI2 we found that the extracellular part of the protein is responsible not only for its interaction with BACE1 but also for its effect on BACE1 stability. Therefore, the interaction of BRI2 with BACE1 could directly or indirectly reduce the cellular levels of BACE1. Our data indicates a potential mechanism through which BRI2 regulates the production of A $\beta$  peptide.

*This research was funded by the Empeirikion Foundation*

*Maria Tsachaki has a scholarship from the State Scholarship Foundation*

ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ RAB5, GLUT-4 ΚΑΙ PI3 KINASE ΣΕ ΠΡΩΤΟΓΕΝΕΙΣ  
ΚΑΛΛΙΕΡΓΙΕΣ ΠΡΟ-ΛΙΠΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΕ ΕΝΔΟΚΟΙΛΙΑΚΟ, ΥΠΟΔΟΡΙΟ  
ΚΟΙΛΙΑΚΟ ΚΑΙ ΥΠΟΔΟΡΙΟ ΜΗΡΙΑΙΟ ΛΙΠΩΔΗ ΙΣΤΟ ΕΝΗΛΙΚΩΝ ΜΕ  
ΝΟΣΟΓΟΝΟ ΠΑΧΥΣΑΚΙΑ ΚΑΙ ΛΕΠΤΟΣΩΜΟΥΣ ΜΑΡΤΥΡΕΣ ΣΕ  
ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑΣ ΤΗΣ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ

Σμαΐλη Μ.<sup>1</sup>, Ρόχας Χιλ Α.-Π.<sup>1</sup>, Καρβέλα Α.<sup>1</sup>, Κεχαγιάς Ι.<sup>3</sup>, Αλεξανδρίδης Θ.Κ.<sup>2</sup>,  
Λινός Δ.<sup>4</sup>, Καλφαρέντζος Φ.<sup>3</sup>, Γκρέκα-Σπηλιώτη Β.Ε.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ερευνητικό Εργαστήριο Μονάδας Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας και Διαβήτη,  
Παιδιατρικής Κλινικής, <sup>2</sup>Τμήμα Ενδοκρινολογίας, Παθολογικής, Κλινικής,  
<sup>3</sup>Χειρουργική Κλινική, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Πατρών, Πάτρα,  
<sup>4</sup>Χειρουργική Κλινική, Νοσοκομείο Υγεία, Αθήνα

**Εισαγωγή:** Η παχυσαρκία μπορεί να προκαλέσει αντίσταση στην ινσουλίνη, και σακχαρώδη διαβήτη τύπου II (ΣΔΙΙ). Η ινσουλίνη διευκολύνει την πρόσληψη της γλυκόζης μέσω της μεταφοράς του GLUT4 στην πλασματική μεμβράνη. Η GTP-ase Rab5 παίζει ρόλο στην μεταφορά του GLUT4 και στην ρύθμιση της κυτταρικής τοποθεσίας της PI3 kinase (PI3K). **Μέθοδοι:** Πρωτογενή καλλιέργειες προ-λιποκυττάρων από ενδοκοιλιακό (ΕΚ), υποδόριο κοιλιακό (ΥΔΚ) υποδόριο μηριαίο (ΥΔΜ) λιπώδη ιστό, 7 ασθενών με νοσογόνο παχυσαρκία (ΝΠ) και ΣΔ2 (ΝΠΣΔ), 4 με ΝΠ και υπερινσουλιναιμία (ΥΙ) (ΝΠΥΙ), 6 ΝΠ χωρίς ΣΔ2 ή ΥΙ (ΝΠΧ), και 7 λεπτόσωμων ατόμων (Μ). Μελετήθηκαν η πρωτεϊνική έκφραση (ΠΕ) και η κυτταρική τοποθεσία των Rab5, GLUT4 και PI3K με ανοσοθρομβοκυτταροχημική ανάλυση (Western Immunoblotting) και η έκφραση του mRNA με RT-PCR. **Αποτελέσματα:** (1) Αυξημένη περιπυρηνική συσσώρευση της **Rab5** σε ΝΠΣΔ και ΝΠΥΙ παρατηρήθηκε στο ΕΚ και ΥΔΚ ιστό. Μείωση της συνολικής ΠΕ και του mRNA της RAB5 βρέθηκε σε ΝΠΥΙ στο ΕΚ και ΥΔΚ ιστό. Στο ΥΔΜ η ΠΕ της Rab5 ήταν μειωμένη σε σύγκριση με το ΕΚ και ΥΔΚ χωρίς σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων. (2) Η ΠΕ του **GLUT4** ήταν μειωμένη περιπυρηνικά και σχεδόν ανύπαρκτη στην πλασματική μεμβράνη σε ΝΠΣΔ και ΝΠΥΙ στο ΕΚ και ΥΔΚ σε αντίθεση με ΝΠΧ και Μ. Στον ΥΔΜ η ΠΕ του GLUT4 ήταν αυξημένη περιπυρηνικά και στην πλασματική μεμβράνη στα ΝΠΧ, ΝΠΣΔ, ΝΠΥΙ και Μ σε σύγκριση με ΕΚ και ΥΔΚ. (3) Η ΠΕ της **PI3K** ήταν μειωμένη στο κυτταρόπλασμα των ΝΠΣΔ και ΝΠΥΙ σε ΕΚ και ΥΔΚ σε σύγκριση με Μ. Στο ΥΔΜ η ΠΕ της PI3K ήταν αυξημένη στα ΝΠΣΔ και ΝΠΥΙ σε σύγκριση με Μ. **Συμπεράσματα:** Η αυξημένη περιπυρηνική συσσώρευση της Rab5 στο ενδοκοιλιακό και υποδόριο κοιλιακό λιπώδη ιστό στους ασθενείς με νοσογόνο παχυσαρκία και ΣΔ2 ή με υπερινσουλιναιμία μπορεί να συμβάλλει στην ενδοκυτταρική εντόπιση του GLUT4 και στην μειωμένη κυτταροπλασματική έκφραση της PI3K με αποτέλεσμα την μειωμένη πρόσληψη της γλυκόζης που χαρακτηρίζει τους παχύσαρκους με αντίσταση στην ινσουλίνη και ΣΔ2.

**RAB5, GLUT-4 AND PI3 KINASE EXPRESSION IN PRE –ADIPOCYTE  
PRIMARY CULTURES OF VISCERAL,SUBCUTANEOUS ABDOMINAL  
AND GLUTEAL ADIPOSE TISSUE FROM MORBIDLY OBESE AND LEAN  
ADULTS IN DIFFERENT STATES OF INSULIN SENSITIVITY**

*Smaili M.<sup>1</sup>, Rojas Gil A.-P.<sup>1</sup>, Karvela A.<sup>1</sup>, Kehagias I.<sup>3</sup>, Alexandrides Th. K.<sup>2</sup>, Linos  
D.<sup>4</sup>, Kalfarentzos F.<sup>3</sup>, Spiliotis B.E.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Pediatric Endocrine Research Laboratory, Division of Pediatric Endocrinology and  
Diabetes, <sup>2</sup>Department of Internal Medicine, <sup>3</sup>Department of Surgery, School of Medicine,  
University of Patras, Patras, <sup>4</sup>Department of Surgery, Hygeia Hospital, Athens.*

**Introduction:** Obesity may cause insulin resistance, reduced glucose uptake and type 2 diabetes (DMII). Insulin facilitates glucose uptake by promoting translocation of the GLUT4 to the cell surface. The GTP-ase Rab5 plays a role in GLUT4 translocation and in regulation of PI3K distribution. **Methods:** Primary cultures of pre-adipocytes were developed from surgical biopsies of visceral (VS), subcutaneous abdominal (SUB) and subcutaneous gluteal (GL) adipose tissue from 7 morbid obese adults (MO) with DMII (MOD), 4 MO with hypersulinemia (HI) (MOH), 6 MO without DMII or HI (MOW), and 7 lean adults (C). The protein expression (PE) and localization of Rab5, GLUT4 and PI3K were studied by immunofluorescence (IF) and Western Immunoblotting and mRNA expression by RT-PCR. **Results:** **1)** Increased perinuclear accumulation of **Rab5 protein** was significantly increased in MOD and MOH in VS and SUB. Decrease of the total PE and mRNA of RAB5 was observed in MOH in VS and SUB. In the GL, Rab5 protein expression was significantly less than in the VS and SUB with no significant differences between MOW, MOD, MOH and C. **2) Rab5 mRNA** expression showed no significant differences within the groups. **3)** PE of **GLUT4** was decreased perinuclearly and absent at the plasma membrane in MOD and MOH in VS and SUB as compared to MOW and C. In the GL though, GLUT4 expression was increased perinuclearly and at the membrane in MOW, MOD, MOH and C compared to VS and SUB. **4)** PE of **PI3K** expression was decreased in the cytoplasm of MOD and MOH in VS and SUB compared to C. In the GL though, PI3K expression was increased in MOD and MOH compared to C. **Conclusions:** Increased perinuclear accumulation of RAB5 in VS and SUB of MOD and MOH, might contribute to: **a)** increased intracellular GLUT4 localization and **b)** decreased expression of PI3K in the cytoplasm. This may partially explain the reduced glucose uptake seen in obesity with insulin resistance and DMII.

**ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΕΝΔΟΚΥΤΩΣΗΣ: ΕΙΣΟΣΩΜΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ  
ΣΤΟΝ *Aspergillus nidulans*****Σοφianoπούλου Β.\****Ινστιτούτο Βιολογίας, Εθνικό Κέντρο Φυσικών Επιστημών ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ, Αγία  
Παρασκευή Αττικής 153 10*

Τα εισοσώματα είναι στατικά πρωτεϊνικά συμπλέγματα των κυτταρικών μεμβρανών και αποτελούν «πύλες» ενδοκύτωσης στο *Saccharomyces cerevisiae* ((Walther *et al.*, 2006). Η ενδοκύτωση αποτελεί σημαντική διεργασία όλων των ευκαρυωτικών κυττάρων και εμπλέκεται σε πλήθος κυτταρικών λειτουργιών. Οι πρωτεΐνες Sur7, Pil1 και Lsp1 απαρτίζουν τα συμπλέγματα των εισοσωμάτων στο ζαχαρομύκητα. Η πρωτεΐνη Sur7 απομονώθηκε επιπλέον και ως καταστολέας πολλαπλών αντιγράφων μεταλλαγών του γονιδίου *rvs167*, το οποίο κωδικοποιεί για μια πρωτεΐνη που προσδένεται στην ακτίνη. Επιπλέον έχει δειχθεί ότι έλλειψη της Sur7 αλλάζει το μεταβολισμό των σφιγγολιπιδίων, που παίζουν σημαντικό ρόλο στη μεταγωγή σήματος, την ενδοκυτταρική κυκλοφορία πρωτεϊνών και την παραγωγή ασκοσπορίων (Dickson and Lester, 2002). Στους νηματοειδείς μύκητες η ενδοκύτωση εμπλέκεται στην ανάπτυξη της παθογένειας και στη διατήρηση της πολικότητας της υφής (Lee *et al.*, 2008 and references therein). Ανάλυση της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας έδειξε ότι στο γονιδίωμα του *A. nidulans* υπάρχουν πρωτεΐνες ορθόλογες των τριών εισοσωμικών πρωτεϊνών του *S. cerevisiae*. Κατασκευάστηκαν στελέχη του μύκητα που φέρουν ελλείψεις σε κάθε μία από τις πρωτεΐνες αυτές καθώς και σε συνδυασμούς τους και μελετήθηκε η υποκυτταρική κατανομή των τριών εισοσωμικών πρωτεϊνών κατά την ανάπτυξη του μύκητα, η πιθανή συμμετοχή τους στην ενδοκυτταρική κυκλοφορία πρωτεϊνών και την ενδοκύτωση μεμβρανικών μεταφορέων καθώς και η συμμετοχή τους στη δημιουργία των λιπιδικών στοιβάδων κατά την ανάπτυξη.

**Αναφορές**

1. Walther TC *et al.*, 2006. Eisosomes mark static sites of endocytosis. *Nature* 439(7079): 998-1003.
2. Dickson and Lester, 2002. Sphingolipid functions in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem. Biophys. Acta* 1583(1): 13-25.
3. Lee *et al.*, 2008. CD44 engagement promotes matrix-derived survival through the CD44-SRC-integrin axis in lipid rafts. *Mol. Cell. Biol.* 28(18): 5710-23.

(\*) προσκεκλημένη ομιλήτρια

**MOLECULAR MECHANISMS OF ENDOCYTOSIS: EISOSOMAL PROTEINS  
IN *Aspergillus nidulans***

***Sophianopoulou V.\****

*Institute of Biology, National Center for Scientific Research Demokritos, 153 10 Aghia  
Paraskevi Attikis*

Eisosomes are immobile protein complexes at the plasma membrane that mark sites of endocytosis in *Saccharomyces cerevisiae* (Walther *et al.*, 2006). Endocytosis is a crucial process found in all eukaryotic cells and plays role in nutrition uptake into cells, internalization of extracellular and plasma membrane components and signal transduction. Sur7, Pil1 and Lsp1 are components of eisosomes in yeast. Sur7 is also a multicopy suppressor of mutations in *rvs167* gene that encodes an actin-binding protein. Moreover, deletion of Sur7 altered sphingolipid metabolism and ascospore production in yeast. Sphingolipids are lipids derived from long chain bases and play a role in signal transduction and membrane trafficking (Dickson and Lester, 2002). In filamentous fungi, endocytosis has been shown to be involved in pathogenic development (*Ustilago maydis*) and maintenance of polarized hyphal (*A. nidulans*) in an actin-dependent manner (Lee *et al.*, 2008 and references therein). Sequence analysis showed that *A. nidulans* has orthologues of the three eisosomal components of *S. cerevisiae*. We generated deletion mutants of *A. nidulans* eisosomal proteins and in the present work we present our results concerning the cellular distribution and co-localization of all three eisosomal proteins during fungal development as well as their functional involvement in membrane trafficking, endocytosis of membrane transporters and formation of lipid rafts during development.

References:

1. Walther TC *et al.*, 2006. Eisosomes mark static sites of endocytosis. *Nature* 439(7079): 998-1003.
2. Dickson and Lester, 2002. Sphingolipid functions in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem. Biophys. Acta* 1583(1): 13-25.
3. Lee *et al.*, 2008. CD44 engagement promotes matrix-derived survival through the CD44-SRC-integrin axis in lipid rafts. *Mol. Cell. Biol.* 28(18): 5710-23.

(\*) *invited speaker*

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΗΣ GEMININ ΣΤΟΝ ΑΝΑΠΤΥΣΣΟΜΕΝΟ ΦΛΟΙΟ  
ΤΟΥ ΜΥΟΣ ΜΕ ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΑΠΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΑΙ ΥΠΕΡΕΚΦΡΑΣΗΣ**

*Σπέλλα Μ.<sup>1</sup>, Κυρούση Χ.<sup>1</sup>, Κρητικού Ε.<sup>1</sup>, Λυγερού Ζ.<sup>2</sup>, Ταραβήρας Σ.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Εργαστήριο Φαρμακολογίας, <sup>2</sup>Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, Ιατρική Σχολή,  
Πανεπιστήμιο Πατρών*

Ο εμβρυϊκός εγκεφαλικός φλοιός του μυός περιέχει ποικίλους πληθυσμούς πρόδρομων κυττάρων τα οποία θα δώσουν γένεση στο πολύπλοκο σύστημα νευρικών και γλοιακών κυττάρων του ενήλικου εγκεφάλου. Υπάρχουν τρεις τύποι πρόδρομων νευρικών κυττάρων, οι οποίοι διαφέρουν μεταξύ τους στην κυτταρική μορφολογία, στον τρόπο διαίρεσης, στα μοριακά χαρακτηριστικά καθώς και στο είδος των θυγατρικών τους κυττάρων. Τα νευροεπιθηλιακά κύτταρα και τα κύτταρα της ακτινωτής γλοίας είναι πρόδρομα νευρικά κύτταρα της κοιλιακής ζώνης του φλοιού τα οποία διαιρούνται είτε συμμετρικά, παράγοντας δύο όμοια πρόδρομα κύτταρα, είτε ασύμμετρα δημιουργώντας έναν νευρώνα ή ένα πρόδρομο νευρικό κύτταρο που καλείται βασικό πρόδρομο κύτταρο. Τα βασικά πρόδρομα κύτταρα διαιρούνται πάντα συμμετρικά, είτε αναπαράγοντας τον εαυτό τους είτε δίνοντας γένεση σε δύο νευρώνες. Η σωστή ανάπτυξη του φλοιού απαιτεί τον συντονισμό της κυτταρικής διαίρεσης και της διαφοροποίησης των πρόδρομων νευρικών κυττάρων. Η Geminin μπορεί να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στο βήμα αυτό, καθώς έχει βρεθεί να αλληλεπιδρά με μεταγραφικούς παράγοντες και πρωτεΐνες που ρυθμίζουν τον κυτταρικό κύκλο αλλά και την αναδιαμόρφωση της δομής της χρωματίνης. Προκειμένου να μελετήσουμε το ρόλο της Geminin στη δημιουργία του φλοιού, χρησιμοποιήσαμε μύες που επιτρέπουν την ιστοειδική αδρανοποίηση του γονιδίου της Geminin στον εγκεφαλικό φλοιό. Τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν ότι η Geminin επηρεάζει τους πληθυσμούς των πρόδρομων νευρικών κυττάρων, μεταβάλλοντας κατ' αυτόν τον τρόπο την αναλογία μεταξύ πρόδρομων και διαφοροποιημένων κυττάρων. Τα ευρήματα αυτά επιβεβαιώθηκαν και από πειράματα υπερέκφρασης της Geminin στο φλοιό του εγκεφάλου εμβρύων μυός ηλικίας 14.5 ημερών.



## LOSS AND GAIN OF FUNCTION ANALYSIS OF GEMININ'S ROLE IN THE DEVELOPING MOUSE CORTEX

*Spella M.<sup>1</sup>, Kyrousi C.<sup>1</sup>, Kritikou E.<sup>1</sup>, Lygerou Z.<sup>2</sup>, Taraviras S.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> *Department of Pharmacology, School of Medicine, University of Patras*

<sup>2</sup> *Department of General Biology, School of Medicine, University of Patras*

The embryonic mouse cortex contains three main classes of neural progenitor cells which will give rise to the complex array of neurons and glia comprising the adult brain. Neurogenic progenitors differ in features of cellular morphology, mode of division, molecular profile and daughter cell fate. Neuroepithelial and radial glial cells are ventricular zone progenitors, which divide at the apical surface of the cortex either symmetrically, to self-renew, or asymmetrically to generate neurons or a third type of progenitors named intermediate progenitor cells. Intermediate progenitor cells divide at basal, non-surface positions of the cortex in a symmetric manner in order either to self-renew or to produce two neurons. During this process the coordination of proliferation is crucial for the correct development of the mammalian cerebral cortex. Geminin has been suggested to play an important role in regulating the mechanisms that govern cell division and differentiation, since it interacts with licensing factors, chromatin remodelling proteins and transcription factors. In order to study Geminin's involvement in controlling cortical neural progenitors development, we employed conditional inactivation of the mouse Geminin gene specifically in cells of the central nervous system. Our results indicate that Geminin affects the neural progenitor pool and modulates the transition through different progenitor populations changing in this way the ratio between progenitor and differentiated cell types of the cortex. These data were further confirmed by overexpression experiments using *ex vivo* electroporation following microinjection of Geminin cDNA in the lateral ventricles of mouse embryos.

**Η RNase P ΩΣ ΣΤΟΧΟΣ ΓΙΑ ΝΕΟΥΣ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ. ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΤΗΝ  
ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΕΝΑΝΤΙ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ RNase P ΑΠΟ  
ΒΑΚΤΗΡΙΑ, ΟΡΓΑΝΙΔΙΑ ΚΑΙ ΕΥΚΑΡΥΩΤΙΚΟΥΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ**

Σταματοπούλου Β.<sup>1</sup>, Τουμπέκη Χρ.<sup>1</sup>, Μπίκου Μ.<sup>1</sup>, Λύτρα Μ.<sup>1</sup>, Τσιάπαλης Δ.<sup>1</sup>,  
Vioque A.<sup>2</sup> και Δ. Δραϊνας<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών.

<sup>2</sup>Universidad de Sevilla, Vicerectorado de Investigación Valparaíso 5, 41013 Sevilla

Η ριβονουκλεάση P (RNase P) είναι ένα ριβονουκλεοπρωτεϊνικό σύμπλοκο απαραίτητο για την ωρίμανση των 5' άκρων όλων των προδρόμων μορίων tRNA. Η RNase P έχει μελετηθεί σε πληθώρα οργανισμών και από τις τρεις φυλογενετικές περιοχές, με καλύτερα χαρακτηρισμένη την αντίδραση που καταλύει η υπομονάδα RNA του *Escherichia coli*, το ριβοένζυμο M1. Εκτενείς μελέτες έχουν δείξει ότι αντιμικροβιακά φάρμακα που αλληλεπιδρούν με το ριβόσωμα, επηρεάζουν και τη δράση άλλων μορίων RNA, όπως την υπομονάδα RNA της RNase P. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση διαφόρων φαρμάκων (μακρολίδια, κετολίδια, αμινογλυκοζίτες, ρετινοειδή) στη δραστικότητα της RNase P και της RNA υπομονάδας της από το *E. coli*, το κυανοβακτήριο *Synechocystis* PCC6803, καθώς και της RNase P από τους χλωροπλάστες του φύκους *Chlamydomonas reinhardtii*. Σε αντίθεση με την ανασταλτική δράση των μακρολιδίων και κετολιδίων στη λειτουργία του ριβοσώματος, η δραστικότητα του ολοενζύμου της RNase P και της RNA υπομονάδας του από το *E. coli* ενεργοποιείται παρουσία του μακρολιδίου σπιραμυκίνη και των κετολιδίων τελιθρομυκίνη και mycaminosyltylonolide (OMT), με μεγαλύτερη την ενεργοποίηση της υπομονάδας RNA από την τελιθρομυκίνη (133%). Τα δυο κετολίδια φαίνεται να έχουν προσθετική δράση στην ενεργοποίηση της δραστικότητας της υπομονάδας RNA. Επίσης, η σπιραμυκίνη προκαλεί αναστολή στη δραστικότητα της RNase P από τους χλωροπλάστες του φύκους *C. reinhardtii*, καθώς και μικρή ενεργοποίηση της τάξεως του 3% στην υπομονάδα RNA της RNase P από το *Synechocystis*. Επιπροσθέτως, σε πειράματα που διεξήχθησαν παρουσία του αμινογλυκοζίτη νεομυκίνη φάνηκε να μην επηρεάζεται καθόλου η δραστικότητα του ριβοενζύμου από το *Synechocystis*, ενώ ενδιαφέρουσα ήταν η ενεργοποίηση της δραστικότητάς του (15%) παρουσία του ρετινοϊκού οξέος.

ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ, ΓΕΝΙΚΗ ΓΡΑΜΜΑΤΕΙΑ ΕΡΕΥΝΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ  
ΚΟΙΝΑ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΑ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΑ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ, ΕΛΛΑΔΑ – ΙΣΠΑΝΙΑ

**RNase P AS A TARGET FOR NOVEL INHIBITORS. DIFFERENCES IN  
INHIBITOR SENSITIVITY OF BACTERIA, ORGANELLAR AND  
EUKARYOTIC RNase P ENZYMES**

*Stamatopoulou V.<sup>1</sup>, Toumpeki C.<sup>1</sup>, Bikou M.<sup>1</sup>, Lytra M.<sup>1</sup>, Tsiapalis D.<sup>1</sup>, Vioque A.<sup>2</sup>,  
and D. Drainas<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Department of Biological Chemistry, School of Medicine, University of Patras.*

<sup>2</sup>*Universidad de Sevilla, Vicerectorado de Investigación Valparaíso 5, 41013 Sevilla*

Ribonuclease P is a ribonucleoprotein complex, which is responsible for 5' maturation of the precursor tRNA molecules. The RNase P is present in almost every organism from the three phylogenetic kingdoms. M1 ribozyme, the RNA subunit of RNase P from *Escherichia coli* is the most well-characterized enzyme. Extensive studies have shown that antimicrobial agents, which interact with the ribosome, influence the function of other RNA molecules, such as the RNA subunit from RNase P. In the present study, it was investigated the effect of various drugs (macrolides, ketolides, aminoglycosides, retinoids) on the activity of RNase P holoenzyme and its RNA subunit from *E. coli*, the cyanobacterium *Synechocystis* PCC6803, as well as the activity of RNase P from chloroplasts from the fungus *Chlamydomonas reinhardtii*. Contrary to the inhibitory effect of macrolides and ketolides on the ribosomal function, the macrolide spiramycin and ketolides telithromycin and mycaminosyltylonolide (OMT) enhance the activity of RNase P holoenzyme and its RNA subunit from *E. coli*, and the greatest effect is observed on the RNA subunit by telithromycin (133%). These antibiotics appear to have additive action in the activation of RNA subunit. Also, the macrolide spiramycin inhibits the RNase P activity from the chloroplasts from *C. reinhardtii*, and, on the contrary, activates in a low extent the activity (about 3%) of the RNA subunit of RNase P from *Synechocystis*. In addition, experiments that were carried out in the presence of the aminoglycoside neomycin showed that this agent does not affect the activity of the ribozyme from *Synechocystis*, while interesting was the activation (15%) of this ribozyme by retinoic acid.

MINISTRY FOR DEVELOPMENT, GENERAL SECRETARIAT FOR RESEARCH &  
TECHNOLOGY, JOINT RESEARCH AND TECHNOLOGY PROGRAMMES, GREECE-SPAIN

**ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΕΠΙ ΤΗΣ ΥΔΡΟΒΙΑΣ ΕΝΤΟΜΟΠΑΝΙΔΑΣ  
ΤΟΥ ΠΗΛΙΟΥ ΚΑΙ ΕΞΕΤΑΣΗ ΤΗΣ ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΑΣ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ  
ΤΗΣ ΩΣ ΒΙΟΔΕΙΚΤΟΥ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΥΔΑΤΙΝΩΝ  
ΟΙΚΟΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ**

*Σταμόπουλος Δ., Ρούμπος Χ., Τσαρδακάς Ν. και Ν. Μπάλκα*

*Εργαστήριο Ζωολογίας & Υδροβίας Εντομολογίας, Τμήμα Γεωπονίας  
Ιχθυολογίας & Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών,  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος*

Η οικολογική σημασία των υδροβίων εντόμων για τα υδάτινα οικοσυστήματα και τον άνθρωπο έγκειται στο γεγονός ότι κατέχουν κυρίαρχη θέση στην τροφική αλυσίδα ως αποικοδομητές της νεκρής οργανικής ύλης, συμβάλλουν στην απομάκρυνση ορισμένων ρυπαντών, είναι θηρευτές ενοχλητικών για τον άνθρωπο και τα ζώα εντόμων, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες ποιότητας των νερών, ενώ δεν είναι αμελητέα και η υγειονομική τους σημασία ως φορέων ιών και παρασίτων. Στο πλαίσιο της παρούσας ερευνητικής εργασίας έγινε μια πρώτη προσπάθεια καταγραφής της υδροβίας εντομοπανίδας υδροβιοτόπων του Πηλίου. Από το Μάρτιο του 2007 έως το Σεπτέμβριο του 2008 πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες σε υδροβιοτόπους της περιοχής του Πηλίου, που αντιπροσωπεύουν διαφορετικά ενδιαιτήματα υδροβίων εντόμων. Συγκεκριμένα, οι παρατηρήσεις μας έγιναν στα ρέματα Κοντόρεμα (τοπ. Καλορίζα, 1015 μ.) και Καραμάνη (Δράκεια, 358 μ.) όπως επίσης και σε χαμηλής ροής νερά στη Γούρα Μαυροβουνίου (703 μ.) και στο φράγμα Παναγιώτικο του Νεοχωρίου (168 μ.). Τα πρώτα αποτελέσματα φανερώνουν την ύπαρξη μιας πλούσιας υδροβίας εντομοπανίδας στους βιοτόπους που μελετήθηκαν καθώς συλλέχθηκαν είδη από 7 τάξεις και 15 οικογένειες. Αναλυτικότερα συλλέχθηκαν: **Hemiptera** (Naucoridae, Pleidae, Notonectidae, Gerridae, Belostomatidae), **Coleoptera** (Dytiscidae, Gyrinidae, Hydrophilidae), **Odonata** (Aeshnidae, Coenagrionidae), **Trichoptera** (Limnephilidae), **Plecoptera** (Leuctridae), **Ephemeroptera** (Baetidae) και **Diptera** (Simulidae, Tipulidae). Για την εκτίμηση της ποιότητας των νερών στη περιοχή Κοντόρεμα, επιχειρήθηκε μία πρώτη προσέγγιση με τη χρήση του βιοδείκτη TBI (Trent Biotic Index) σύμφωνα με τα αποτελέσματα του οποίου η ποιότητα των συγκεκριμένων νερών μπορεί να χαρακτηριστεί ως “καλή”.

**PRELIMINARY STUDIES ON THE AQUATIC ENTOMOFAUNA OF THE  
PELION MOUNTAIN AND STREAM WATER QUALITY ASSESSMENT  
USING AQUATIC INSECTS AS BIOINDICATORS**

*Stamopoulos D., Rumbos C., Tsardakas N., and N. Balka*

*Laboratory of Zoology & Aquatic Entomology, Department of Ichthyology & Aquatic  
Environment, School of Agricultural Sciences, University of Thessaly, Volos*

The ecological significance of aquatic insects is of great importance because of their contribution in organic matter decomposition, in predation of annoying and of medical importance arthropods, in the removal of contaminants from aquatic systems and in their use as bioindicators for assessing water quality. In the present study, a first effort to record the freshwater entomofauna of the Pelion mountain (Central Greece) was attempted and an assessment of water quality using the Trent Biotic Index was realized. The collected species from various aquatic environments belonged to the following taxa: **Hemiptera** (Naucoridae, Pleidae, Notonectidae, Gerridae, Belostomatidae), **Coleoptera** (Dytiscidae, Gyrinidae, Hydrophilidae), **Odonata** (Aeshnidae, Coenagrionidae), **Trichoptera** (Limnephilidae), **Plecoptera** (Leuctridae), **Ephemeroptera** (Baetidae) and **Diptera** (Simulidae, Tipulidae). According to the TBI results, the water quality of the Kontorema creek (alt. 1015m) was classified as 'good'.

**ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ  
ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΕΙΔΩΝ ΚΡΕΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΑΛΥΣΙΔΑ ΕΜΠΟΡΙΑΣ ΤΟΥΣ****Σταμούλης Π., Σταμάτης Κ., Σαραφίδου Θ., Μαμούρης Ζ.**

Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πλούτωνος 26  
και Αιόλου, 41221 Λάρισα, E-Mail: [panstam1@gmail.com](mailto:panstam1@gmail.com)

Κάθε χρόνο μεγάλες ποσότητες πουλερικών καταναλώνονται και αποτελούν θήραμα για κυνήγι. Απαιτούνται, λοιπόν, αξιόπιστες μέθοδοι πιστοποίησης της αυθεντικότητας των τροφίμων που προέρχονται από πτηνά, οι οποίες θα ενδιέφεραν εμπόρους, καταναλωτές, καθώς και ιδιωτικούς και κρατικούς φορείς. Για το λόγο αυτό, εξετάστηκαν ως πιθανοί δείκτες διαχωρισμού ειδών πουλερικών τα γονίδια Cytochrome b (Cytb) και 12S rRNA του mtDNA. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε σε δείγματα νωπού ή επεξεργασμένου κρέατος πτηνών (όρνιθα, γαλοπούλα, πάπια, χήνα, φασιανός, πέρδικα, μπεκάτσα, στρουθοκάμηλος, ορτύκι και τσίχλα). Η μέθοδος που εφαρμόστηκε είναι η PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism). Οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν παγκόσμιοι για τα παραγωγικά ζώα (universal primers). Η πέψη του 12S rRNA με το ένζυμο περιορισμού *AciI* διαχώρισε επιτυχώς και τα δέκα πτηνά, παρουσιάζοντας ειδικά πρότυπα για το κάθε είδος. Αντίθετα, το Cytb δεν κατάφερε να διαχωρίσει όλα τα είδη μεταξύ τους. Η μέτρια επεξεργασία του κρέατος δεν εμπόδισε την ταυτοποίηση του, αφού παρουσίασε όμοια πρότυπα με το νωπό. Συμπερασματικά, το 12S rRNA είναι περισσότερο πολυμορφικό και πληροφοριακό έναντι του γονιδίου Cytb, όσον αφορά στα εξεταζόμενα είδη και θεωρήθηκε καταλληλότερος μοριακός δείκτης για μελέτες ταυτοποίησης. Η μέθοδος αυτή κρίθηκε ικανή για την ανίχνευση μιγμάτων κρέατος (όπως αποδείχθηκε από την ανακάλυψη νοθείας λουκάνικων στρουθοκαμήλου με χοιρινό κρέας), είναι φτηνή και γρήγορη, και θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί στον έλεγχο της νοθείας στις βιομηχανίες κρέατος και τις επιχειρήσεις εστίασης.

**DEVELOPMENT AND APPLICATION OF MOLECULAR MARKERS FOR  
MEAT IDENTIFICATION IN FOOD CHAIN**

*Stamoulis P., Stamatis C., Sarafidou Th., Mamuris Z.*

*Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Ploutonos 26 &  
Aiolou street, Larissa. E-Mail: [evkouts@gmail.com](mailto:evkouts@gmail.com)*

Every year large quantities of poultry and game meat are consumed all around the world. For this reason, efficient techniques to identify the species origin of the meat contained in foods are required. These may be of great interest for traders, consumers, private and public organizations. In this study two mtDNA genes, Cytochrome b (Cytb) and 12S rRNA, were tested as possible poultry meat discrimination markers. The analysis was carried out in samples of raw or processed poultry meat (chicken, turkey, duck, goose, pheasant, partridge, woodcock, ostrich, quail and song thrush), using the PCR-RFLP technique. MtDNA amplification was carried out with universal primers. Digestion of 12S rRNA by the restriction enzyme *AcI*I successfully distinguished all ten avian species, giving specific patterns for each species. On the other hand, the Cytb gene did not discriminate between all the examined species. We conclude that the 12S rRNA gene is more polymorphic and informative than Cytb gene, for avian species identification purposes. Moderate process treatment did not prevent the identification, presenting similar patterns with the raw meat. Finally, this method was considered sufficient to detect mixtures of meat, which could make it a valuable tool for checking possible adulterations in meat and restaurant industry.

ΝΕΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΣΤΗΝ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΣΥΖΕΥΓΜΕΝΩΝ ΜΕ G-  
ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ

Σταμπολάκης Χ.Κ.<sup>1</sup>, Θεοδωροπούλου Μ.Κ.<sup>1</sup>, Μπάγκος Π.Γ.<sup>2</sup>, Χαμόδρακας Σ.Ι.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο  
Αθηνών, Αθήνα 15701, <sup>2</sup>Τμήμα Πληροφορικής με Εφαρμογές στη Βιοϊατρική,  
Πανεπιστήμιο Στερεάς Ελλάδας, Παπασιοπούλου 2-4, Λαμία 35100

Οι συζευγμένοι με G-πρωτεΐνες υποδοχείς (GPCRs) είναι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες με χαρακτηριστική δομή, αποτελούμενη από 7 διαμεμβρανικές α-έλικες. Απαντώνται μόνο σε ευκαρυωτικούς οργανισμούς και παίζουν κυρίαρχο ρόλο στην επικοινωνία του κυττάρου με το περιβάλλον μέσω διαφόρων μονοπατιών μεταγωγής σήματος. Η σημασία των GPCRs φαίνεται από το γεγονός ότι, σήμερα, ένα ποσοστό της τάξης του 50% των συνταγογραφούμενων φαρμάκων στοχεύει σε GPCRs, ενώ υπολογίζεται ότι τουλάχιστον το 1/3 των νέων φαρμάκων στοχεύουν στην ίδια ομάδα υποδοχέων. Ένα σημαντικό κομμάτι της έρευνας εστιάζει στην λειτουργική αναγνώριση και ταξινόμηση τους. Για την ταξινόμησή τους έχουν προταθεί διαφορετικά συστήματα. Στα πλαίσια της gpDB, η οποία είναι μια δημόσια διαθέσιμη σχεσιακή βάση δεδομένων G-πρωτεϊνών, GPCRs, μορίων εκτελεστών και των αλληλεπιδράσεων μεταξύ τους, χρησιμοποιείται το σύστημα των 6 κλάσεων (A-F) που κατατάσσει τους υποδοχείς ανάλογα με την λειτουργία τους και τα μόρια υποκαταστάτες που τους ενεργοποιούν. Νεότερες μελέτες στους GPCRs, έχουν χρησιμοποιηθεί για να προταθεί μια εναλλακτική μέθοδος ταξινόμησης που χρησιμοποιεί φυλογενετικά δεδομένα για την κατηγοριοποίησή τους σε 5 ομάδες και είναι γνωστή ως GRAFS (Glutamate, Rhodopsin, Adhesion, Frizzled/Taste2, Secretin). Επιπλέον, εκτενείς έρευνες σε γονιδιώματα μυκήτων οδήγησαν στο να προταθούν καινούριες ταξινομήσεις για τους GPCRs των οργανισμών αυτών. Στόχος της παρούσας εργασίας είναι η σύγκριση των ανωτέρω ταξινομήσεων, ώστε να καταλήξουμε σε συμπεράσματα σχετικά με τις διαφορές και τις ομοιότητες τους. Για το λόγο αυτό πραγματοποιήσαμε εκτενή βιβλιογραφική έρευνα, ώστε να βρούμε τους νέους GPCRs, τις νέες οικογένειες και τις νέες κατηγορίες τους, καθώς και την κατάταξή τους σύμφωνα με τις παραπάνω ταξινομήσεις. Τα δεδομένα που συλλέχθηκαν θα χρησιμοποιηθούν για την αναβάθμιση της ήδη υπάρχουσας βάσης (gpDB) και για την παράλληλη παρουσίαση διαφορετικών ταξινομήσεων. Μελλοντικά, τα δεδομένα θα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη δημιουργία αλγόριθμων για την πρόγνωση και ταξινόμηση νέων GPCRs.



## **NEW DATA ON THE CLASSIFICATION OF G-PROTEIN COUPLED RECEPTORS**

***Stampolakis C.K.<sup>1</sup>, Theodoropoulou M.C.<sup>1</sup>, Bagos P.G.<sup>2</sup>, Hamodrakas S.J.<sup>1</sup>***

*<sup>1</sup>Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens,  
Athens 157 01, <sup>2</sup>Department of Computer Science and Biomedical Informatics, University  
of Central Greece, Papasiopoulou 2-4, Lamia 35100*

The G-protein-coupled receptors (GPCRs) are transmembrane proteins with a characteristic structure, which consists of 7 transmembrane  $\alpha$ -helices. They are found only in eukaryotic cells and play a major role in cell communication with its environment through a multitude of transduction pathways. The importance of GPCRs can be seen in the fact that about 50% of the prescribed drugs and 1/3 of the currently designed drugs, target GPCRs. Many researchers have been focused on the functional identification and classification of GPCRs leading to different classification methods. gpDB, which is a publicly accessible, relational database of G-proteins, GPCRs, effectors and their interactions, and was developed in our laboratory, uses the 6 Classes classification (A-F) scheme and divides the receptors according to their function and the ligands that activate them. Newly derived experimental information concerning GPCRs, has lead to an alternative classification scheme that uses phylogenetic data in order to classify GPCRs in 5 groups, known as GRAFS (Glutamate, Rhodopsin, Adhesion, Frizzled/Taste2, Secretin). In addition, extensive studies on fungal genomes resulted also in a new classification scheme for fungal GPCRs. The goal of this project is to compare the above-mentioned classification schemes, in order to elucidate their differences and similarities. To accomplish that, we collected data through an extensive literature search, in order to identify newly discovered GPCRs, novel families and classes according to the above schemes. Our data will be used to update the existing database (gpDB), as well as to enable transparency between different classification schemes. Furthermore, these datasets may be used for constructing algorithms for the prediction and classification of unknown (orphan) GPCRs.

## Η Α-ΣΥΝΟΥΚΛΕΪΝΗ ΣΤΗ ΝΟΣΟ ΠΑΡΚΙΝΣΟΝ

Στεφανής Λ.\*

*Β' Νευρολογική Κλινική Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών, Ίδρυμα  
Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών, Σωρανού του Εφεσίου 4,  
Αθήνα, 11527*

Η νόσος Πάρκινσον είναι μία συχνή νευροεκφυλιστική νόσος που οδηγεί σε έκπτωση της κινητικότητας και, σε όψιμα στάδια, και της νόησης. Η αιτιολογία της νόσου δεν είναι επακριβώς γνωστή, αλλά η α-συνουκλεΐνη είναι μία πρωτεΐνη που παίζει σημαντικό αιτιοπαθογενετικό ρόλο, καθώς αποτελεί το βασικό συστατικό των σωματίων Lewy που αποτελούν το χαρακτηριστικό παθολογοανατομικό εύρημα της νόσου και επιπλέον συνδέεται ποικιλοτρόπως γενετικά με τη νόσο. Συγκεκριμένα, σημειακές μεταλλάξεις ή πολλαπλασιασμοί του γονιδίου SNCA που κωδικοποιεί την α-συνουκλεΐνη οδηγούν σε νόσο Πάρκινσον σε σπάνια οικογενή περιστατικά, ενώ πολυμορφισμοί στην περιοχή του SNCA γονιδίου συνδέονται με κίνδυνο ανάπτυξης της νόσου ακόμη και σε σποραδικά περιστατικά. Επιπλέον, υπερέκφραση της α-συνουκλεΐνης οδηγεί σε φαινοτύπους που προσομοιάζουν με νόσο Πάρκινσον σε κυτταρικά και ζωικά μοντέλα. Αυτά τα δεδομένα συνολικά υποδηλώνουν ότι η ρύθμιση των επιπέδων έκφρασης της α-συνουκλεΐνης είναι ιδιαίτερα σημαντική για την γένεση της νόσου, και ότι αυτή η ρύθμιση μπορεί να αποτελέσει θεραπευτικό στόχο. Στο εργαστήριό μας μελετάμε μηχανισμούς μέσω των οποίων ρυθμίζονται τα επίπεδα αυτά της α-συνουκλεΐνης, εστιάζοντας σε μηχανισμούς που λειτουργούν στο μεταγραφικό επίπεδο, αλλά και στο επίπεδο της αποδόμησης της πρωτεΐνης. Επιπλέον, μελετάμε τοξικές δράσεις της α-συνουκλεΐνης σε κυτταρικά και ζωικά μοντέλα, εστιάζοντας στην επίδραση της α-συνουκλεΐνης σε μηχανισμούς αποδόμησης ενδοκυττάρων πρωτεϊνών.

*(\*) προσκεκλημένος ομιλητής*

## **ALPHA-SYNUCLEIN IN PARKINSON DISEASE**

*Stefanis L.\**

*Second Department of Neurology, University of Athens Medical School  
Biomedical Research Foundation of the Academy of Athens*

Parkinson Disease is a common neurodegenerative condition that leads to motor and, at later stages, cognitive decline. The etiology of the disease is not known, but the protein alpha-synuclein plays a major etiopathogenetic role, as it constitutes the major component of the Lewy Bodies that characterize the disease neuropathologically and, furthermore, it is genetically linked to the disease. In particular, point mutations or multiplications of the gene SNCA, which encodes the alpha-synuclein protein, lead to Parkinson Disease in rare familial cases, whereas polymorphisms in the region of SNCA correlate with the disease even in sporadic cases. Furthermore, overexpression of alpha-synuclein in various cellular and animal models leads to phenotypes resembling Parkinson Disease. These data in conjunction suggest that the regulation of alpha-synuclein levels is especially important for disease pathogenesis, and that such regulation may be a therapeutic target. Accordingly, in our lab, we are studying mechanisms through which levels of alpha-synuclein are regulated, focusing on mechanisms operating at the transcriptional level and at the level of protein degradation. Furthermore, we are studying the toxic effects of alpha-synuclein in cellular and animal models, focusing on its effects on systems of intracellular proteolysis.

*(\*) invited speaker*

**ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ  
ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗΣ ΣΕ ΑΡΧΕΓΟΝΑ/ΠΡΟΓΟΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ  
ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ**

*Ταραβήρας Σ.\**

*Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Πατρών*

Κατά την ανάπτυξη, πολυκύτταροι οργανισμοί χρειάζεται να δημιουργήσουν έναν αριθμό λειτουργικά εξειδικευμένων κυττάρων. Η διαφοροποίηση είναι μία σταδιακή διαδικασία κατά την οποία αρχέγονα/προγονικά κύτταρα που έχουν την δυνατότητα της αυτό-ανανέωσης δημιουργούν μη διαιρούμενα διαφοροποιημένα κύτταρα μέσω ενδιάμεσων καθορισμένων προγονικών κυττάρων. Σε αυτή τη διαδικασία τα κύτταρα θα πρέπει ακολουθώντας εξωκυττάρια σήματα να αναδιαμορφώσουν την οργάνωση της χρωματίνης τους και να μεταβάλουν το μεταγραφικό τους προφίλ. Οι αλλαγές αυτές θα πρέπει να συνδυάζονται με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό προκειμένου να μπορέσουν οι απόγονοι ενός κυττάρου μετά την κυτταρική διαίρεση να αλλάξουν ή να διατηρήσουν την κατάσταση στην οποία βρίσκονται. Ένα σημείο στο οποίο θα μπορούσαν να συγκλίνουν ο έλεγχος του κυτταρικού κύκλου και η απόφαση για την αλλαγή της μοίρας ενός κυττάρου αποτελεί η διαδικασία της αδειοδότησης κατά την οποία δομείται το προαντιγραφικό σύμπλοκο στις θέσεις έναρξης της αντιγραφής του DNA. Πρωτεΐνες που δομούν και ρυθμίζουν τη δημιουργία του συμπλόκου αυτού αλληλεπιδρούν με πρωτεΐνες που αναδιατάσσουν τη δομή της χρωματίνης και μεταγραφικούς παράγοντες. Προκειμένου να κατανοήσουμε τον τρόπο με τον οποίο λαμβάνει χώρα η συγκεκριμένη διαδικασία μελετάμε τη Geminin, μια πρωτεΐνη που αναστέλλει τη δόμηση του προαντιγραφικού συμπλόκου και ρυθμίζει την απόφαση του κυττάρου για πολλαπλασιασμό ή διαφοροποίηση. Πειράματα υπερέκφρασης της Geminin σε αρχέγονα/προγονικά κύτταρα του εγκεφαλικού φλοιού προάγουν τη διαφοροποίηση ενώ η κατά συνθήκη αδρανοποίηση του γονιδίου στο μυ έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του αριθμού των κυττάρων της ακτινωτής γλοίας. Χρησιμοποιώντας *in vivo* και *ex vivo* μεθοδολογίες συμπεραίνουμε ότι η Geminin έχει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της αυτανανέωσης και διαφοροποίησης αρχέγονων/ προγονικών κυττάρων του νευρικού συστήματος.

*(\*) προσκεκλημένος ομιλητής*

**INTEGRATION OF PROLIFERATION AND DIFFERENTIATION IN  
STEM/PROGENITOR CELLS OF THE NERVOUS SYSTEM**

*Taraviras S.\**

*Department of Pharmacology, Medical School, University of Patras, Greece*

The development of multicellular organisms requires the generation of numerous specialized cells organized in a structure necessary for their functional requirements. The acquisition of specialized function is a progressive, gradual process during which, stem/progenitor cells are undergoing self-renewing division and via fate committed progeny they adopt non-dividing differentiated phenotypes. To achieve this, cells must integrate a series of extrinsic signals, remodel chromatin and alter their transcriptional profile. Changes in chromatin organization and transcription should be coordinated with replication, in order to maintain or establish the transcriptional profile of progeny cells through symmetric and asymmetric divisions. A critical step during cell division that could integrate cell cycle control and cellular decisions is DNA replication licensing, the formation of the pre-replicative complex on origins of DNA replication. It is an essential step for normal cell cycle progression. Members of the prereplicative complex have been shown to interact with enzymes introducing epigenetic marks onto chromatin, chromatin remodelling complexes and transcription factors. In order to understand how this integration operates in nervous system stem/progenitor cell maintenance, commitment and differentiation, we have focused our studies on Geminin a negative regulator of pre-replicative complex formation implicated in proliferation-differentiation decisions through balanced interactions with multiple binding partners. Using *in vivo* and *ex vivo* methods we have established that Geminin is essential for regulating selfrenewal and differentiation of neural stem/progenitor cells. Overexpression of Geminin in neural stem/progenitor cells promotes commitment and differentiation of these cells by inducing cell cycle exit, while conditional inactivation of the mouse Geminin gene leads to increased number of radial glial cells in the developing forebrain.

*(\*) invited speaker*

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΕΠΟΧΙΚΟΥ ΠΡΟΤΥΠΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΤΟΥ  
ΕΝΔΗΜΙΚΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *FAUSTINA TRIZONA OLYMPICA*****Ταχτατζής Γ.Κ.<sup>1</sup>, Στάικου Α.<sup>2</sup> και Β. Μιχαηλίδης<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας,  
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης 54006 Θεσσαλονίκη,  
<sup>2</sup>Εργαστήριο Ζωολογίας, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54006 Θεσσαλονίκη

Στη φύση ο μεταβολισμός των εξώθερμων οργανισμών ακολουθεί εποχικό πρότυπο που εξαρτάται από την εξελικτική ιστορία τους και από τις εποχικές αλλαγές των παραμέτρων του ενδιαίτηματός τους. Το χερσαίο γαστερόποδο *Faustina trizona olympica* είναι ενδημικό του Ολύμπου και ζει σε μεγάλα υψόμετρα. Εποχικά αντιμετωπίζει καταπονητικές περιβαλλοντικές συνθήκες και επομένως οι βιοχημικές και φυσιολογικές του αποκρίσεις σε αυτές παρουσιάζουν ιδιαίτερο επιστημονικό ενδιαφέρον. Σκοπός της συγκεκριμένης εργασίας ήταν να μελετηθεί το εποχικό πρότυπο του μεταβολισμού στο παραπάνω είδος και να συσχετισθεί με το ετήσιο πρότυπο δραστηριότητας και τον βιολογικό του κύκλο. Τμήμα της εργασίας αυτής αποτελούν τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται και αφορούν το πρότυπο του μεταβολισμού για τους μήνες Μάιο έως Οκτώβριο 2008. Πραγματοποιήθηκαν μηνιαίες δειγματοληψίες στο πεδίο όπου έγινε η απομόνωση των ιστών (μανδύας και πόδι). Στη συνέχεια οι ιστοί μεταφέρονταν στο εργαστήριο όπου προσδιορίζονταν η ενζυμική και η ειδική ενζυμική δραστηριότητα διαφόρων ενζύμων του ενδιάμεσου μεταβολισμού βιολογικής ενέργειας (ATP). Μετρήθηκαν οι δραστηριότητες των γλυκολυτικών ενζύμων όπως η αλδολάση (Ald), εξοκινάση (HK), φωσφογλυκεροκινάση (PGK), φωσφο-φρουκτοκινάση (PFK), κινάση του πυροσταφυλικού οξέος (PK), αφυδρογονάση του γαλακτικού οξέος (D- LDH), ενζύμων του καταβολισμού των λιπιδίων όπως η αφυδρογονάση του β-υδροξυακυλο-CoA (HOAD) και ενζύμων που συμμετέχουν στον κύκλο του Krebs όπως η συνθετάση του κιτρικού οξέος (CS). Οι μεταβολές στις δραστηριότητες των ενζύμων μεταξύ Ιουλίου και Σεπτεμβρίου έδειξαν ενεργοποίηση του γλυκολυτικού ρυθμού και αύξηση του ρυθμού οξειδωσης των λιπιδίων, που πιθανότατα σχετίζονται με την αφύπνιση των σαλιγκαριών που παρατηρείται μετά το τέλος του Μαΐου και την έναρξη της αναπαραγωγικής τους περιόδου μετά το τέλος του Ιουνίου.

SEASONAL PATTERN OF METABOLISM IN THE ENDEMIC LAND SNAIL  
*FAUSTINA TRIZONA OLYMPICA*

*Tachtatzis G.K.*<sup>1</sup>, *Staikou A.*<sup>2</sup>, and *B. Michaelidis*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54006 Thessaloniki, Greece

<sup>2</sup>Laboratory of Zoology, Department of Zoology School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54006 Thessaloniki, Greece

In nature metabolism in ectothermic organisms follows a seasonal pattern that depends on the evolutionary history of each species and the prevailing biotic and abiotic factors. The land snail *Faustina trizona olympica* is an endemic species living at high altitudes on mount Olympus. Thus seasonally it faces harsh environmental conditions and its biochemical and metabolic responses to them are of particular interest. The main purpose of this project was to study the seasonal metabolic pattern of *Faustina trizona olympica* and specifically the activities of enzymes of intermediate metabolism as well as its seasonal activity pattern and its biological cycle. The results presented refer to the metabolic pattern of the species between May and October 2008. Animals were sampled in the field and tissues as foot muscle and mantle were excised, frozen in liquid nitrogen and transferred to the laboratory. Samples of tissues were powdered and kept at -80°C until further analysis and determination of enzymatic activities. Enzymatic and specific enzymatic activity of the samples was determined following common spectrophotometric protocols. For the purpose of the present work we determined the activity of glycolytic enzymes as hexokinase (HK), aldolase (Ald), phosphofructokinase (PFK), phosphoglycerokinase (PGK), pyruvate kinase (PK), D-lactate dehydrogenase (D-LDH), enzymes of lipid catabolism as 3-Hydroxyacyl-CoA dehydrogenase (HOAD) and enzymes that participate in Krebs' cycle as citrate synthase (CS). Increase in enzymatic activities between July and September 2008 indicate activation of the glycolytic rate and lipid oxidation. These changes might be related to the arousal of snails in late May and the onset of their reproductive period after the end of June.

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΑΝΟΣΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ  
ΣΤΟΝ ΚΟΚΚΙΩΔΗ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗ ΙΣΤΟ (PANNUS) ΣΤΟ ΡΑΧΙΑΙΟ  
ΑΕΡΟΘΥΛΑΚΑ ΕΠΙΜΥΩΝ**

*Τέστα Θ. και Μ. Γιάγκου*

*Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης & Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ*

Ο ραχιαίος αεροθύλακας αποτελεί ένα απομονωμένο και ταυτόχρονα οργανωμένο σύστημα αγγείωσης που επενδύεται εσωτερικά από μία μεμβράνη που απαρτίζεται από φαγοκύτταρα και ινοβλάστες και προσομοιάζει στον αρθρικό υμένα. Σε προηγούμενα πειράματά μας, διαπιστώθηκε η δημιουργία κοκκιώδους φλεγμονώδους ιστού (pannus) στον αεροθύλακα επίμυων ως απόκριση στο ανοσοεπιχειρησιακό του Freund [FCA: επαγωγέας πειραματικής αρθρίτιδας (ΠΑ)]. Στην παρούσα εργασία έγινε με ανοσοϊστοχημεία προσδιορισμός του αριθμού των κυττάρων τόσο της μεμβράνης του αεροθύλακα όσο και του κοκκιώδους φλεγμονώδους ιστού που παράγουν COX-1, COX-2, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-8, TLR-2, TLR-4, TLR-6 και TLR-9, 20 ημέρες μετά τη χορήγηση του FCA. Συγκεκριμένα, τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι, με εξαίρεση την IL-8 και τον TLR-6, όλες οι άλλες ανοσοπαράμετροι βρέθηκαν αυξημένες. Παρατηρήθηκε διαφορική παραγωγή των COX-1, COX-2 και TLR-9 ανάμεσα στη μεμβράνη και τον κοκκιώδη φλεγμονώδη ιστό. Στη μεμβράνη του αεροθύλακα υπήρχε μεγαλύτερος αριθμός κυττάρων που παράγουν COX-1 και TLR-9, ενώ στον κοκκιώδη φλεγμονώδη ιστό ανιχνεύθηκαν περισσότερα COX-2+ κύτταρα. Συμπερασματικά, το πρότυπο TLR-2, TLR-4 και των κυτοκινών TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$  στον κοκκιώδη φλεγμονώδη ιστό συμβαδίζει με τα βιβλιογραφικά δεδομένα, ενώ αναδεικνύεται η πιθανή συμμετοχή του TLR-9 στο μηχανισμό επαγωγής ΠΑ στους επίμυς.

*Η κα Τέστα είναι υπότροφος του Κρατικού Ιδρύματος Υποτροφιών (Ι.Κ.Υ.).*



**DETERMINATION OF VARIOUS IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN  
THE INFLAMMATORY GRANULAR TISSUE (PANNUS) IN RAT AIR POUCH**

*Testa Th., and M. Yiangou*

*Department of Genetics, Development & Molecular Biology, School of Biology, Aristotle  
University of Thessaloniki*

The rat air pouch model is an isolated and well organized vasculature system, developed by phagocytic and fibroblast-like lining cells that acts as a mechanical barrier. In previous experiments, it was established that inflammatory granular tissue (pannus) is formed in rat air pouch in response to Freund' s Complete Adjuvant [FCA : inducer of Adjuvant Arthritis (AA)]. We determined by immunohistochemistry the number of cells that produce COX-1, COX-2, IFN $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-8, TLR-2, TLR-4, TLR-6 and TLR-9 in the air pouch as well as in pannus 20 days post FCA administration. Our data showed that except IL-8 and TLR-6, all other immunological parameters were elevated. Differential production of COX-1, COX-2 and TLR-9 within the air pouch membrane and pannus was observed. In the air pouch membrane a significant number of cells produce COX-1 and TLR-9, while in pannus COX-2 positive cells were mainly detected. In conclusion, the TLR-2, TLR-4 pattern as well as TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  cytokine profile observed in pannus are in agreement with recent bibliographic data, though rises to prominence potential involvement of TLR-9 in the mechanism of AA development in rats.

*Ms Testa is a recipient of a State Scholarships Foundation Fellowship.*

**Η ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΗΣ F-ΑΚΤΙΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΙΡΟΥΜΕΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΩΝ  
ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑΤΩΝ *brick* ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *Zea mays***

Τζιούτζιου Ν., Παντερής Εμ.

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,  
541 24 Θεσσαλονίκη. E-mail: [epanter@bio.auth.gr](mailto:epanter@bio.auth.gr)

Τα μεταλλάγματα *brick1*, *brick2* και *brick3* του φυτού *Zea mays* χαρακτηρίζονται από την έλλειψη πρωτεϊνών του συμπλέγματος WAVE/SCAR/ARP2/3, το οποίο είναι υπεύθυνο για τον ταχύ και εντοπισμένο σχηματισμό μικρονηματίων ακτίνης. Ο φαινότυπός τους περιλαμβάνει άτυπη μορφογένεση των τυπικών επιδερμικών κυττάρων και των στοματικών συμπλόκων. Μελετήσαμε τα πρότυπα οργάνωσης της F-ακτίνης σε διαιρούμενα πρωτοδεσμικά κύτταρα των παραπάνω μεταλλαγμάτων, σε σύγκριση με αντίστοιχα του άγριου τύπου (γενετικό υπόβαθρο B73), με έμφαση στα χαρακτηριστικά συστήματα μικρονηματίων κάθε σταδίου της κυτταρικής διαίρεσης. Και στα 3 μεταλλάγματα, παρατηρήθηκε ότι η προπροφασική ζώνη της F-ακτίνης περιλαμβάνει περισσότερα μικρονημάτια απ' ό,τι στον άγριο τύπο. Σε μιτωτικά κύτταρα και των τριών μεταλλαγμάτων παρατηρείται ευδιάκριτη ζώνη αποκλεισμού της ακτίνης στην πρώην θέση της προπροφασικής ζώνης, κάτι που δεν παρατηρείται στα αντίστοιχα του άγριου τύπου. Σε μιτωτικά κύτταρα του μεταλλάγματος *brick1*, παρατηρήθηκε στην άτρακτο πολύ μεγαλύτερο πλήθος μικρονηματίων ακτίνης απ' ό,τι στον άγριο τύπο. Παρόμοιο πλεόνασμα F-ακτίνης παρατηρήθηκε και σε ατράκτους του *brick1* επηρεασμένες από ταξόλη. Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ άγριου τύπου και μεταλλαγμάτων, ως προς την F-ακτίνη στον φραγμοπλάστη. Παρά τις παραπάνω διαφορές, ο καθορισμός του επιπέδου κυτταροδιαίρεσης και η μιτωτική διαίρεση ήταν επιτυχείς και στα 3 υπό μελέτη μεταλλάγματα. Μπορεί συνεπώς να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι η F-ακτίνη δεν παίζει ιδιαίτερα καθοριστικό ρόλο στις παραπάνω διαδικασίες. Οι αλλοιώσεις στα πρότυπα οργάνωσης των μικρονηματίων ακτίνης θα μπορούσαν να αποδοθούν στην επιβράδυνση της δυναμικής της F-ακτίνης, λόγω δυσλειτουργίας του συμπλέγματος WAVE/SCAR/ARP2/3 στα υπό μελέτη μεταλλάγματα.

**F-ACTIN ORGANIZATION IN DIVIDING CELLS OF *brick* MUTANTS OF *Zea mays***

*Tzioutziou N., Panteris Em.*

*Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki GR-541 24  
Thessaloniki. E-mail: [epanter@bio.auth.gr](mailto:epanter@bio.auth.gr)*

*Brick1, brick2 and brick3* mutants of *Zea mays* are characterized by the absence of proteins of the WAVE/SCAR/ARP2/3 complex, which is responsible for rapid and localized actin filament formation. Their phenotype includes aberrant morphogenesis of pavement cells and stomatal complexes. We studied the organization of F-actin in dividing protodermal cells of the above mutants, in comparison with those of the wild type (genetic background B73). Emphasis was given in cell cycle-specific microfilament arrays. In all mutants, it was observed that the F-actin preprophase band included more microfilaments than the wild type. In mitotic cells of all the above mutants a prominent actin-depleted-zone could be observed at the cortical division site, which was not observed in the wild type. In *brick1* mitotic cells, abundant actin filaments were present in the spindle, while only few could be observed in the wild type. A similar abundance of F-actin was observed in taxol-affected spindles of *brick1*. F-actin organization in the phragmoplast was identical in wild type and mutant cytokinetic cells. Despite the differences that were observed, division site establishment and mitotic division were successfully accomplished in the wild type as well as in the mutant protodermal cells. It could be therefore concluded that F-actin may not play a particularly significant role in the above processes. The alteration in F-actin organization in the mutants might be attributed to a delay in F-actin dynamics, due to WAVE/SCAR/ARP2/3 complex malfunction.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΧΡΟΝΙΑΣ ΕΚΘΕΣΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΚΙΝΗΤΟΥ  
ΤΗΛΕΦΩΝΟΥ ΣΕ ΕΝΗΛΙΚΟΥΣ ΜΥΣ *Mus musculus*****Ντζούνη Μ.Π.<sup>1</sup>, Ξυλούρη Μ.<sup>2</sup>, Μαργαρίτης Λ.Χ.<sup>1</sup>**<sup>1</sup> Εργαστήριο Βιοφυσικής ακτινοβολιών, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιόπολις 15784, Αθήνα.E-mail: [mntzouni@biol.uoa.gr](mailto:mntzouni@biol.uoa.gr), [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)<sup>2</sup> Κέντρο Βασικών Νευροεπιστημών, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών, Σωρανού Εφεσίου 4, 11527 Αθήνα. E-mail: [mariaxil@biol.uoa.gr](mailto:mariaxil@biol.uoa.gr)

Οι ανησυχίες από τη χρήση των κινητών τηλεφώνων, ακόμα και από μικρά παιδιά, είναι έκδηλες και δικαιολογημένες. Για το σκοπό αυτό διεξάγονται εντατικές μελέτες σε πολλά εργαστήρια ανά την υφήλιο. Η δική μας ερευνητική ομάδα έχοντας υπερδεκαετή εμπειρία στην έρευνα των επιπτώσεων της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, κυρίως σε επίπεδο εντόμων, (Panagopoulos DJ and Margaritis LH 2008. In, *Mobile telephones, Networks, Applications and Performance*, Eds: A.C. Harper and R.V. Bures, pp. 107-49, Nova Science Publishers), επεκτάθηκε στη μελέτη των επιπτώσεων σε θηλαστικά. Χρησιμοποιήθηκαν αρσενικοί μύες *Mus musculus* στελέχους Balb/c ηλικίας 5 μηνών. Η ακτινοβολία, με συμβατικό κινητό τηλέφωνο τοποθετημένο κάτω από τους κλωβούς των ζώων, διήρκεσε 4 μήνες και 15 μέρες για 4 ώρες την ημέρα με μέση ένταση ηλεκτρικού πεδίου 15 βολτ/μέτρο. Τα αρσενικά ζώα-ελέγχου ήταν της ίδιας ηλικίας και παρέμεναν σε ίδιες κατά τα άλλα συνθήκες. Η πειραματική προσέγγιση μετά τη λήξη της περιόδου ακτινοβολίας, που αντιστοιχεί με περίπου 15 χρόνια στον άνθρωπο, περιελάμβανε α) διαδικασία ελέγχου βραχυπρόθεσμης μνήμης (object recognition) και β) λήψη ιστών για βιοχημική-μοριακή ανάλυση, ιστολογική ανάλυση και μελέτη με ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης. Τα μέχρι τώρα ευρήματα υποδηλώνουν διαταραχή στη λειτουργία της μνήμης και ενεργοποίηση πρωτεϊνών που εμπλέκονται σε σηματοδοτικά μονοπάτια κυτταρικού στρες/θανάτου. Συγκεκριμένα, φαίνεται ότι στον ιππόκαμπο και το φλοίο των μυών, που έχουν ακτινοβοληθεί, παρατηρείται ενεργοποίηση της απόπτωσης (απελευθέρωση του κυτοχρώματος c), σε σύγκριση με τους μύς-μάρτυρες. Συμπερασματικά, η χρόνια έκθεση μυών σε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία συμβατικού κινητού τηλεφώνου φαίνεται να έχει επίδραση αρχικά σε μοριακό επίπεδο, που στη συνέχεια εκδηλώνεται με την εμφάνιση δυσλειτουργίας μνήμης, καθώς και μορφολογικών αλλοιώσεων.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς την Ερευνητική Ομάδα του Καθηγητή Λ.Χ. Μαργαρίτη.

**STUDIES FOLLOWING CHRONIC EXPOSURE OF MOBILE PHONE  
RADIATION ON ADULT MICE *Mus musculus***

**Ntzouni M.P., Xylouri M., and L.H. Margaritis**

<sup>1</sup>Radiation Biophysics Lab, Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology,  
University of Athens, Panepistimiopolis 157 84, Athens.

E-mail: [mntzouni@biol.uoa.gr](mailto:mntzouni@biol.uoa.gr), [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)

<sup>2</sup>Centre for Basic Neurosciences, Biomedical Research Foundation of the Academy of  
Athens, 11527 Athens. E-mail: [mariaxil@biol.uoa.gr](mailto:mariaxil@biol.uoa.gr)

Mobile Telephony is one of the fastest developing areas of wireless communication technology, with approximately 3,5 billion users of mobile phones worldwide. The great concern from the use even from small children is evident and justified. For this reason intensive studies in many laboratories around the globe are taking place. Our research group having a ten years experience in the study of the effects of non-ionizing electromagnetic radiation at the level of insect oogenesis (Panagopoulos DJ and Margaritis LH 2008. In, *Mobile telephones, Networks, Applications and Performance*, Eds: A.C. Harper and R.V. Bures, pp. 107-49, Nova Science Publishers), is currently focused in the study of radiation effects in mammals. Male *Mus musculus* mice 5 months of age were used. Radiation was performed with a conventional mobile phone placed underneath the cage. The total duration of exposure was 4 months, 14 days, for 4 hours per day with a mean electric field intensity of 15 volts per meter. Control mice were kept at the same conditions. The experimental approach after the end of the period of radiation, which corresponds approximately 15 years in humans, consisted of a) short term memory test by object recognition task and b) extraction and processing of tissues for biochemical-molecular analysis, for histological analysis and for ultra structural analysis. The up to now findings indicate disorder in the memory function and protein activation that are involved in stress/cell death. In particular, it appears that in the hippocampus and the cortex of the irradiated mice there is an activation of the apoptosis pathway in comparison with the control mice. In conclusion, the chronic exposure of mice in electromagnetic radiation from conventional mobile phones appears to have effect firstly at the molecular level and then it affects the memory by malfunctioning and morphological lesions.

*This research has been supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to the Research Group of Professor L.H. Margaritis.*

**ΠΡΟΓΝΩΣΗ GPI-ΑΓΚΥΡΟΒΟΛΗΜΕΝΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ PROFILE  
HIDDEN MARKOV MODELS**

Τομάζου Μ.Ε.<sup>1</sup>, Λίτου Ζ.Ι.<sup>1</sup>, Μπάγκος Π.Γ.<sup>2</sup>, Χαμοδρακας Σ.Ι.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο  
Αθηνών, Αθήνα 15701, <sup>2</sup>Τμήμα Πληροφορικής με Εφαρμογές στη Βιοϊατρική,  
Πανεπιστήμιο Στερεάς Ελλάδας, Παπασιοπούλου 2-4, Λαμία 35100

Οι GPI-αγκυροβολημένες πρωτεΐνες αποτελούν μια ομάδα πρωτεϊνών που αλληλεπιδρούν ομοιοπολικά με την εξωκυτταρική πλευρά της πλασματικής μεμβράνης μέσω μιας γλυκοζυλο-φωσφατιδυλο-ινοσιτόλης (GPI). Στο καρβοξυτελικό άκρο των πρωτεϊνών αυτών εντοπίζεται ένα σήμα αναγνώρισης, το οποίο είναι υπεύθυνο για την αποκοπή του προπεπτιδίου και την αγκυροβόληση. Το τμήμα αυτό παρουσιάζει χαρακτηριστικές περιοχές κατά μήκος της ακολουθίας, δίνοντας μας τη δυνατότητα να κατασκευάσουμε ένα μοντέλο πρόγνωσης αυτής της κατηγορίας πρωτεϊνών. Στην παρούσα εργασία, παρουσιάζεται μια μέθοδος πρόγνωσης των GPI-αγκυροβολημένων πρωτεϊνών με χρήση profile HMMs κατασκευασμένο με τη βοήθεια του πακέτου λογισμικού HMMER 3.0, το οποίο στοχεύει συγκεκριμένα στο καρβοξυτελικό άκρο των πρωτεϊνών αυτών. Το σύνολο εκπαίδευσης αποτελείται από 294 πειραματικά προσδιορισμένες GPI-αγκυροβολημένες πρωτεΐνες, εκ των οποίων 24 είχαν πειραματικά προσδιορισμένη και την ω-θέση (θέση αποκοπής του προπεπτιδίου). Το μοντέλο αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας ένα σύνολο 90 GPI-αγκυροβολημένων πρωτεϊνών που δεν συμπεριλαμβάνονται στο σύνολο εκπαίδευσης. Τα καλύτερα μέχρι στιγμής αποτελέσματα δίνουν τιμές ευαισθησίας και ειδικότητας 92.2% και 98.9% αντίστοιχα, ακρίβεια 0.98 και συντελεστή συσχέτισης (Matthews correlation coefficient) 0.84. Συγκρίνοντας το μοντέλο που κατασκευάσαμε με άλλες υπάρχουσες μεθόδους πρόγνωσης αυτών των πρωτεϊνών, φαίνεται να είναι ακριβέστερο των αλγορίθμων GPI-SOM και Frag-anchor, αλλά να υστερεί έναντι του PRED-GPI. Μελλοντικό στόχο της παρούσας εργασίας αποτελεί περαιτέρω βελτίωση του μοντέλου και η κατασκευή ολοκληρωμένης διαδικτυακής εφαρμογής.

## **PREDICTION OF GPI-ANCHORED PROTEINS USING PROFILE HIDDEN MARKOV MODELS**

*Tomazou M.E.<sup>1</sup>, Litou Z.I.<sup>1</sup>, Bagos P.G.<sup>2</sup>, Hamodrakas S.J.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens,  
Athens 157 01, <sup>2</sup>Department of Computer Science and Biomedical Informatics, University  
of Central Greece, Papasiopoulou 2-4, Lamia 35100*

GPI-anchored proteins are attached by covalent bonds to the extracellular side of the plasma membrane through a glycolipid structure, called glycosyl-phosphatidylinositol-GPI. The signal responsible for the cleavage of the propeptide and GPI anchoring is localized at the carboxyl-terminus of the premature protein. This signal contains conserved features, which allowed us to construct a model capable of predicting GPI-anchored proteins. We present a method for the prediction of GPI-anchored proteins, using a profile HMM that targets specifically the carboxyl terminal sequence applying. The HMMER 3.0 package was used in order to build the profile HMM. The training set consists of 294 experimentally verified GPI-anchored proteins, of which 24 had also an experimentally verified  $\omega$ -site (propeptide cleavage and GPI attachment site). A positive test set of 90 sequences, not included in the training set, was used to evaluate the model. The best HMM building scheme until now, renders sensitivity a specificity values of 92.22% and 98.92% respectively, accuracy of 0.98 and a MCC (Matthews correlation coefficient) of 0.84. Compared against other GPI prediction methods, our method seems to be more accurate than GPI-SOM and Frag-anchor algorithms, but it is still less accurate than PRED-GPI. Our future goal is to improve the performance of prediction and create a web-based application.

**ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΑΣΜΟΣ ΤΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΠΟΥ  
ΠΑΡΑΓΟΥΝ ΠΡΩΤΕΑΣΕΣ ΑΠΟ ΤΟΝ ΠΕΠΤΙΚΟ ΣΩΛΗΝΑ ΤΟΥ  
ΛΑΒΡΑΚΙΟΥ (DICENTRARCHUS LABRAX L.)**

**Τόσκα Ε., Γεωργίου Σ., Μόσιαλος Δ., Μαμούρης Ζ., Μούτου Κ.Α.**

*Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πλούτωνος 26,  
41221 Λάρισα, Ελλάδα.*

Είναι γνωστό ότι η εντερική μικροχλωρίδα συμβάλλει σημαντικά στο φραγμό του βλενογόννου, στη ρύθμιση του εντερικού pH, στην παραγωγή βιταμινών και λιπαρών οξέων, στο μεταβολισμό των χολικών οξέων και στην παραγωγή υδρολυτικών ενζύμων που δρουν συμπληρωματικά με τα πεπτικά ένζυμα του οργανισμού. Οι στόχοι της παρούσας μελέτης ήταν α) η απομόνωση των βακτηριακών στελεχών που παράγουν πρωτεάσες από το έντερο του λαβρακιού, β) ο προσδιορισμός της πρωτεολυτικής τους δραστηριότητας με εξειδικευμένα υποστρώματα και διατροφικές πρωτεΐνες και γ) ο χαρακτηρισμός τους βάσει της ανάλυσης του γονιδίου 16srRNA. Τα βακτήρια απομονώθηκαν από τη στιβάδα του βλενογόννου του πρόσθιου εντέρου λαβρακιών, που προμηθεύτηκαν από μια μονάδα ιχθυοκαλλιέργειας. Διαδοχικές αραιώσεις του εντερικού περιεχομένου επιστρώθηκαν σε τρυβλία Petri, που περιείχαν Tryptone Soy Agar, και επωάστηκαν στους 15°C. Τα βακτηριακά στελέχη που απομονώθηκαν καλλιεργήθηκαν σε ελάχιστο θρεπτικό μέσο, το οποίο περιέχει 0,2% αποβουτυρωμένο γάλα. Απομονώθηκαν επτά στελέχη με σημαντικά διαφορετική πρωτεολυτική δραστηριότητα με υπόστρωμα την αιμοσφαιρίνη, σε εύρος από 1,025 σε 4,539 U/mg πρωτεΐνης. Η ικανότητα των βακτηριακών πρωτεασών να διασπούν διατροφικές πρωτεΐνες προσδιορίστηκε *in vitro* με τη μέθοδο pH-stat (Alarcon et al., *J. Sci. Food Agr.* 82: 697-704, 2002). Προκειμένου να προσομοιαστούν οι διακυμάνσεις που παρατηρούνται στον πεπτικό σωλήνα *in vivo* χρησιμοποιήθηκε μια τροφή που περιείχε ιχθυάλευρο ως αποκλειστική πηγή πρωτεϊνών σε εύρος 0,5-50,0 mg πρωτεΐνης/U πρωτεάσης. Τα βακτηριακά στελέχη σημείωσαν σημαντικά διαφορετικούς ρυθμούς υδρόλυσης διατροφικών πρωτεϊνών και σε μερικές περιπτώσεις ήταν συγκρίσιμοι με εκείνους που εμφάνισαν πεπτικά ενζυμικά εκχυλίσματα, που απομονώθηκαν από το λαβράκι. Η ανάλυση της αλληλουχίας του γονιδίου 16srRNA έδειξε ότι οι παραγωγοί των πρωτεασών ανήκουν στα Gram-θετικά (*Bacillus*) και στα Gram-αρνητικά (*Photobacterium*) βακτήρια.



**ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF PROTEASE-PRODUCING  
BACTERIA FROM THE DIGESTIVE TRACT OF EUROPEAN SEA BASS  
(DICENTRARCHUS LABRAX L.)**

*Toska E., Georgiou S., Mossialos D., Mamuris Z., Moutou K.A.*

*Department of Biochemistry & Biotechnology, University of Thessaly, 26 Ploutonos street,  
41221 Larissa, Greece*

Intestinal microflora is known to contribute significantly in the development of mucosal barrier, the regulation of intestinal pH, the production of vitamins and short-chain fatty acids, the metabolism of the bile acids and the production of extracellular hydrolytic enzymes that act complementary to organism's digestive enzymes enhancing nutrient utilization. The aims of the present study were a) the isolation of protease-producing bacterial strains from the intestine of European sea bass, b) the determination of their proteolytic capacity against specific substrates and dietary proteins and c) their characterization based on 16S rRNA gene analysis. Bacteria were isolated from the mucosal layer of the anterior intestine of sea bass obtained from a commercial farm. Serial dilutions of intestinal content were spread on Petri dishes containing Tryptone Soy Agar and incubated at 15 °C. Isolated bacterial strains were grown on minimal culture medium containing 0.2% skim milk and culture supernatant was assayed for proteolytic activity. Seven strains were isolated that exhibited significantly different proteolytic activity against haemoglobin, varying from 1.025 to 4.539 U/mg protein. The capacity of bacterial protease to act on dietary proteins was assessed *in vitro* according to Alarcon et al. (*J. Sci. Food Agr.* 82: 697-704, 2002). An experimental diet containing only fish meal as protein source was used and serial feed /enzyme quantity ratios, ranging from 0.5 to 50.0 mg protein/U protease activity, were tested in order to simulate variations occurring in the digestive tract *in vivo*. Bacterial strains exhibited significantly different dietary protein hydrolysis rates and in some cases they were comparable to those exhibited by digestive enzyme extracts isolated from sea bass. Sequence analysis of bacterial 16S rRNA gene revealed that protease producers belong to both Gram-positive (*Bacillus*) and Gram-negative (*Photobacterium*) bacteria.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΑΠΟΡΡΥΠΑΝΤΙΚΟΥ ΔΙΑΤΡΗΤΙΚΩΝ ΠΟΛΤΩΝ ΣΤΟ  
ΧΡΥΣΟΨΑΡΟ (*CARASSIUS AURATUS*) ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΕΣ**

*Τουραπή Χρ.<sup>1</sup>, Χριστοδούλου Μ.<sup>1</sup>, Ηλιάδου Χρ.<sup>1</sup>, Μεγαλοφώνου Π.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Διατμηματικό Μεταπτυχιακό Ωκεανογραφίας, Εθνικό Καποδιστριακό  
Πανεπιστήμιο Αθηνών, *dmoceanography@gmail.com*

<sup>2</sup>Τομέας Ζωολογίας και Θαλάσσιας Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό  
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, *pmegalo@biol.uoa.gr*

Πραγματοποιήθηκαν στατικά πειράματα με σκοπό τη μελέτη οξείας τοξικότητας απορρυπαντικού για διατηρητικούς σκοπούς σε άτομα *Carassius auratus* και τον προσδιορισμό της LC<sub>50</sub> σε δύο θερμοκρασίες. Το απορρυπαντικό περιέχει ένυδρους παράγοντες που μειώνουν την επιφανειακή τάση ενός υγρού και είναι ύποπτοι για τοξικά φαινόμενα, που απασχολούν μια μεγάλη ομάδα ερευνητών. Εξετάστηκαν τα επίπεδα τοξικότητας σε έντεκα διαφορετικές συγκεντρώσεις του απορρυπαντικού (0,5 - 120ppm) για χρονικό διάστημα 48 ωρών, σε δυο θερμοκρασίες, 21°C και 27°C, υπό ελεγχόμενες συνθήκες, για τον προσδιορισμό της LC<sub>50</sub>. Στη θερμοκρασία των 21°C, η θνησιμότητα ήταν μεγαλύτερη και η LC<sub>50</sub> υπολογίστηκε στα 62,36ppm, ενώ στους 27°C η LC<sub>50</sub> υπολογίστηκε στα 75ppm. Συγκεντρώσεις της τάξεως των 0,5 - 2 ppm δεν προκάλεσαν θνησιμότητα στα πειραματόζωα και στις δυο θερμοκρασίες, ενώ συγκεντρώσεις μεγαλύτερες των 20ppm ήταν τοξικές. Σε συγκεντρώσεις άνω των 20ppm καταγράφηκαν αλλαγές στη συμπεριφορά των πειραματόζωων, όπως μειωμένη πλευστότητα και αντανακλαστικά, δυσκολία στην αναπνοή και σπασμωδικές κινήσεις, οι οποίες ήταν μεγαλύτερης έντασης και εμφανίστηκαν γρηγορότερα με την αύξηση της συγκέντρωσης. Επιπλέον, παρατηρήθηκε αφρισμός του νερού, θολερότητα και παρουσία βλεννών. Η διαφοροποίηση της LC<sub>50</sub> στις δυο θερμοκρασίες πιθανά να οφείλεται στην εξάτμιση ορισμένων πτητικών ουσιών του απορρυπαντικού, σε συνδυασμό με τη καλύτερη προσσαρμογή του είδους σε υψηλότερη θερμοκρασία.

**Λέξεις κλειδιά:** LC<sub>50</sub>, Στατικά πειράματα, Θνησιμότητα, Θερμοκρασία, Τοξικότητα

**IMPACT OF DRILLING PULP DETERGENTS ON GOLDFISH (*CARASSIUS  
AURATUS*) IN DIFFERENT TEMPERATURES**

*Tourapi Chr.<sup>1</sup>, Christodoulou M.<sup>1</sup>, Iliadou Chr.<sup>1</sup>, Megalofonou P.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*Interdepartmental MSc of Oceanography, National and Kapodistrian University of  
Athens, Greece, dmoceanography@gmail.com*

<sup>2</sup>*Department of Zoology and Marine Biology, Faculty of Biology, National and  
Kapodistrian University of Athens, Greece, pmegalo@biol.uoa.gr*

Static acute toxicity experiments with a detergent used for water drilling purposes were demonstrated on individuals of *Carassius auratus* and the determination of LC<sub>50</sub> in two temperatures. The detergent contains wetting agents that lower the surface tension of a liquid and are often pointed as potential toxicants as referred in numerous researches. Testing of eleven concentrations of the detergent (0,5 - 120ppm) for 48 hours, under controlled conditions, in two temperatures, 21°C and 27°C, showed the level of toxicity in order to determine the LC<sub>50</sub>. Differences in toxicity levels were observed, where at 21°C mortality appeared to be greater and the calculated LC<sub>50</sub> was 62,36ppm, whereas the LC<sub>50</sub> calculated at 27°C was 75ppm. Concentrations that vary from 0,5 – 2ppm, did not cause any toxic effects, while concentrations over 20ppm resulted to be toxic to the testing subjects. Apart from the mortality, concentrations over 20ppm caused behavioral changes, such as decreased buoyancy and reflexes, difficulties with breathing and spasms, and were rapidly and greatly induced as the concentration of the detergent elevated. Additionally, foam, blurriness and mucus were developed in the water. The differentiation of the LC<sub>50</sub> values in the two temperatures is probably owed to the volatilization of certain substances contained in the detergent due to the higher temperature, in combination with the better adaptation of the species to higher values.

**Keywords:** LC<sub>50</sub>, Static experiments, Mortality, Toxicity, Temperature

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΥΠΟΚΥΤΤΑΡΙΑΣ ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑΣ ΤΗΣ ΝΕΥΡΟΕΙΔΙΚΗΣ  
ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ BM88/ CEND1**

*Τράστα Α., Γαϊτάνου Μ. και Ρ. Μάτσα*

*Εργαστήριο Κυτταρικής και Μοριακής Νευροβιολογίας, Τμήμα Βιοχημείας,  
Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Βασ. Σοφίας 127, Αθήνα 11521*

*E-mail: [trasta@pasteur.gr](mailto:trasta@pasteur.gr), [mgaitanou@pasteur.gr](mailto:mgaitanou@pasteur.gr), [rmatsa@pasteur.gr](mailto:rmatsa@pasteur.gr)*

Η BM88/CEND1 είναι μια νευροειδική πρωτεΐνη με διπλό ρόλο στη νευρογένεση. Όπως καταδεικνύει και η νεότερη ονομασία της, CEND1 (cell cycle exit and neuronal differentiation 1, NCBI), η πρωτεΐνη αυτή αφενός επάγει την έξοδο των πολλαπλασιαζόμενων νευροβλαστικών κυττάρων από τον κυτταρικό κύκλο, αφετέρου προάγει τη διαφοροποίησή τους προς νευρωνικό φαινότυπο. Μελέτες ηλεκτρονικής μικροσκοπίας έδειξαν ότι η BM88/CEND1 βρίσκεται αγκυροβολημένη στη μεμβράνη ενδοκυτταρικών οργανιδίων, όπως είναι το ενδοπλασματικό δίκτυο, τα συναπτικά κυστίδια και η εξωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων. Η πρωτεΐνη BM88/CEND1 αποτελείται από 149 αμινοξέα (στον ποντικό και στον άνθρωπο) και συγκροτεί ομοδιμερή με δισουλφιδικούς δεσμούς. Στόχος της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της ενδοκυττάριας κυκλοφορίας της πρωτεΐνης BM88/CEND1 και η ανεύρεση στην αμινοξική της αλληλουχία ειδικών μοτίβων στόχευσης σε συγκεκριμένα υποκυττάρια οργανίδια. Για το σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκαν δύο είδη μεταλλάξεων στην αμινοξική της αλληλουχία, που σχετίζονται αντίστοιχα με την στόχευση της πρωτεΐνης στα μιτοχόνδρια και τη διατήρησή της στο ενδοπλασματικό δίκτυο. Τόσο η φυσικού τύπου BM88/CEND1, όσο και τα μεταλλάγματα συνδέθηκαν με την πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη (EGFP) και εκφράστηκαν στην κυτταρική σειρά νευροβλαστώματος ποντικού N2A. Μελέτες της υποκυττάριας κατανομής των δύο μεταλλαγμένων μορφών της BM88/CEND1 με τη χρήση συνεστιακής μικροσκοπίας έδειξαν εντυπωσιακή αλλαγή στην υποκυττάρια στόχευση.

## **STUDY OF THE NEURONAL PROTEIN BM88/CEND1 SUBCELLULAR TRAFFICKING**

*Trasta A., Gaitanou M., and R. Matsa*

*Laboratory of Cellular and Molecular Neurobiology, Department of Biochemistry, Hellenic  
Pasteur Institute, 127 Vas. Sofias Avenue, Athens 11521.*

*E-mail: [trasta@pasteur.gr](mailto:trasta@pasteur.gr), [mgaitanou@pasteur.gr](mailto:mgaitanou@pasteur.gr), [rmatsa@pasteur.gr](mailto:rmatsa@pasteur.gr)*

BM88 [cell cycle exit and neuronal differentiation (CEND1); National Center for Biotechnology Information nomenclature at [www.ncbi.nih.gov](http://www.ncbi.nih.gov)] is a dual function neuronal protein. BM88/CEND1 induces cell cycle exit and neuronal differentiation. It is an integral membrane protein, composed of two identical polypeptide chains, of 22-23 kDa, depending on the species tested, which are linked together by disulfide bridges. Electron-microscopy observations in the adult rat brain have shown that BM88/CEND1 is associated mainly with the limiting membrane of a number of intracellular organelles, such as the endoplasmic reticulum, small electron-lucent vesicles and the mitochondrial outer membrane, but is also present at the plasma membrane, especially at the level of synaptic densities. The current study aims to elucidate the subcellular trafficking of BM88/CEND1 protein, as well as to identify targeting motifs, which are specific for subcellular organelles. Two mutations were generated, in the cDNA region that encodes amino acid sequences, hypothetically involved in mitochondrial targeting and endoplasmic reticulum retention. The wild type BM88/CEND1 and two mutants were linked in frame with green fluorescent protein (EGFP) and were subsequently expressed in the mouse neuroblastoma cell line, N2A. Confocal studies of the intracellular distribution of the two mutants demonstrated significant change of their subcellular localization, as compared to the wild type protein.

**ΠΡΩΤΕΩΜΙΚΗ: ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ****Τσάγκαρης Γ.Θ.\***

*Ερευνητική Μονάδα Πρωτεωμικής, Κέντρο βασικής Έρευνας ΙΙ, Ίδρυμα  
Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών, Αθήνα.*

Μετά την ολοκλήρωση της χαρτογράφησης του ανθρώπινου γονιδιώματος, έγινε κατανοητό ότι τα δισεκατομμύρια των βάσεων του δεν δίνουν επαρκείς πληροφορίες για την λειτουργία των γονιδίων, για τον μηχανισμό την κυτταρικής διαίρεσης και ανάπτυξης, για το τι συμβαίνει στις παθολογικές καταστάσεις ή ακόμη και πως δρα μία χημική ή φαρμακευτική ουσία. Εν αντιθέσει με το γένωμα, που παραμένει ιδιαίτερα σταθερό και μεταβάλλεται ελάχιστα, το πρωτέωμα εμφανίζει μία δυναμική και είναι συνεχώς μεταβαλλόμενο. Το πρωτέωμα (proteome), παράγεται από τον συνδυασμό των λέξεων πρωτεΐνες (proteins) και γένωμα (genome) και ορίζεται ως την ομάδα των πρωτεϊνών που παράγονται ή μεταβάλλονται τόσο στο χώρο όσο και στο χρόνο σε επίπεδο οργανισμού, ιστού ή κυττάρου, σε μία φυσιολογική ή παθολογική κατάσταση ή από την επίδραση εξωγενών παραγόντων. Η πρωτεωμική περιλαμβάνει δύο κυρίως βήματα: 1) Τον διαχωρισμό των πρωτεϊνών και 2) Την ταυτοποίησή τους. Στο πρώτο μέρος της παρουσίασης θα γίνει εκτεταμένη αναφορά στις τεχνικές διαχωρισμού των πρωτεϊνών από διάφορα βιολογικά δείγματα καθώς και στην ταυτοποίησή τους με φασματοσκοπία μάζας. Στο δεύτερο μέρος της παρουσίασης θα γίνει αναφορά σε εφαρμογές της πρωτεωμικής, στην ανάλυση πρωτεωμάτων βιολογικών υλικών, στην διαφορική πρωτεωμική και στην ανίχνευση βιοδεικτών.

*(\*) προσκεκλημένος ομιλητής*

## **PROTEOMICS: CURRENT TECHNOLOGIES AND APPLICATIONS**

*Tsangaris G.Th.\**

*Proteomics Research Unit, Center of Basic Research II, Biomedical Research Foundation of  
the Academy of Athens, Athens, Greece.*

Nowadays, after the identification of human genome it is evident that the billions of nucleotide bases do not offer sufficient information about the gene function, the cellular and molecular mechanisms, the disturbances in pathological situations or even more about the action of chemical and pharmaceutical substrates. Thus, in contrast to the genome which remains generally stable, the proteome is constantly changing. The term proteome is produced by combination of the words proteins and genome and is referred to the group of proteins produced or generally changed in an organism, a tissue or a single cell, in normal or pathological states or in response to extra cellular factors. Proteomic analysis consists of: 1) protein isolation and 2) protein identification. The first part of the current presentation includes a detailed introduction of protein separation from biological samples as well as their identification by mass spectrometry. The second part is detailed a presentation of applications of proteomics on the analysis of different biological samples and differential proteomics approaches for the identification of biomarkers.

*(\*) invited preaker*

**ΚΥΤΤΑΡΟΦΑΓΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΟΠΥΡΗΝΩΝ  
ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ, ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΣΠΕΙΡΑΜΑΤΟΝΕΦΡΙΤΙΔΑ.  
Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΟΥ ΣΙΔΗΡΟΥ.**

Τσάκας Σ.<sup>1</sup>, Αρμπή Μ.<sup>1</sup>, Γούμενος Δ.Σ.<sup>2</sup>, Μαρμάρας Β.Ι.<sup>1</sup>, Βλαχογιάννης Ι.Γ.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, <sup>2</sup>Νεφρολογικό  
Κέντρο, Τομέας Παθολογίας, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Πατρών

**Εισαγωγή.** Οι λοιμώξεις είναι συνηθείς επιπλοκές και συχνά αιτίες θανάτου σε ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο. Κύριο ρόλο στην άμυνα του οργανισμού παίζουν τα πολυμορφοπύρηνα κύτταρα του αίματος. Τα κύτταρα αυτά μεταναστεύουν στο σημείο της λοίμωξης και εξουδετερώνουν τους μικροοργανισμούς με κυτταροφαγία, με τη συμμετοχή διαφόρων μορφών δραστικού οξυγόνου (ΜΔΟ), που παράγονται και δρουν ως ρυθμιστικά μόρια. **Ασθενείς και μέθοδοι.** Στην εργασία αυτή μελετήθηκε η κυτταροφαγία *E. coli*-FITC, καθώς και ο ρόλος του ενδοκυττάριου σιδήρου και του παραγόμενου  $H_2O_2$ , με κυτταρομετρία ροής, σε πολυμορφοπύρηνα από υγιή άτομα, ασθενείς με σπειραματονεφρίτιδα και μεταμοσχευμένους ασθενείς, με φυσιολογική νεφρική λειτουργία. **Αποτελέσματα.** Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η κυτταροφαγία δεν φαίνεται να διαφέρει στους μεταμοσχευμένους ασθενείς σε σύγκριση με τους υγιείς. Στους ασθενείς όμως με σπειραματονεφρίτιδα, η κυτταροφαγία είναι μειωμένη κατά 30%. Παράλληλα η παραγωγή του  $H_2O_2$ , αυξάνεται κατά μέσο όρο 10 φορές με την προσθήκη *E. coli* στο μέσο επώασης, στους υγιείς και στους μεταμοσχευμένους ασθενείς, ενώ στους ασθενείς με σπειραματονεφρίτιδα, η αντίστοιχη αύξηση είναι μόνο 7 φορές. Ο ενδοκυττάριος σίδηρος προσδιορίστηκε με κυτταρομετρία ροής και βρέθηκε ότι είναι αυξημένος σε 4 από τους 7 ασθενείς με σπειραματονεφρίτιδα. Η μείωση του ενδοκυττάριου σιδήρου στους ασθενείς αυτούς, με προσθήκη σιδηροδεσμευτικής ένωσης στο μέσο επώασης, αυξάνει την κυτταροφαγική ικανότητα των πολυμορφοπύρηνων σε φυσιολογικά επίπεδα. **Συμπεράσματα.** Η κυτταροφαγική ικανότητα των πολυμορφοπύρηνων και η ποσοστιαία αύξηση της παραγωγής  $H_2O_2$  σε ασθενείς με μεταμόσχευση νεφρού, παρά το οξειδωτικό stress, είναι ίδια με αυτή των υγιών ατόμων. Είναι όμως μειωμένη σημαντικά σε ασθενείς με σπειραματονεφρίτιδα η οποία είναι μια χρόνια φλεγμονή. Χαρακτηριστικό της κατάστασης αυτής είναι η παρουσία αυξημένου ενδοκυττάριου σιδήρου στα πολυμορφοπύρηνα, μόνο στους ασθενείς αυτούς. Η βελτίωση της κυτταροφαγικής τους ικανότητας μετά από την δέσμευση-εξουδετέρωση του, υποδηλώνει το δυσμενή του ρόλο στην μειωμένη κυτταροφαγία, πιθανόν λόγω παραγωγής ΜΔΟ από τον ίδιο το σίδηρο και οι οποίες επιβαρύνουν το ήδη υπάρχον οξειδωτικού stress.



**PHAGOCYtic CAPABILITY OF THE POLYMORPHONUCLEAR BLOOD  
CELLS, IN PATIENTS WITH GLOMERULONEPHRITIS. THE ROLE OF THE  
LABILE IRON POOL**

*Tsakas S.<sup>1</sup>, Armpi M.<sup>1</sup>, Goumenos D.S.<sup>2</sup>, Marmaras V.J.<sup>1</sup>, Vlachoianis J.G.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Laboratory of Biology, Department of Biology, University of Patras

<sup>2</sup>Internal Medicine-Nephrology, University Hospital of Patras

**Introduction:** Infections are common complications and often cause of death in patients with chronic renal disease. Polymorphonuclear (PMNs) blood cells play a central role in defense responses. These cells migrate to the point of infection and neutralize microorganisms by phagocytosis, which is regulated by the production of reactive oxygen species (ROS), acting as signaling molecules. **Patients and Methods:** In this work the phagocytosis of *E. coli*-FITC and by that produced H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, as well as the role of the labile iron pool (LIP), were investigated, with flow cytometry, in polymorphonuclear blood cells from healthy individual, patients with glomerulonephritis and patients with renal transplantation and normal renal function. **Results:** It was shown that phagocytosis was the same in healthy subjects and transplanted patients. But the patients with glomerulonephritis presented decreased phagocytic capability, about 30%. In parallel experiments, the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production increased about 10fold on the addition of *E. coli* in the incubation medium, in both healthy individuals and transplanted patients, while the respective increase, in patients with glomerulonephritis was only 7fold. The labile iron pool determined by flow cytometry, was found to be increased in 4 out of 7 patients with glomerulonephritis. Lowering of the intracellular iron, due to the addition of a specific iron chelator, in the incubation medium, increases the phagocytic capability of polymorphonuclear blood cells within normal values, in these patients. **Conclusion:** The phagocytic capability of the polymorphonuclear blood cells and the increased H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production in patients with renal transplantation, are similar to those of healthy individuals, in spite the oxidative stress in the former group. But the phagocytic capability is reduced in patients with glomerulonephritis which is a chronic inflammation condition. It must be noted that chronic inflammation is characterized by increased intracellular iron (LIP) in the polymorphonuclear blood cells. The improvement of their phagocytic capability after its removal by specific chelating molecules, suggests its adverse role in phagocytosis, probably due to ROS production by the iron itself which charge the already existing oxidative stress.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΜΕ ΠΗΓΗ ΕΚΠΟΜΠΗΣ ΒΑΣΗ  
ΑΣΥΡΜΑΤΟΥ ΤΗΛΕΦΩΝΟΥ ΣΤΗ ΜΝΗΜΗ ΘΗΛΥΚΩΝ ΜΥΩΝ *Mus*  
*Musculus* ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ Balb/c

Τσιάκα Μ., Γιολάρη Ε., Μεττής Α., Φραγκοπούλου Α.Φ.,  
Κουσουλάκος Σ., Μαργαρίτης Α.Χ.

Εργ. Βιοφυσικής Ακτινοβολιών, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής,  
Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη 15784, Αθήνα.  
E-mail: [madofrag@biol.uoa.gr](mailto:madofrag@biol.uoa.gr), [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)

Σκοπός της παρούσας πειραματικής εργασίας είναι η μελέτη της επίδρασης της μη ιονίζουσας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, με πηγή εκπομπής τη βάση ασύρματου τηλεφώνου, στη μνήμη μυών *Mus musculus* στελέχους Balb/c. Διεξήχθησαν δύο πειράματα αναγνώρισης αντικειμένου (Object Recognition Task-ORT) και ένα πείραμα αναγνώρισης χώρου (Object Location Task-OLT), σύμφωνα με καθορισμένα πρωτό-κόλλα (Pitsikas N. et al., Behav Brain Res. 183 (2):141-6, 2007), σε ακτινοβολημένα θηλυκά ζώα και σε ζώα-μάρτυρες, ίδιας ηλικίας και συνθηκών διαβίωσης/διατροφής. Στο 1<sup>ο</sup> πείραμα ORT, χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες 5 θηλυκοί μύες, ηλικίας 8 μηνών, καθώς και 4 θηλυκοί μύες ίδιας ηλικίας, που ακτινοβολούνταν με βάση ασύρματου τηλεφώνου 8 ώρες ημερησίως κατά την κύηση (21 ημέρες), αλλά και μετά τη γέννησή τους, επί 8 μήνες, μέχρι τη διεξαγωγή του ORT. Στο 2<sup>ο</sup> πείραμα ORT χρησιμοποιήθηκαν επιπλέον 5 θηλυκά ζώα, ηλικίας 8 μηνών, ακτινοβολημένα κατά τον ίδιο τρόπο, αλλά και κατά τη διεξαγωγή του πειράματος. Στο πείραμα OLT χρησιμοποιήθηκαν ως ζώα-μάρτυρες δύο θηλυκοί μύες ηλικίας 11 μηνών και τρεις θηλυκοί μύες ίδιας ηλικίας, που ακτινοβολούνταν 8 ώρες ημερησίως για 10 μήνες. Ως δείκτες επίδρασης της ακτινοβολίας στη μνήμη των ζώων χρησιμοποιήθηκαν ο δείκτης αναγνώρισης  $RI = (N-F/N+F)$  και ο δείκτης προτίμησης  $PI = (N/F+N)$ , που δείχνουν το χρόνο εξερεύνησης του νέου αντικειμένου (N) σε σχέση με το συνολικό χρόνο εξερεύνησης νέου και οικείου (N+F). Συμπερασματικά τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ακτινοβολία δε φαίνεται να επηρεάζει την προτίμηση, γεγονός που εξηγείται από το φύλο των πειραματόζωων. Σύμφωνα με μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί (Luine et al., Horm. Behav. 34, 149-162, 1998; Morgan and Pfaff, Horm. Behav 40, 472-482, 2001) η λειτουργία της μνήμης επηρεάζεται θετικά από τις θηλυκές ορμόνες (οιστρογόνα).

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς την Ερευνητική Ομάδα του Καθηγητή Α.Χ. Μαργαρίτη.

**EFFECT OF RADIATION EMITTED FROM A BASE OF WIRELESS PHONE  
TO THE MEMORY OF FEMALE MICE *Mus musculus* STRAIN Balb/c**

*Tsiaka M., Giolari E., Mettis A., Fragopoulou A.F.,  
Koussoulakos S., L.H. Margaritis*

*Radiation Biophysics Lab, Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology,  
University of Athens, Panepistimiopolis 157 84, Athens.  
E-mail: [madofrag@biol.uoa.gr](mailto:madofrag@biol.uoa.gr) , [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)*

The aim of the present research is to study the effect of non-ionizing electromagnetic radiation emitted by a wireless phone base, on the memory of mice *Mus musculus* strain Balb/c. Two object recognition tasks (ORT) and an object location task (OLT) were carried out according to specific protocols (Pitsikas N. et al., Behav Brain Res. 183 (2):141-6, 2007), in populations of control and irradiated female mice of the same age and environmental-nutrition conditions. In the 1<sup>st</sup> ORT experiment, we tested 5 control females, 8 months of age, as well as 4 females that were irradiated with a wireless phone base for 8 hours daily during gestation (21 days), and after they were born for 8 hours daily, for 8 months. In the 2<sup>nd</sup> ORT experiment we tested 5 females, 8 months of age, which were irradiated in the same way, but the radiation was also continued during the conduct of the experiment. In the OLT experiment, we tested 2 control female mice, 11 months of age and 3 more female mice, 11 months of age, that were irradiated 8 hours daily for 10 months. The results were based on the recognition index RI (NF/N+F) and preference index PI (N/F+N), which express the time spent exploring the new object in relation to the total time of exploration to both objects. In conclusion radiation does not seem to affect preference, possibly due to estrogens' release, affecting memory function.

*This study was financed by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to the Research Group of Professor L.H. Margaritis*

ΤΑ ΧΛΩΡΟΦΥΚΗ *CAULERPA* ΣΤΙΣ ΕΛΛΗΝΙΚΕΣ ΘΑΛΑΣΣΕΣΤσιάμης Κ.<sup>1,2</sup>, Μοντεσάντου Β.<sup>1</sup> και Π. Παναγιωτίδης<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Τομέας Οικολογίας & Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,  
Πανεπιστημιόπολη 15784, Αθήνα. <sup>2</sup>Ελληνικό Κέντρο Θαλασσιών Ερευνών,  
Ινστιτούτο Ωκεανογραφίας, Ανάβυσσος 19013, Αττική.  
E-mail: [kostas.tsiamis@gmail.com](mailto:kostas.tsiamis@gmail.com)

Τα χλωροφύκη *Caulerpa* της Μεσογείου πρόκειται για φύκη με ιδιαίτερο ενδιαφέρον, καθώς είναι στην πλειοψηφία τους ξενικά είδη. Αυτά απασχολούν έντονα τα τελευταία χρόνια την επιστημονική κοινότητα, ενώ κάποια taxa, όπως η *Caulerpa taxifolia*, έχουν γνωρίσει εκτεταμένη δημοσιότητα λόγω των σημαντικών επιπτώσεών τους στις αυτόχθονες βιοκοινωνίες. Στην Ελλάδα, η παρουσία των ειδών *Caulerpa* είναι συχνά συγκεχυμένη, και για το λόγο αυτό επιχειρείται μία ανασκόπηση της παρουσίας και εξάπλωσης των ειδών *Caulerpa* που έχουν βρεθεί έως σήμερα στις ελληνικές θάλασσες. Συνολικά, έχει επιβεβαιωθεί η παρουσία τριών taxa του γένους *Caulerpa* στην Ελλάδα:

Α) το *Caulerpa prolifera* (Forsskål) J.V. Lamouroux είναι αυτόχθονο είδος της Μεσογείου και είναι αρκετά κοινό στην Ελλάδα. Συχνή είναι η συνύπαρξή του με το θαλάσσιο αγγειόσπερμο *Posidonia oceanica*.

Β) το *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh var. *cylindracea* (Sonder) Verlaque, Huisman et Boudouresque πρόκειται για θερμο-εύκρατο ξενικό είδος με προέλευση από τη ΝΔ Αυστραλία. Στην Ελλάδα βρέθηκε για πρώτη φορά το 1993, και έκτοτε έχει αναφερθεί στην πλειοψηφία των ελληνικών ακτών, επιδεικνύοντας ενίοτε έντονη συμπεριφορά εισβολέα. Αν και η επίδρασή του στις αυτόχθονες βιοκοινωνίες δεν είναι ακόμα ξεκαθαρισμένη, θεωρείται ως ένα από τα πιο «επικίνδυνα» ξενικά θαλάσσια είδη για τις ελληνικές θάλασσες.

Γ) το *Caulerpa racemosa* var. *lamourouxii* f. *requienii* (Montagne) Weber van Bosse είναι ξενικό είδος με πιθανή προέλευση από τις τροπικές θάλασσες. Έχει αναφερθεί μονάχα μία φορά στην Ελλάδα, από το Καστελόριζο το 1956.

Τα είδη *C. taxifolia* και *C. scalpelliformis* πρόκειται για ξενικά είδη τα οποία έχουν αναφερθεί από τις ακτές της Τουρκίας. Η εύρεσή τους στην Ελλάδα, ειδικά στο ΝΑ Αιγαίο, είναι αναμενόμενη.

## CAULERPA SPECIES IN GREECE

Tsiamis K.<sup>1,2</sup>, Montesantou B.<sup>1</sup>, and P. Panayotidis<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Ecology & Systematics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis 15784, Athens. <sup>2</sup>Hellenic Center for Marine Research, Institute of Oceanography, Anavissos 19013, Attica. E-mail: [kostas.tsiamis@gmail.com](mailto:kostas.tsiamis@gmail.com)

Species of the genus *Caulerpa* are green algae with great interest, since most of them are alien species in the Mediterranean Sea. Some species, such as *Caulerpa taxifolia*, are widely studied by the scientific community and have known great publicity due to their consequences to the native vegetation. When it comes to Greece, their occurrence is usually obscure; thus, a review study based on the presence and expansion of *Caulerpa* species in Greece is given. In total, three taxa of the genus *Caulerpa* have been confirmed until today from Greece:

A) *Caulerpa prolifera* (Forsskål) J.V. Lamouroux is a native species, rather common in Greek coasts, usually found along with the seagrass *Posidonia oceanica*.

B) *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh var. *cylindracea* (Sonder) Verlaque, Huisman et Boudouresque is a warm-temperate alien species, originating from SW Australia. It was first found in Greece in 1993, and since then, it has been spread to the majority of the Greek coasts, frequently exhibiting intense invasive behavior. Although its direct impact to the native communities is not clear yet, it is considered as one of the most threatening alien marine species in Greece.

Γ) *Caulerpa racemosa* var. *lamourouxii* f. *requienii* (Montagne) Weber van Bosse is an alien species with tropical origin. It has been reported only once from the Greek coasts: in Castelorzio Island in 1953.

*C. taxifolia* και *C. scalpelliformis* are also alien species, known from the coasts of S. Turkey; their spread to the Greek coasts, especially to the SE Aegean Sea, is prospective during the next few years.

**ΘΑ ΜΠΟΡΟΥΣΕ Η ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΥΠΕΡΕΡΥΘΡΟΥ ΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΕΙ  
ΕΡΓΑΛΕΙΟ ΓΙΑ ΤΗΝ ΤΑΞΙΝΟΜΙΚΗ ΤΩΝ ΕΜΠΟΡΙΚΩΝ ΣΠΟΓΓΩΝ;****Τσιάνος Β.<sup>2</sup>, Οικονομίδου Β.Α.<sup>1</sup>, Καστρίτση-Καθαρίου Ι.<sup>2</sup>**<sup>1</sup>Τομέας Κυτταρικής Βιολογίας & Βιοφυσικής, <sup>2</sup>Τομέας Ζωολογίας & Θαλάσσιας Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα  
157 01

Η Τάξη των *Dictyoceratida* Minchim 1900 ανήκει στην Ομοταξία των Δημοσπόγγων, οι οποίοι αποτελούν αληθινό πρόβλημα για τους ταξινομιστές. Στην ομοταξία αυτή, τα σκελετικά στοιχεία απουσιάζουν εντελώς και έχουν υποκατασταθεί από ίνες σπογγίνης γεγονός που οδηγεί στην ελαστικότητα και την αντοχή που παρουσιάζουν. Σ' αυτήν την Τάξη ανήκει η οικογένεια των *Spongiidae* Gray 1867, ο σκελετός της οποίας αποτελείται αποκλειστικά από ίνες κολλαγόνου (σπογγίνη Β, Gross et al., 1956; Garrone et al. 1973). Ιδιαίτερα, όσον αφορά τα είδη του γένους *Spongia* Linne 1759, πρόκειται για τους ευρύτερα γνωστούς σπόγγους «μπάνιου», ακόμη και από την αρχαιότητα, οι οποίοι «κρατούν μυστικά» όσον αφορά τη συστηματική τους κατάταξη μέχρι σήμερα. Η συνολική ποιότητα ενός εμπορικού σπόγγου καθορίζεται από διάφορους παράγοντες, όπως η πρόσφυση ξένων σωματιδίων πάνω στις δευτερογενείς ίνες, η αντοχή σε εφελκυσμό, η ελαστικότητα, η απορροφητικότητα, η κατακράτηση νερού, κ.α. (Castritsi-Catharios et al., 2007; Louden et al., 2007). Το λιγότερο μελετημένο είδος που ανήκει σ' αυτό το γένος είναι η *Spongia zimocca* (Schmidt 1862). Η *S. zimocca* χαρακτηρίζεται από έντονες μακρο-μορφολογικές διαφοροποιήσεις που εξαρτώνται κυρίως από την γεωγραφική περιοχή αλιείας και από το βάθος στο οποίο συλλέγεται. Οι διεθνείς βιβλιογραφικές αναφορές είναι ελάχιστες και η ταυτοποίηση της *S. zimocca* είναι εξαιρετικά δυσχερής. Στη μελέτη αυτή αναρωτηθήκαμε εάν και κατά πόσο θα πρέπει να μιλάμε για μία ενδοειδική ποικιλότητα ή για νέα υποείδη. Με στόχο την απάντηση στο ερώτημα αυτό, χρησιμοποιήσαμε τη κλασική μέθοδο της φασματοσκοπίας υπερερυθρού σαν εργαλείο διερεύνησης. Εξετάσθηκαν ίνες κολλαγόνου της *S. zimocca* σε δείγματα αλιευμένα στο Αιγαίο (σε διάφορα βάθη) και στο Κρητικό Πέλαγος καθώς επίσης και στην Αίγυπτο και τη Λιβύη. Συγκρίνοντας τα αντίστοιχα φάσματα καταλήξαμε ότι όλα τα δείγματα ανήκουν στο ίδιο είδος. Αυτή η προκαταρκτική ερευνητική εργασία μας επιτρέπει να συμπεράνουμε ότι η φασματοσκοπία υπερερυθρού θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σαν συμπληρωματικό εργαλείο για την ταυτοποίηση των εμπορικών σπόγγων. Δεν υπάρχει αμφιβολία ότι η μέθοδος πρέπει να εφαρμοσθεί σε μία σειρά πειραμάτων με διαφορετικά είδη πριν εισηγηθούμε ότι μπορεί να αποτελέσει μία ταξινομική μέθοδο ρουτίνας.

## CAN INFRARED SPECTROSCOPY BECOME A TOOL FOR THE TAXONOMY OF COMMERCIAL SPECIES OF SPONGES?

*Tsianos B.*<sup>2</sup>, *Iconomidou V.A.*<sup>1</sup>, *Castritsi – Catharios J.*<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Cell Biology & Biophysics, <sup>2</sup>Department of Zoology & Marine Biology,  
Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 157 01

The order of *Dictyoceratida* Minchim 1900 belongs to the wider one of *Demospongiae*, which is a real problem for the taxonomists. In this case, the skeletal elements are completely missing and are substituted by spongin fibers, a fact resulting in their fine endurance and flexibility. In this order belongs the family of *Spongiidae* Gray 1867, the skeleton of which consists exclusively of collagen fibers (spongin B, Gross et al., 1956; Garrone et al., 1973). Concerning all species of the genus *Spongia* Linne 1759, which are widely known as bath sponges from the ancient times, they “hold secrets” to date regarding their taxonomy. The overall quality of a bath sponge is determined by several factors, i.e. tensile strength, elasticity, absorbency, water retention, quantity of the foreign structures observed in the spongin fibers, etc (Castritsi-Catharios et al., 2007; Louden et al., 2007). The less studied species belonging to this genus is *Spongia zimocca* (Schmidt 1862). *S. zimocca* is characterized by an intense macro-morphological variation depending mainly on the geographical harvesting area and on the depth of harvesting. The international bibliographic references are minimal and the identification of *S. zimocca* becomes difficult. In the present study we wondered whether we should discuss for an interspecific diversity or for a new subspecies. Aiming to an answer we used the classical method of infrared spectroscopy as a tool of investigation. Collagen fibers of *S. zimocca* harvested in Aegean (from different depths) and Cretan Seas as well as in Egypt and Libya were examined. By comparing the corresponding spectra for all of our samples we concluded that all those examined belong to the same species. This preliminary research study allows us to conclude that infrared spectroscopy can be used as a supplementary tool for the taxonomy of sponges. There is no doubt that the method should be applied in a series of experiments with different species, before we suggest that it can become a routine–standard method of classification.

**ΑΠΟΣΙΩΠΗΣΗ ΤΡΙΩΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ  
ΕΜΒΡΥΟΓΕΝΕΣΗ ΤΟΥ ΑΧΙΝΟΥ *P.lividus*****Τσιρώνης Ι., Φλυτζάνης Κ.Ν.**

Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Πατρών.  
E-mail: [tsironis@upatras.gr](mailto:tsironis@upatras.gr)

Η εμβρυϊκή ανάπτυξη και η κυτταρική διαφοροποίηση ανήκουν στους πιο ενδιαφέροντες τομείς της Βιολογίας. Η γονιμοποίηση του ωαρίου αποτελεί το “εναρκτήριο λάκτισμα” σε έναν καταρράκτη μεταγραφικών μηχανισμών, οι οποίοι καθορίζουν τη μοίρα των βλαστομεριδίων στην πρώιμη ανάπτυξη. Η μελέτη των γονιδιακών δικτύων τα οποία ελέγχουν την ανάπτυξη καθώς και η εξέλιξη τους, αποτελούν σημαντικό μέρος της σύγχρονης έρευνας. Το έμβρυο του αχινού αποτελεί ένα έξοχο εργαλείο σε αυτήν την προσπάθεια, καθώς προσφέρει μία πλειάδα πλεονεκτημάτων, όπως μεγάλη διαθεσιμότητα εμβρυϊκού υλικού και διάφανο έμβρυο, το οποίο είναι εύκολο και ανθεκτικό στο μικροχειρισμό. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται η μελέτη της καταστολής τριών μεταγραφικών παραγόντων (COUP-TF, SHR2 και SHR3) στο πρώιμο έμβρυο αχινού *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816). Η αποσιώπηση της γονιδιακής έκφρασης έγινε με τη χρήση της τεχνολογίας αντινοσηματικών ολιγονουκλεοτιδίων (τύπου Morpholino), τα οποία μεταφέρθηκαν σε γονιμοποιημένα ωάρια με μικροένεση συνεχούς ροής με τη βοήθεια μικροχειριστή και με τη χρήση ανάστροφου μικροσκοπίου. Η μείωση της βιωσιμότητας των εμβρύων, καθώς και οι εμφανείς μορφολογικές ανωμαλίες των βλαστικών στιβάδων υποδηλώνουν το σημαντικό ρόλο των παραγόντων αυτών. Επιπλέον, με τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων, έναντι συγκεκριμένων αντιγόνων-δεικτών κυτταρικών στιβάδων και την τεχνική του ανοσοφθορισμού, μελετήθηκαν οι συγκεκριμένες ανωμαλίες που παρατηρήθηκαν. Αναμένεται να αποδειχθεί και η μείωση των επιπέδων των μεταγράφων τους με τη μέθοδο της έμμεσης ποσοτικοποίησης μέσω αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης πραγματικού χρόνου.



**GENE SILENCING OF THREE TRANSCRIPTION FACTORS DURING  
EMBRYOGENESIS OF SEA URCHIN *P.lividus***

*Tsironis I., Flytzanis C.N.*

*Biology Department, School of Natural Sciences, University of Patras.*

*E-mail: [tsironis@upatras.gr](mailto:tsironis@upatras.gr)*

Embryonic development and cell differentiation belong to the most interesting fields of Biology. The egg's fertilization is the "starting kick" of a transcriptional mechanisms' cascade, which determines blastomere's fate during early development. The study of gene networks which control development and their evolution comprise a significant part of modern research. The sea urchin embryo is an excellent tool for this approach, as it presents many advantages, such as embryonic availability and an optical clear embryo, which is easily manipulated and resistant to micromanipulations. In the present study, the effect of the loss of function for three transcription factors (COUP-TF, SHR2 and SHR3) in the early sea urchin embryo [*Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816)], is being reported. With the use of a micromanipulator, antisense oligonucleotides (Morfolino) were used to perform gene silencing, after being transferred into fertilized eggs by microinjection by continuous flow under an inverted microscope. The significance of these factors is implied from the viability reduction and the visible morphological abnormalities of the embryonic germ layers. Immunofluorescence with monoclonal antibodies against specific antigen-markers of the germ layers is used in parallel studies, in order to confirm the observed abnormalities. The reduction of the corresponding gene transcripts is expected to be confirmed by relative quantification with real time PCR experiments.

**ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΔΟΣΕΩΝ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΩΝ ΜΕ ΜΕΘΟΔΟΥΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ  
ΔΟΣΙΜΕΤΡΙΑΣ: ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΗΣ  
ΑΚΤΙΝΟ-ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑΣ ΜΕΛΩΝ ΤΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΣΤΗΝ  
ΠΡΟΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ**

*Τσόγκα Ε.<sup>1</sup>, Τερζούδη Γ.<sup>2</sup> και Λ.Χ. Μαργαρίτης<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ*

*<sup>2</sup>Εργαστήριο Ραδιοβιολογίας & Βιοδοσιμετρίας, ΙΡΡ-Π, ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος»*

Η εκτίμηση δόσεων μετά από έκθεση σε ιοντίζουσα ακτινοβολία με βιολογική δοσιμετρία βασίζεται στην κατασκευή καμπύλης αναφοράς που συσχετίζει τη δόση με τις επαγόμενες χρωμοσωματικές αλλοιώσεις σε λεμφοκύτταρα περιφερικού αίματος. Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν να διερευνηθεί αφενός η διαφορετική ενδογενής G<sub>2</sub>-χρωμοσωματική ακτινοευαισθησία μεταξύ των μελών του πληθυσμού, αφετέρου κατά πόσο μία πρότυπη καμπύλη αναφοράς είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί σε περίπτωση υπερέκθεσης τόσο ακτινοευαίσθητων όσο και ακτινοάντοχων ατόμων. Συγκεκριμένα, εξετάστηκε η χρωμοσωματική ακτινοευαισθησία 23 υγιών δοτών μετά από ακτινοβόληση (1Gy, <sup>60</sup>Co) λεμφοκυττάρων στη G<sub>2</sub> φάση του κυτταρικού κύκλου μέσω ανάλυσης χρωματιδικών θραυσμάτων στη μετάφαση. Οι 16 δότες [70%] παρουσίασαν μέση απόκριση (2,60-3,98 θραύσματα/κύτταρο), οι 4 δότες [17%] έδειξαν αυξημένη G<sub>2</sub>-ακτινοευαισθησία (4,27-4,73 θραύσ./κύτ.) και οι 3 [13%] έδειξαν ακτινοαντοχή (1,4-2,23 θραύσ./κύτ.). Δείγματα λεμφοκυττάρων 6 δοτών από τις τρεις διαφορετικές κατηγορίες ακτινοευαισθησίας εκτέθηκαν σε ακτινοβολία 1,2,4 και 6 Gy στη G<sub>0</sub> φάση, οι χρωμοσωματικές αλλοιώσεις ποσοτικοποιήθηκαν στη μετάφαση και κατασκευάστηκαν 6 καμπύλες αναφοράς δόσης - επαγωγής δικεντρικών χρωμοσωμάτων και δακτυλίων. Οι επαγόμενες χρωμοσωματικές αλλοιώσεις δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των 6 δοτών διαφορετικής G<sub>2</sub>-χρωμοσωματικής ακτινοευαισθησίας. Τα αποτελέσματα επιβεβαιώνουν ότι: α) υπάρχει διακύμανση στην ενδογενή ακτινοευαισθησία ατόμων του πληθυσμού που ανιχνεύεται με τη μέθοδο της G<sub>2</sub>-χρωμοσωματικής ακτινοευαισθησίας και β) η πρότυπη καμπύλη αναφοράς δόσης-χρωμοσωματικών αλλοιώσεων μετά από ακτινοβόληση G<sub>0</sub> λεμφοκυττάρων δεν επηρεάζεται από τη διαφορετική ακτινοευαισθησία ατόμων του πληθυσμού και ως εκ τούτου δύναται να χρησιμοποιηθεί για βιολογική δοσιμετρία τόσο ακτινοευαίσθητων όσο και ακτινοανθεκτικών ατόμων.

**ABSORBED DOSE ESTIMATION USING BIODOSIMETRY: INFLUENCE OF  
INTRINSIC RADIOSENSITIVITY OF EXPOSED INDIVIDUALS IN THE  
STANDARDIZATION OF THE METHOD**

*Tsogka E.<sup>1</sup>, Terzoudi G.<sup>2</sup>, and L.H. Margaritis<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology, UOA*

*<sup>2</sup>Laboratory of Radiobiology & Biodosimetry, I/RR-P, N.C.S.R. "Demokritos"*

Absorbed dose estimation in case of exposure to ionizing radiation is based on the construction of a standard calibration curve that correlates the dose with the radiation-induced dicentric and ring chromosomes in human peripheral blood lymphocytes. The purpose of this study was first to confirm whether there is an intrinsic variability in G<sub>2</sub>-chromosomal radiosensitivity among healthy individuals, and second to test whether the standard calibration curve can be used for absorbed dose estimates in case of radiosensitive as well as of radioresistant individuals. Specifically, blood samples from 23 healthy donors were tested for their G<sub>2</sub>-chromosomal radiosensitivity. Peripheral blood lymphocytes were irradiated with 1 Gy of  $\gamma$ -rays at G<sub>2</sub> phase of their cell cycle and the radiation-induced chromatid breaks were analyzed at the subsequent metaphase. 16 donors [70%] showed an average response (2.60-3.98 breaks/cell), whereas 4 donors [17%] were evaluated as radiosensitive (4.27-4.73 breaks/cell) and 3 donors [13%] as radioresistant (1.4-2.23 breaks/cell). Subsequently, lymphocytes from 6 donors that exhibited differences in their intrinsic G<sub>2</sub>-chromosomal radiosensitivity were irradiated at G<sub>0</sub> phase of the cell cycle with 1, 2, 4 and 6 Gy, so that 6 dose-response calibration curves were constructed. No significant differences in the yield of radiation-induced chromosomal aberrations (dicentric and centric rings) between the 6 donors were observed. The results obtained from this study demonstrate that: a) there is an inter-individual variability in radiosensitivity among healthy individuals and this can be detected by the use of G<sub>2</sub>-chromosomal radiosensitivity assay, and b) the standard calibration curve obtained after irradiation of peripheral blood lymphocytes at G<sub>0</sub> phase of the cell cycle is not influenced by the variability in radiosensitivity, so that it can be used for biological dosimetry purposes for both radiosensitive and radioresistant individuals.

**ΔΥΟ ΧΡΗΣΙΜΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ESTs ΣΤΟ ΔΑΚΟ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ:  
ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΧΑΡΤΗΣ ΚΑΙ ΕΡΙC ΔΕΙΚΤΕΣ**

Τσουμάνη Κ.Τ.<sup>1</sup>, Αυγουστίνος Α.Α.<sup>1,2</sup>, Κακάνη Ε.Γ.<sup>1</sup>, Δροσοπούλου Ε.<sup>3</sup>,  
Μαυραγάνη-Τσιπίδου Π.<sup>3</sup>, Ματθιόπουλος Κ.Δ.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα

<sup>2</sup>Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών

<sup>3</sup>Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Ο δάκος της ελιάς, *Bactrocera oleae*, είναι το πιο επιβλαβές έντομο των ελαιοκαλλιιεργειών. Παρά την οικονομική του σημασία, ελάχιστα είναι γνωστά στο μοριακό και γενετικό επίπεδο. Για το λόγο αυτό, απομονώσαμε και χαρακτηρίσαμε 150 ετικέτες μεταγραφόμενων αλληλουχιών (ESTs, Expressed Sequence Tags) του δάκου. Ο καθορισμός της αλληλουχίας αυτών των EST δεικτών και η σύγκριση των πιθανών πρωτεϊνικών τους προϊόντων με πρωτεϊνικές αλληλουχίες κατατεθειμένες σε βάσεις δεδομένων έδωσε τη δυνατότητα ταξινόμησης και κατηγοριοποίησης των αντίστοιχων γονιδίων. Η χαρτογράφηση 35 από αυτούς στα πολυταινικά χρωμοσώματα του δάκου αποτέλεσε έναν EST κυτταρολογικό χάρτη με συγκεκριμένα σημεία εισόδου στο γονιδίωμα. Τα αποτελέσματα αυτά συνεισφέρουν στον εμπλουτισμό των διαθέσιμων χαρτών ενώ ταυτόχρονα παρέχεται η δυνατότητα διερεύνησης της συνταινικότητας, μέσω καθορισμού ομολογιών στη διάταξη των γονιδίων τους στους κυτταρογενετικούς χάρτες διαφόρων συγγενικών εντόμων. Η συγκριτική ανάλυση της αλληλουχίας των EST δεικτών του δάκου με τους αντίστοιχους γενετικούς τόπους στη *D. melanogaster* έδωσε, επίσης, τη δυνατότητα σχεδιασμού εκκινητών για την ενίσχυση της αλληλουχίας ιντρονίων (Exon-Primed Intron-Crossing PCR). Έτσι, ενισχύθηκαν συγκεκριμένα ιντρόνια σε 10 διαφορετικά είδη της οικογένειας των Tephritidae και συγκρίθηκαν οι αλληλουχίες, με σκοπό τη διερεύνηση της συγγένειας μεταξύ των ειδών αυτών. Η χρήση των EPIC δεικτών μπορεί να συμβάλει στην διαλεύκανση περιπτώσεων συμπλεγμάτων ειδών (complex species) τα οποία είναι πολύ κοινά στην οικογένεια Tephritidae.

---

## TWO USEFUL APPLICATIONS OF ESTs IN THE OLIVE FLY: CYTOGENETIC MAP AND EPIC MARKERS

*Tsoumani K.T.<sup>1</sup>, Augoustinos A.A.<sup>1,2</sup>, Kakani E.G.<sup>1</sup>, Drosopoulou E.<sup>3</sup>, Mavragani-  
Tsipidou P.<sup>3</sup>, Mathiopoulos K.D.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Larissa

<sup>2</sup>Department of Biology, University of Patras, Greece

<sup>3</sup>Department of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki

The olive fruit fly, *Bactrocera oleae*, is the major pest of the olive tree. Despite its importance, very little genetic and molecular knowledge is available. On account of this, 150 *B. oleae* Expressed Sequence Tags (ESTs) were isolated and characterized. The determination of their sequence provided the opportunity for the classification and categorization of the corresponding gene products. Thirty-five of these clones were mapped onto the polytene chromosomes of *B. oleae*, thus providing a low-resolution EST map of the insect with specific entry points into its genome. Our results, not only contribute to the enrichment of the available maps, but also would be useful to defining homologies among chromosomes or chromosomal segments across phylogenetically distant species (synteny). The comparative analysis of *B. oleae* ESTs sequences with the corresponding *D. melanogaster* loci led to the design of primer pairs for the amplification of intron sequences (Exon-Primed Intron-Crossing PCR). Cross-species amplification and sequence comparison of specific intron regions in ten Tephritidae species gave grounds for phylogenetic comparisons. EPIC primers can be useful in the clarification of phylogenetic relationships among different species, particularly in cases of species complexes that are common in the Tephritidae family.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΑΣΗΣ ΤΟΥ  
ΟΥΡΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ (ΟΥΡΙΚΑΣΗ) ΤΟΥ *Aspergillus nidulans***

**Φαράγκ – Χενίν Φ.Ι., Σταθοπούλου Π.Μ., Ανασοντζής Γ.Ε., Διαλλινάς Γ. και  
Δ.Γ. Χατζηνικολάου**

Ομάδα Μικροβιολογίας, Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και  
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθήνας, 157 84 Ζωγράφου, Αττική.  
E-mail: [xatzdim@biol.uoa.gr](mailto:xatzdim@biol.uoa.gr)

Η οξειδάση του ουρικού οξέος (ουρικάση, E.C. 1.7.3.3) είναι ένα ένζυμο που συμμετέχει στο μονοπάτι του καταβολισμού πουρινών και καταλύει την οξειδάση του ουρικού οξέος προς αλλαντοΐνη και υπεροξειδίο του υδρογόνου, παρουσία οξυγόνου. Το ένζυμο εντοπίζεται στα περοξυσώματα. Η ουρικάση, καθώς και τα υπόλοιπα δομικά γονίδια του συγκεκριμένου μεταβολικού μονοπατιού στους μύκητες, ρυθμίζεται από τα ρυθμιστικά γονίδια θετικής δράσης και η έκφραση της επάγεται από την παρουσία ουρικού οξέος, ως μοναδικής πηγής αζώτου, ενώ καταστέλλεται από την παρουσία απλούστερων πηγών αζώτου όπως η αμμωνία, η γλουταμίνη και του γλουταμινικό οξύ. Στην παρούσα εργασία, αρχικά αριστοποιήθηκε η παραγωγή του ενζύμου σε υγρές καλλιέργειες του μύκητα *Aspergillus nidulans* μεταβάλλοντας τις παραμέτρους που αφορούν την επαγωγή του ενζύμου από το ουρικό οξύ. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε καθαρισμός του ενζύμου από εκχύλισμα μυκηλίων που συλλέχθηκαν στις άριστες συνθήκες επαγωγής. Χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές υγρής χρωματογραφίας όπως η χρωματογραφία ιοντοανταλλαγής και μοριακής διήθησης. Στο τέλος της διεργασίας καθαρισμού το ένζυμο παραλήφθηκε σε ηλεκτροφορητικά καθαρή μορφή μετά από εμπλουτισμό 75 φορές. Το καθαρισμένο ένζυμο εμφάνισε άριστη τιμή pH και θερμοκρασίας δράσης 8.5 και 37 °C, αντίστοιχα. Τέλος, η τιμή της Km του ενζύμου ως προς το ουρικό οξύ, προσδιορίστηκε στα 86.3 μM.

---

**INDUCTION AND PURIFICATION OF URATE OXIDASE (URICASE) FROM  
ASPERGILLUS NIDULANS**

*Farag-Henin Ph., Stathopoulou P.M., Anasontzis G.E., Diallinas G.,  
and D.G. Hatzinikolaou*

*Microbiology Group, Department of Botany, Faculty of Biology, National and Kapodistrian  
University of Athens, 157 84 Zografou, Attica Greece. E-mail: [xatzdim@biol.uoa.gr](mailto:xatzdim@biol.uoa.gr)*

Urate oxidase (uricase, urate oxygen oxidoreductase; E.C 1.7.3.3) is an enzyme of the purine catabolic pathway that catalyzes the oxidation of uric acid, in the presence of oxygen, to allantoin and hydrogen peroxide. Uricase is localized in peroxisomes. Uricase expression is induced by the presence in the culture medium of uric acid as a sole nitrogen source and repressed by the presence of simpler nitrogen sources such as ammonium ions, glutamine and glutamic acid. In the present work we have initially optimized the production of uricase in submerged cultures of the fungus *Aspergillus nidulans*, by altering the process parameters concerning the induction of the enzyme from uric acid. In a next step, purification of the enzyme was performed using mycelium extract prepared under the optimum induction conditions. The enzyme was purified by applying liquid chromatography techniques such as ion exchange and gel filtration chromatography. At the end of the purification process the enzyme was collected in electrophoretically pure form with 75-fold enrichment. The purified enzyme revealed an optimum pH and temperature of 8.5 and 37 °C, respectively, and a  $K_m$  against uric acid equal to 86.3  $\mu$ M.

**ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΑΜΥΛΟΕΙΔΟΓΕΝΩΝ ΚΑΘΟΡΙΣΤΩΝ ΣΕ  
ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΥΠΕΥΘΥΝΕΣ ΓΙΑ ΑΜΥΛΟΕΙΔΩΣΕΙΣ****Φειδά Δ., Οικονομίδου Β.Α. και Σ.Ι. Χαμόδρακας***Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο  
Αθηνών, Αθήνα 157 01*

Ως αμυλοειδή ορίζονται εξωκυτταρικές, κυρίως, εναποθέσεις πρωτεϊνικών ινιδίων, που δημιουργούνται από διαλυμένες πρωτεΐνες ή πεπτίδια, όταν αυτά διπλώνονται κατά ανώμαλο τρόπο και αυτοσυγκροτούνται προκαλώντας μια σειρά ασθενειών γνωστές ως αμυλοειδώσεις. Τελευταία, έχουν συσχετιστεί και με μη παθολογικές καταστάσεις με την ονομασία λειτουργικά αμυλοειδή. Το κοινό δομικό γνώρισμα των αμυλοειδών ινιδίων είναι η 'cross-β' δομή, ενώ έχει δειχθεί ότι συγκεκριμένα πεπτίδια της αλληλουχίας των πρωτεϊνών που είναι υπεύθυνες για αμυλοειδώσεις ευθύνονται για το σχηματισμό τέτοιων ινιδίων (αμυλοειδογενείς-καθοριστές), τα περισσότερα εκ των οποίων φαίνεται να είναι επιφανειακά. Επίσης, σύμφωνα με το μοντέλο της 'μερικής αποδιάταξης', το οποίο προτάθηκε πρόσφατα, μία φυσιολογική πρωτεΐνη αποδιατάσσεται μερικώς, ώστε να αποκαλυφθεί ο 'αμυλοειδογενής-καθοριστής', ο οποίος αλληλεπιδρά με έναν άλλο, ενός άλλου μερικώς αποδιαταγμένου μορίου της πρωτεΐνης σχηματίζοντας έτσι τον 'cross-β' σκελετό του υπό ανάπτυξη ινιδίου. Κρυσταλλογραφικές μελέτες έχουν δείξει ότι, ορισμένα από τα αμυλοειδογενή αυτά πεπτίδια, σχηματίζουν «dry steric zippers» με αλληλεπιδράσεις των πλευρικών τους αλυσίδων, στα σχηματισμένα αμυλοειδή ινίδια, εξασφαλίζοντας έτσι, πολύ 'καλό' πακετάρισμα μεταξύ τους και ιδιαίτερη σταθερότητα. Τι συμβαίνει όμως με αυτούς τους 'αμυλοειδογενείς-καθοριστές' στην «φυσιολογική» (μη αποδιαταγμένη) πρωτεΐνη; Σκοπός της εργασίας ήταν η μελέτη, με τη βοήθεια προγραμμάτων μοριακών γραφικών, των αλληλεπιδράσεων των πειραματικά προσδιορισμένων 'αμυλοειδογενών-καθοριστών' στις αντίστοιχες πρωτεΐνες που ευθύνονται για αμυλοειδώσεις και η πιθανή εύρεση προτύπων αλληλεπίδρασης μεταξύ καταλοίπων. Τα μέχρι τώρα αποτελέσματα δείχνουν ότι οι 'αμυλοειδογενείς-καθοριστές' βρίσκονται πολύ καλά πακεταρισμένοι μέσα στην πρωτεΐνη, γεγονός το οποίο στηρίζει το μοντέλο της 'μερικής αποδιάταξης', εφόσον θα ήταν δύσκολη η αλληλεπίδραση τους με πεπτίδια άλλου μορίου πρωτεΐνης χωρίς να συμβαίνει μερική τουλάχιστον αποδιάταξη.



**ANALYSIS OF AMYLOIDOGENIC DETERMINANT INTERACTIONS IN  
PROTEINS RESPONSIBLE FOR AMYLOIDOSES**

*Feida D., Iconomidou V.A., and S.J. Hamodrakas*

*Dept of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens  
15701*

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, mainly extracellularly, in organs/tissues and cause many diseases, called amyloidoses. Recently, amyloids have been related with non-pathological conditions, as functional amyloids. One common feature of amyloid fibrils is the 'cross- $\beta$ ' structure, and it has been shown that certain peptide sequences of proteins responsible for amyloidoses, may be responsible for the formation of such fibrils (amyloidogenic- determinants), most of which appear to reside on the surface of the protein structure. Additionally, according to the 'gain of interaction model', which has been recently suggested, a natively folded protein partially unfolds, exposing the 'amyloidogenic determinant', which interacts with some other of another partially unfolded protein, forming the 'cross- $\beta$ ' backbone structure of the fibril. Crystallographic research has shown that, these amyloidogenic peptides form "dry steric zippers" based on side chain interactions, which provide 'close' packing and stability. The question is how are these amyloidogenic-determinants arranged in the natively folded protein? The aim of this study was, utilizing molecular graphics programs, to analyze the interactions of the experimentally determined 'amyloidogenic-determinants' of proteins responsible for amyloidoses and to explore possible patterns of interactions between amino acid residues. From our results, so far, it can be suggested that 'amyloidogenic-determinants' are closely packed in the protein structure, a finding that supports well the 'gain of interaction model', because at least a partial unfolding of the protein is necessary for the 'amyloidogenic peptides' to be able to interact one another.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΟΜΟΔΙΜΕΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ BRI2****Φετάνη Α., Τσαχάκη Μ., Ευθυμίου Σ.***Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 157 84, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσια*

Η BRI2 είναι μία τύπου II διαμεμβρανική πρωτεΐνη, η οποία εμφανίζεται μεταλλαγμένη σε ασθενείς με άνοιες βρετανικού και δανέζικου τύπου. Από την πρωτεόλυση των μεταλλαγμένων BRI2 πρωτεϊνών προκύπτουν πεπτίδια, τα οποία δημιουργούν αμυλοειδείς εναποθέσεις στους εγκεφάλους των ασθενών. Σχετικά με το φυσιολογικό ρόλο της BRI2 υπάρχουν πολύ λίγα δεδομένα. Προκειμένου να αποκτήσουμε δεδομένα για τη φυσιολογική λειτουργία της BRI2, εντοπίσαμε δύο στοιχεία στην πρωτοταγή δομή της πρωτεΐνης που υποδηλώνουν ότι έχει την ικανότητα να ομοδιμερίζεται. Καταρχήν, η BRI2 περιέχει στην διαμεμβρανική της ακολουθία το πρωτεϊνικό μοτίβο GXXXG, το οποίο έχει βρεθεί ότι διαμεσολαβεί το σχηματισμό ομοτυπικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ πρωτεϊνών. Επιπλέον, η BRI2 διαθέτει ένα ελεύθερο εξωκυτταροπλασματικό κυστεϊνικό κατάλοιπο (C89), που θα μπορούσε να συμμετέχει στη σύνδεση δύο μορίων BRI2 μέσω διαμοριακού δισουλφιδικού δεσμού. Με τη μέθοδο της συμπληρωματικότητας δύο μη φθοριζόντων θραυσμάτων μιας φθορίζουσας πρωτεΐνης, δείξαμε ότι η BRI2 σχηματίζει ομοδιμερή. Ανάλυση κατά Western σε μη αναγωγικές συνθήκες έδειξε ότι τα ομοδιμερή της BRI2 συνδέονται με δισουλφιδικούς δεσμούς. Μεταλλαγή του κυστεϊνικού καταλοίπου 89 παρεμπόδισε το σχηματισμό ομοδιμερών μέσω δισουλφιδικών δεσμών. Επιπρόσθετα, βρέθηκε ότι μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις συγκρατούν τα ομοδιμερή, ακόμα και απουσία δισουλφιδικού δεσμού. Με τη χρήση BRI2 πρωτεϊνών που έφεραν διάφορες ελλείψεις και μεταλλαγή στην κυστεΐνη 89, αποδείξαμε ότι η υπεύθυνη περιοχή για το σχηματισμό μη ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων βρίσκεται εξωκυτταρο-πλασματικά. Η μελέτη μας συμβάλλει στην κατανόηση του φυσιολογικού ρόλου της BRI2, το οποίο είναι απαραίτητο βήμα για τη διαλεύκανση των δυσλειτουργιών που οδηγούν στο νευροεκφυλισμό.

*Αυτή η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από το Εμπειρικό Ίδρυμα*

*Η Μαρία Τσαχάκη είναι υπότροφος του Ιδρύματος Κρατικών Υποτροφιών*

## STYDY OF THE HOMODIMERIZATION OF BRI2 PROTEIN

*Fetani A., Tsachaki M., Efthimiopoulos S.*

*Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens,  
157 84 Panepistimiopolis, Ilisia, Greece.*

BRI2 is a type II transmembrane protein, that when mutated causes two different neurodegenerative diseases, Familial British Dementia (FBD) and Familial Danish Dementia (FDD). Cleavage of mutated BRI2 proteins releases peptides which form amyloid deposits in the brains of patients. Concerning the physiological role of BRI2 there is very limited information. In an attempt to unravel novel aspects of BRI2 biological properties we identified two elements in the primary structure of BRI2, which suggest that it could form homodimers. First, BRI2 contains within its transmembrane domain the GXXXG motif that has been shown to mediate homotypic protein interactions. Second, BRI2 contains a free cysteine residue in its extracellular sequence (C89), which could mediate BRI2 association with another BRI2 molecule through an intermolecular disulfide bond. Using the Bimolecular Fluorescence Complementation Assay (BiFC) we showed that BRI2 forms homodimers in cells. WB analysis under non reducing conditions indicated that the homodimers are held with disulfide bonds. Mutation of cysteine 89 greatly inhibited the formation of disulfide-linked dimers, which implies that this cysteine is involved in the formation of BRI2 homodimers. Additionally, we found that non covalent interactions hold the BRI2 homodimers together even in the absence of disulfide bonds. Using BRI2 proteins with different deletions, that also bear a mutation at cysteine 89, we discovered that the non-covalent interactions between BRI2 homodimers exist in a specific part of the extracellular region. Our study contributes in the understanding of the physiological function of BRI2, which is important for the elucidation of the deviations that lead to neurodegeneration and dementia.

*This research was funded by the Empeirikion Foundation.*

*Maria Tsachaki has a scholarship from the State Scholarship Foundation.*

**ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΤΟΙΧΩΜΑΤΟΣ (CWPs) ΘΕΤΙΚΩΝ  
ΚΑΤΑ GRAM ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ HIDDEN MARKOV MODELS****Φιμερέλη Δ.Κ.<sup>1</sup>, Λίτου Ζ.Ι.<sup>1</sup>, Μπάγκος Π.Γ.<sup>2</sup> και Σ.Ι. Χαμόδρακας<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας,  
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 01<sup>2</sup>Τμήμα Πληροφορικής με Εφαρμογές στη Βιοιατρική, Πανεπιστήμιο Στερεάς  
Ελλάδας, Παπασιοπούλου 2-4, Λαμία 35100

Οι επιφανειακές πρωτεΐνες των θετικών κατά Gram βακτηρίων παίζουν σημαντικό ρόλο στην προσκόλληση στα κύτταρα του 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). Αυτό, αποτελείται από ένα μοτίβο LPxTG, ακολουθούμενο από μια υδρόφοβη περιοχή και μια θετικά φορτισμένη ουρά και αναγνωρίζεται από ένζυμα που ονομάζονται σορτάσες. Οι σορτάσες, είναι μεμβρανικές πρωτεΐνες που αναγνωρίζουν και αποκόπτουν το LPxTG μοτίβο μεταξύ της θρεονίνης και της γλυκίνης, σχηματίζοντας έναν αμιδικό δεσμό μεταξύ του καρβοξυτελικού άκρου της θρεονίνης και του αμινοτελικού άκρου της πεπτιδογλυκάνης. Παρ' όλα αυτά, έχουν βρεθεί και επιφανειακές πρωτεΐνες υποστρώματα άλλων σορτασών οι οποίες δεν περιέχουν το μοτίβο LPxTG, αλλά, άλλα παρόμοια μοτίβα (π.χ. NPQTN, LPxTA ή LAxTG). Οι σορτάσες που αναγνωρίζουν αυτές τις πρωτεΐνες μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε πέντε υποοικογένειες. Στην συγκεκριμένη εργασία συλλέξαμε μέσω της διεθνούς βιβλιογραφίας και της βάσης πρωτεϊνικών ακολουθιών UniProt, 134 πρωτεΐνες εκ των οποίων οι 123 έχουν το χαρακτηριστικό μοτίβο LPxTG, 3 το LAxTG, 3 το LPxTA και 5 το μοτίβο NPQTN. Οι πρωτεΐνες αυτές κατηγοριοποιήθηκαν με βάση τον τύπο της σορτάσης που τις κόβουν και χρησιμοποιήθηκαν για την δημιουργία ενός Hidden Markov Model το οποίο μπορεί και εντοπίζει όλους τους τύπους των CWPs. Πραγματοποιήθηκε ανάλυση όλων των πλήρως προσδιορισμένων θετικών κατά Gram βακτηριακών γονιδιωμάτων, με απώτερο στόχο, τη συλλογή και κατηγοριοποίηση όλων των πρωτεϊνών αυτών με βάση τη λειτουργία τους, σε μια βάση δεδομένων.

## **A HMM MODEL FOR THE PREDICTION OF CELL WALL PROTEINS (CWPs) OF GRAM POSITIVE BACTERIA**

*Fimereli D.K.<sup>1</sup>, Litou Z.I.<sup>1</sup>, Bagos P.G.<sup>2</sup>, and S.J. Hamodrakas<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens,  
Athens 157 01*

*<sup>2</sup>Department of Computer Science and Biomedical Informatics, University of Central  
Greece, Papasiopoulou 2-4, Lamia 35100, Greece*

Surface proteins of Gram-positive bacteria play a significant role for adherence to the host cells or tissues and are required for virulence. Most of these proteins contain a C-terminal sorting signal consisting of an LPxTG motif, followed by a hydrophobic domain and a tail of mostly positively charged residues. They are recognized and 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 sortase substrates contain the LPxTG motif (they may also contain NPQTN, LPxTA or LAxTG motifs). Sortases that cleave all these proteins are classified into five subfamilies. We performed an extensive literature and database search, which resulted in 134 cell-wall proteins. Further analysis showed that 123 among them contain the LPxTG motif, 3 contain LPxTA, 3 contain LAxTG and 5 contain the NPQTN motif. These proteins were categorized into subfamilies according to the type of the sortase that cleaves them and were subsequently used in order to build an Hidden Markov Model, applicable to all cell wall proteins. The model was tested against all known Gram-positive bacterial genomes. We intend to construct a database containing all proteins, that are substrates of sortases and to categorize them into families according to their function

**ΟΙΚΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΕΣ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *EOBANIA*  
*VERMICULATA*: Η ΖΩΗ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΕ ΔΙΑΠΑΥΣΕΙΣ**

Φίρμπας Π.<sup>1</sup> Κοτσακίοζη Π.<sup>1</sup>, Παφίλης Π.<sup>2</sup>, Γκιώκας Σ.<sup>3</sup>, Βαλάκος Ε.Δ.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ,  
Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσσια, 157-84, Αθήνα

<sup>2</sup>School of Natural Resources and environment, Dana Building, 430 East University, U of  
M, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA

<sup>3</sup> Τομέας Βιολογίας Ζώων, Τμ. Βιολογίας, Πανεπ. Πάτρας, Πάτρα

Η βιολογία των χειρσαίων σαλιγκαριών είναι άμεσα συνδεδεμένη με το κλίμα και αυτό τα καθιστά καλούς δείκτες για την μελέτη της επίδρασης της κλιματικής αλλαγής στις βιολογικές διεργασίες. Οι κλιματικοί παράγοντες που κυρίως επηρεάζουν τα σαλιγκάρια είναι η θερμοκρασία, η υγρασία του αέρα, η βροχόπτωση και ο άνεμος. Τα χειρσαία μαλάκια ακολουθούν κυκλικά πρότυπα διαβίωσης, δηλαδή η περίοδος δραστηριότητάς των ζώων ακολουθείται από μια περίοδο ύπνωσης (λήθαργος/διάπαυση). Μελετήσαμε τα εποχιακά πρότυπα στην βιοχημική σύσταση του ευρέως-διασπαρμένου είδους *Eobania vermiculata* σε σχέση με τις κλιματικές συνθήκες σε ένα ηπειρωτικό (Υμητός) και ένα νησιωτικό (Λέσβος) πληθυσμό. Συγκεκριμένα εξετάσαμε τις μεταβολές στην συγκέντρωση αποθεματικών ουσιών (γλυκογόνο, πρωτεΐνες, λιπίδια) και στην δραστικότητα του ενζύμου γαλακτική αφυδρογονάση (ένζυμο που συνδέεται με τον αναερόβιο μεταβολισμό) καθώς και τις εποχικές μεταβολές στο υδατικό περιεχόμενο των ιστών, με σκοπό την διερεύνηση των αλλαγών που συμβαίνουν στην φυσιολογία των ζώων κατά την μετάβαση από την ενεργό περίοδο σε αυτή της διάπαυσης, καθώς και της πιθανής επίδρασης που θα είχε μια παρατεταμένη περίοδος ξηρασίας στην διαβίωση των οργανισμών αυτών. Τα δύο σημαντικά συμπεράσματα που προέκυψαν από τη μελέτη μας είναι ότι το είδος αυτό φαίνεται να είναι πολύ καλά προσαρμοσμένο στα μεσογειακά οικοσυστήματα καθώς δείχνει να μην μεταβάλλει σημαντικά το υδατικό περιεχόμενο των ιστών του κατά τη διάρκεια του έτους. Επίσης το γεγονός ότι η δραστικότητα της LDH φαίνεται να αυξάνεται τους θερινούς μήνες αποτελεί ένδειξη ότι στο μεταβολισμό του ζώου συμμετέχουν και αναερόβια μονοπάτια κατά την δυσμενή περίοδο, που αυτό είναι σε διάπαυση.

Μέρος του έργου χρηματοδοτείται από το πρόγραμμα Καποδίστριας ΕΚΠΑ.

**ECOPHYSIOLOGICAL ADAPTATIONS OF THE *EOBANIA VERMICULATA*:  
LIFE BETWEEN AESTIVATIONS**

*Firbas P.<sup>1</sup>, Kotsakiozi P.<sup>1</sup>, Pafilis P.<sup>2</sup>, Giokas S.<sup>3</sup>, Valakos E.D.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Section of Animal and human Physiology, Department of Biology, UOA, Ilissia, 157-84,  
Athens, Greece*

<sup>2</sup>*School of Natural Resources and environment, Dana Building, 430 East University, U of  
M, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA*

<sup>3</sup>*Section of Animal Biology, Dept. of Biology, University of Patras, Patra*

Land snails' biology is strongly linked to climate; this makes them good indicators of the global warming effect on biological processes. The climate factors mainly affecting land snails are, temperature, air humidity, rainfalls and winds. Land snails exhibit seasonal patterns of activity, so the period of activity is followed by periods of dormancy (hibernation/aestivation). We studied the seasonal biochemical composition of the wide-spread species *Eobania vermiculata*, in relation to the climatic conditions, in a mainland (Imitos Mt.) and an insular (Lesvos isl.) population. Specifically we examined the fluctuations in the concentration of the fuel reserves (glucogen, proteins, lipids) and in the activity of LDH (enzyme related to the anaerobic metabolism) as well as the variation of the tissues' water content. Our goal was to have an insight regarding the biochemical changes that take place during the transition of the animals from an active to a dormant state, as well as to evaluate the impact that a prolonged draught period, will have on the animals' survival. The two important conclusions arising from our study are that *E. vermiculata* seems to be well adapted to the Mediterranean ecosystems as the water content does not change throughout the year. Furthermore, the fact that LDH activity increases during summer, is an indication that anaerobic pathways are also involved in their metabolism during the unfavorable aestivating period of the animals.

*Part of the project is founded by the program Kapodistrias NKUA.*

**ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΠΑΡΑΣΙΤΩΝ-ΞΕΝΙΣΤΗ: ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ,  
ΕΙΛΙΚΡΙΝΕΙΣ ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ Η ΕΠΙΛΟΓΗ ΣΥΝΤΡΟΦΟΥ ΣΕ  
ΕΝΑΝ ΑΤΕΛΗ ΚΟΣΜΟ****Φουφόπουλος Ι.\****School of Natural Resources and Environment, Dana Building, 430 East University, University of  
Michigan, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA*

Ορισμένες από τις βασικότερες κατακτήσεις των τελευταίων δέκα ετών στην οικολογία πηγάζουν από τη μελέτη της εντυπωσιακής ποικιλότητας των παρασιτικών οργανισμών που απαντώνται στα φυσικά οικοσυστήματα και εστιάζουν στον κεντρικό ρόλο που παίζουν τα παράσιτα αυτά τόσο στη ρύθμιση των πληθυσμών των ξενιστών τους όσο και στη διαμόρφωση της δομής και της λειτουργίας των βιοκοινοτήτων. Παρά την ευρύτατη παρουσία των παρασίτων στη φύση, γνωρίζουμε ελάχιστα για το πώς αλληλεπιδρούν με τους ξενιστές τους και πώς επηρεάζουν την συμπεριφορά, την αναπαραγωγή και τη φυσιολογία των τελευταίων. Η μελέτη των αλληλεπιδράσεων τους σε μη ανθρώπινα συστήματα είναι ιδιαίτερα σημαντική καθώς μπορεί 1. να προαγάγει την κατανόηση της λειτουργίας των βιοκοινοτήτων, 2. να χρησιμοποιηθεί στην βιολογία διατήρησης και 3. να αποσαφηνίσει βασικές αρχές της εξάπλωσης των ασθενειών με τρόπους που δεν μπορούν να αποκτηθούν από τη μελέτη του ανθρώπου. Για να απαντήσουμε κάποιες από αυτές τις ερωτήσεις μελετήσαμε την επίδραση των πλασμοδίων της ελονοσίας, ίσως της πιο σημαντικής οικολογικά ομάδας παθογόνων οργανισμών σε σπονδυλωτά, σε ένα πρότυπο πληθυσμό στρουθιόμορφων πουλιών (*Zonotrichia leucophrys*) από το Κολοράντο. Τα παράσιτα της ελονοσίας των πτηνών (που ανήκουν στα γένη *Plasmodium*, *Haemoproteus* & *Leucocytozoon*) είναι πολύ διαδεδομένα στις φυσικές βιοκοινότητες ενώ ασκούν σημαντικές επιδράσεις στους πληθυσμούς των ξενιστών τους, αντίθετα από ότι πιστευόταν μέχρι σήμερα. Οι μολυσμένοι ξενιστές αναπαράγονται σπανιότερα και με μικρότερη επιτυχία ενώ συχνά ζουν λιγότερο από ότι οι υγιείς ομολόγοί τους. Η σοβαρότητα της μόλυνσης ποικίλλει θεαματικά σε ατομικό επίπεδο και εξαρτάται από την γενετική ποικιλότητα του ξενιστή και την αποτελεσματικότητα της ανοσολογικής απόκρισης. Κάτω από την απειλή των σοβαρών συνεπειών μιας πιθανής μόλυνσης, η επιλογή ενός υγιούς και σε καλή γενετική κατάσταση συντρόφου είναι νευραλγικής σημασίας για κάθε αναπαραγωγικό άτομο. Η εξελικτική θεωρία συνιστά ότι κάτι τέτοιο είναι δυνατό με χρήση των λεγόμενων «ειλικρινών ενδείξεων» που μαρτυρούν την ποιότητα του ατόμου. Βρήκαμε ότι το κελάηδημα στα αρσενικά πουλιά καθορίζεται από το καθεστώς της μόλυνσης και μάλιστα επηρεάζεται με διακριτό τρόπο από κάθε διαφορετικό είδος παρασίτου, χρησιμεύοντας έτσι ως μια «ειλικρινής ένδειξη». Επιπλέον καθοριστικά χαρακτηριστικά του φτερώματος σχετίζονται τόσο με την ετεροζυγωτία σε ουδέτερους γενετικούς τόπους αλλά και με την ικανότητα του ξενιστή για αντιμετώπιση των μολύνσεων και επιτυχή αναπαραγωγή. Τα δεδομένα από τα αρσενικά άτομα υποδεικνύουν την ύπαρξη εναλλακτικών αναπαραγωγικών στρατηγικών ενώ ο έλεγχος πατρότητας με μοριακές τεχνικές παρέχει νέα στοιχεία για τον γρίφο της επιλογής των θηλυκών.

(\*) προσκεκλημένος ομιλητής



**HOST-PARASITE INTERACTIONS IN WILDLIFE: GENETIC DIVERSITY,  
HONEST SIGNALS AND MATE CHOICE IN AN IMPERFECT WORLD**

*Foufopoulos J.\**

*School of Natural Resources and Environment, Dana Building, 430 East University,  
University of Michigan, Ann Arbor, MI 48109-1115, USA*

One of the fundamental insights gained in ecology in the last 10 years centers on the tremendous diversity of parasitic organisms found in natural ecosystems and the central role they play in not only regulating the populations of their hosts but also shaping the structure and function of species communities. Despite the ubiquitous presence of parasites and pathogens in wildlife, we know little about how vertebrate hosts interact with these organisms and the role these play in host behavior, reproduction and physiology. Studying host-parasite interactions in non-human systems is important because it can: 1. advance our fundamental understanding of function of ecological communities, 2. aid in wildlife conservation programs and 3. elucidate fundamental principles of disease in ways that cannot be obtained from human systems. To answer some of these questions we investigated the effects of malaria - probably the ecologically most important group of vertebrate pathogens - on a model population of passerine birds. Avian malaria parasites (belonging to the genera *Plasmodium*, *Haemoproteus*, *Leucocytozoon*) are not only extremely widespread in wildlife communities but also have - in contrast to what previous research has indicated - important impacts on the populations of their hosts. Infected hosts reproduce less often, are less successful when they do so, and in many cases do not live as long as their uninfected counterparts. Severity of infection varies substantially between individuals and depends on host genetic diversity and effectiveness of the immune response. In light of the heavy costs of possible infection, it is therefore crucial for any reproductive individual to choose a mate that is both uninfected and in good genetic condition-evolutionary theory suggests that this should occur on the basis of 'honest signals' of individual quality. We found that infection status not only shapes song characteristics of males, but also different pathogens effect song in distinct manners, therefore suggesting that bird song constitutes such an evolutionarily honest signal of male quality. In addition, plumage characteristics correlate both with heterozygosity at selection-neutral loci, as well as with the ability to control parasite infections and overall reproductive success. While paternal provisioning data hint at the existence of alternative reproductive strategies among male birds, molecular paternity analyses also provide new information on the resulting conundrum of female choice.

*(\*) invited speaker*

**ΕΠΑΓΩΓΗ ΤΩΝ ΜΑΡ ΚΙΝΑΣΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΩΣΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ  
ΑΠΟ ΤΗ ΜΗ ΙΟΝΙΖΟΥΣΑ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ ΑΣΥΡΜΑΤΟΥ ΚΑΙ ΚΙΝΗΤΟΥ  
ΤΗΛΕΦΩΝΟΥ ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΜΥΩΝ**

**Φραγκοπούλου Α.Φ.<sup>1</sup>, Αντωνέλου Μ.Χ.<sup>1</sup>, Αγγελή Ι.Κ.<sup>2</sup>,  
Γαϊτανάκη Αικ.<sup>2</sup> και Λ.Χ. Μαργαρίτης<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Εργ. Βιοφυσικής Ακτινοβολιών, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής,

<sup>2</sup>Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο  
Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 15784, Αθήνα

E-mail: [madofrag@biol.uoa.gr](mailto:madofrag@biol.uoa.gr), [cgaitan@biol.uoa.gr](mailto:cgaitan@biol.uoa.gr), [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)

Στη παρούσα εργασία διερευνήθηκε η πιθανή ενεργοποίηση ΜΑΡ κινασών και η πρωτεϊνική καρβονυλίωση ως δείκτης οξειδωτικής τροποποίησης, σε ιστούς μυών μετά από επίδραση ακτινοβολίας κινητού και ασύρματου τηλεφώνου. Οι υπο-οικογένειες των ενεργοποιούμενων από μιτογόνα πρωτεϊνικών κινασών (ΜΑΡΚs) ERKs και JNKs έχουν πιστοποιηθεί ότι ενεργοποιούνται από πληθώρα επιπλέον ερεθισμάτων, όπως αυξητικούς παράγοντες, μηχανικό και οξειδωτικό στρες, υπερϊώδη ακτινοβολία, κ.α. Τα υπό μελέτη ζώα (n=18) χωρίστηκαν σε 3 ομάδες: (Α) ακτινοβόληση με κινητό τηλέφωνο (n=6), για 3 ώρες ημερησίως επί 8 μήνες με μέση ένταση ηλεκτρικού πεδίου 25 βολτ/μέτρο, (Β) ακτινοβόληση με βάση ασύρματου τηλεφώνου για 8 ώρες ημερησίως επί 8 μήνες (n=6) με μέση ένταση ηλεκτρικού πεδίου 4 βολτ/μέτρο, και (Γ) μη ακτινοβολημένα ζώα της ίδιας ηλικίας, φύλου και συνθηκών διαβίωσης/διατροφής (n=6). Η μελέτη κατέδειξε σημαντική αύξηση των επιπέδων φωσφορυλίωσης των κινασών και συνεπώς ενεργοποίησής τους στο ήπαρ. Ειδικότερα, η ακτινοβόληση από βάση ασυρμάτου ή από κινητό τηλέφωνο προκάλεσαν αύξηση της ενεργοποίησης των ERK1/2 κατά 3,3- και 5,5-φορές και των JNK1/2 κατά 3,2- και 4,5-φορές αντίστοιχα, σε σχέση με τους μάρτυρες. Τα επίπεδα πρωτεϊνικής καρβονυλίωσης, εμφάνισαν παθολογική αύξηση (1,5-7,7 φορές) στο 40% των ακτινοβολημένων ζώων σε τουλάχιστον έναν από τους δύο εξεταζόμενους ιστούς – εντονότερα στο μυϊκό ιστό και με ακτινοβόληση κινητού. Έτσι η μη ιονίζουσα ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία ενεργεί ως στρεσογόνος παράγοντας στο συγκεκριμένο βιολογικό μοντέλο. Βρίσκονται σε εξέλιξη πειράματα για να διαπιστωθεί εάν οι βλάβες που παρατηρούνται είναι άμεσες και αντιστρεπτές.

*Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς την Ερευνητική Ομάδα του Καθηγητή Λ.Χ. Μαργαρίτη.*

**INDUCTION OF MAP KINASES AND PROTEIN CARBONYLATION IN  
MOUSE TISSUES AFTER NON IONIZING IRRADIATION BY WIRELESS  
AND MOBILE PHONE**

**Fragopoulou A.F.<sup>1</sup>, Antonelou M.H.<sup>1</sup>, Aggeli I.K.<sup>2</sup>, Gaitanaki C.<sup>2</sup>, and L.H.  
Margaritis<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Radiation Biophysics Lab, Department of Cell Biology and Biophysics, <sup>2</sup>Department  
of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens,  
Panepistimiopolis, Athens 15784

E-mail: [madofrag@biol.uoa.gr](mailto:madofrag@biol.uoa.gr), [manton@biol.uoa.gr](mailto:manton@biol.uoa.gr), [grcgaitan@biol.uoa.gr](mailto:grcgaitan@biol.uoa.gr),  
[lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)

The probable activation of MAP kinases and the protein carbonylation, which is a widely used marker of protein oxidative modification, were investigated in tissues of mice that have been irradiated by either a mobile or a wireless phone. It has been shown that the sub-families of mitogen activated protein kinases (MAPKs), ERKs and JNKs, can be activated by various stimuli, such as growth factors, mechanical and oxidative stress ultraviolet irradiation etc. Eighteen animals were included in the present study and grouped as follows: (A) irradiation by mobile phone (n=6), with average electric field tension of 25 V/m, for 3 hours daily during an 8 month period, (B) irradiation by wireless phone (n=6), with an average electric field tension of 4 V/m, for 8 hours daily during an 8 month period and (C) non-irradiated animals (n=6) of the same age, sex and maintenance/diet conditions, with those of the irradiated groups. The study showed a statistically significant increase in the levels of phosphorylated, and consequently activated kinases, in the liver. Specifically, irradiation by a wireless or a mobile phone caused a 3.3- and 5.5-fold increase in ERKs' activation and a 3.2- and 4.5-fold increase in JNK1/2' activation respectively, in comparison to the control tissues. Furthermore, 40% of the irradiated animals exhibited pathologically increased (1.5 to 7.7-fold of the control levels) levels of protein carbonylation, in at least one of the two tissues examined (liver and crural muscle). The samples of crural muscle of mice irradiated by mobile phone exhibited the maximum increase. Hence, the non ionizing electromagnetic irradiation seems to represent a stress factor in this biological model. Additional experiments are currently in progress, in order to ascertain whether the observed defects are direct and reversible.

*This study was supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to the Research Group of Professor L.H. Margaritis*

**ΠΡΩΤΕΩΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ ΜΥΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ  
ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΗΣΗ ΜΕ ΚΙΝΗΤΟ ΚΑΙ ΑΣΥΡΜΑΤΟ ΤΗΛΕΦΩΝΟ**

**Φραγκοπούλου Α.Φ.<sup>1</sup>, Ξανθοπούλου Α.<sup>2</sup>, Παπαδοπούλου Α.<sup>2</sup>, Σαμαρά Α.<sup>3</sup>,  
Αναστασιάδου Ε.<sup>3</sup>, Τσάγκαρης Γ.Θ.<sup>2</sup> και Λ.Χ. Μαργαρίτης<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Βιοφυσικής Ακτινοβολιών, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής,  
Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιόπολις 15784, Αθήνα.

<sup>2</sup>Ερευνητική Μονάδα Πρωτεωμικής και <sup>3</sup>Εργαστήριο Γενετικής, Κέντρο Βασικής Έρευνας  
II, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών, 11527, Αθήνα.

E-mail: [madofrag@biol.uoa.gr](mailto:madofrag@biol.uoa.gr), [gthtsangaris@bioacademy.gr](mailto:gthtsangaris@bioacademy.gr), [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)

Η διερεύνηση των τυχόν επιδράσεων στον εγκέφαλο ατόμων που χρησιμοποιούν κινητό και ασύρματο τηλέφωνο έχει τύχει εντατικής, αλλά και αντικρουόμενης έρευνας. Η παρούσα εργασία αποτελεί μέρος πολυδιάστατου ερευνητικού μας προγράμματος που έχει ως στόχο τη διεξοδική και πολυεπίπεδη διερεύνηση των επιπτώσεων της ακτινοβολίας από τις συσκευές αυτές στο θηλαστικό *Mus musculus* στελέχους Balb/c, που διεθνώς θεωρείται κατάλληλο ζωικό πρότυπο για αναγωγή των αποτελεσμάτων στον άνθρωπο. Τα υπό μελέτη ζώα (n=18) χωρίστηκαν σε 3 ομάδες: (Α) ακτινοβολήση με κινητό τηλέφωνο (n=6), για 3 ώρες ημερησίως επί 8 μήνες, με μέση ένταση ηλεκτρικού πεδίου 25 βολτ/μέτρο, (Β) ακτινοβολήση με βάση ασύρματου τηλεφώνου, για 8 ώρες ημερησίως επί 8 μήνες (n=6), με μέση ένταση ηλεκτρικού πεδίου 4 βολτ/μέτρο και (Γ) μη ακτινοβολημένα ζώα της ίδιας ηλικίας, φύλου και συνθηκών διαβίωσης/διατροφής (n=6). Τα προς μελέτη τμήματα του εγκέφαλου απομονώθηκαν, καταψύχθηκαν ταχύτατα και φυλάχθηκαν στους -80°C μέχρι την επεξεργασία τους. Μετά την ομογενοποίηση, 1mg ολικής πρωτεΐνης εφαρμόστηκε σε ταινίες ισοηλεκτρικής εστίασης με pI 3-10. Ακολούθησε ηλεκτροφόρηση SDS σε πήκτωμα πολυακρυλαμίδης 12%, χρώση, σάρωση και επεξεργασία ταυτοποίησης των διαφορικά εκφραζόμενων πρωτεϊνών με φασματομετρία μάζας MALDI TOF/MS. Η μελέτη των πηκτωμάτων του πρωτεώματος από ιππόκαμπο και παρεγκεφαλίδα μυών που είχαν εκτεθεί σε ακτινοβολία κινητού σε σύγκριση με πηκτώματα μη εκτεθειμένων μυών έδειξε, ότι υπερεκφράζονται 47 και 40 πρωτεΐνες αντίστοιχα, ενώ υποεκφράζονται 38 και 37 πρωτεΐνες αντίστοιχα. Στην περίπτωση της επίδρασης οικιακού ασύρματου τηλεφώνου στον ιππόκαμπο και στην παρεγκεφαλίδα, η πρωτεωμική ανάλυση έδειξε αντίστοιχα υπερέκφραση 13 και 8 πρωτεϊνών, ενώ υποέκφραση 6 και 7 πρωτεϊνών. Διερευνάται ο ρόλος των υπερεκφραζόμενων και υποεκφραζόμενων πρωτεϊνών σε συνάρτηση με την επίδραση της ακτινοβολίας.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς την Ερευνητική Ομάδα του Καθηγητή Λ.Χ. Μαργαρίτη.

**BRAIN TISSUE PROTEOMICS FOLLOWING EXPOSURE OF MICE TO  
MOBILE PHONE AND WIRELESS PHONE RADIATION**

*Fragopoulou A.F.<sup>1</sup>, Xanthopoulou A.<sup>2</sup>, Papadopoulou A.<sup>2</sup>, Samara A.<sup>3</sup>,  
Anastasiadou E.<sup>3</sup>, Tsangaris G.Th.<sup>2</sup>, and L.H. Margaritis<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Radiation Biophysics Lab, Department of Cellular Biology and Biophysics, Faculty of  
Biology, Athens University, Panepistimiopolis, 15784 Athens

<sup>2</sup>Proteomics Research Unit and <sup>3</sup>Genetics Lab, Centre of Basic Research II, Biomedical  
Research Foundation of the Academy of Athens, 11527 Athens.

E-mail: [madofrag@biol.uoa.gr](mailto:madofrag@biol.uoa.gr), [gthtsangaris@bioacademy.gr](mailto:gthtsangaris@bioacademy.gr), [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)

The studies on the effects of mobile phone radiation upon brain function are intense and controversial. This work is part of our multilateral and multidimensional research project aiming in the understanding of the overall effects deriving from mobile phone and wireless phone exposure of lab animals such as the mouse *Mus musculus*, strain Balb/c. Eighteen animals were used divided into 3 levelly groups, a) exposed to mobile phone radiation for 3 hrs daily at a mean intensity of 25 Volts/meter for 240 days, b) exposed to wireless DECT base for 8 hrs per day for 240 days and c) sham exposed animals under the same, besides radiation, conditions. Obtained brain tissues were rapidly frozen and processed for proteomics as described elsewhere (Fountoulakis et al, J Chromat B, 2005, 819, 115-129). The proteomic analysis of hippocampus and cerebellum samples from animals exposed to mobile phone radiation revealed overexpression of 47 and 40 proteins respectively. Downregulation was observed in 38 and 37 proteins respectively. The wireless DECT base exposure resulted in the overexpression of 13 vs 8 proteins and the downregulation of 6 vs 7 proteins, in hippocampus and cerebellum respectively. The actual involvement of the affected proteins in the reaction of the animals to the electromagnetic radiation is under investigation.

*This work has been supported by the Special accounts for Research grants of Athens University to the Research Group of Professor L.H. Margaritis.*

**ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ  
ΘΑΝΑΤΟΥ ΣΤΑ ΩΘΥΛΑΚΙΑ ΕΚΤΕΘΕΙΜΕΝΩΝ ENTOMΩΝ *Drosophila  
melanogaster* ΣΕ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ GSM-900 MHz ΚΙΝΗΤΩΝ ΤΗΛΕΦΩΝΩΝ**

**Χαβδούλα Ε., Παναγόπουλος Δ., Μαργαρίτης Α.Χ.**

Εργαστήριο Βιοφυσικής ακτινοβολιών, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και  
Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιόπολις 15784, Αθήνα.  
E-mail: [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr), [dpanagop@biol.uoa.gr](mailto:dpanagop@biol.uoa.gr), [eliachav@biol.uoa.gr](mailto:eliachav@biol.uoa.gr)

Με βάση προηγούμενες μελέτες του εργαστηρίου μας, η παρατηρούμενη μείωση της αναπαραγωγικής ικανότητας της *D.melanogaster*, λόγω έκθεσής της σε GSM-900 MHz ακτινοβολία κινητών τηλεφώνων, βρέθηκε να οφείλεται στο αυξημένο ποσοστό κυτταρικού θανάτου στα κύτταρα ωθυλακίων του εντόμου. Ο επαγόμενος κυτταρικός θάνατος διαπιστώθηκε σε όλα τα είδη κυττάρων που συνιστούν τα ωθυλάκια βάσει της ανίχνευσης του αποδομημένου DNA (μέθοδος TUNEL). Εκτός από τα αποτελέσματα της θραύσης στο DNA, στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η επίδραση της GSM-900 MHz ακτινοβολίας τόσο στον κυτταροσκελετό της ακτίνης (χρώση φαλλοϊδίνης) όσο και στη μη φυσιολογική ενεργοποίηση των κασπασών (αναστολέας FITC-VAD-FMK). Σύμφωνα με προκαταρκτικά αποτελέσματα, η 6 min/day έκθεση των εντόμων στο GSM πεδίο για 3 ημέρες έχει ως αποτέλεσμα την αποδιοργάνωση του κυτταροσκελετού της ακτίνης, καθώς και την ενεργοποίηση των κασπασών στα ωθυλάκια της πρώιμης και μέσης ωογένεσης του εντόμου, στα οποία είχε βρεθεί το αυξημένο ποσοστό θρυμματισμένου DNA. Επιπλέον, η διπλή χρώση φαλλοϊδίνης-TUNEL επέτρεψε την ταυτόχρονη ανίχνευση αποδομημένου DNA και αποδιοργανωμένου κυτταροσκελετού της ακτίνης, χαρακτηριστικά που παρατηρήθηκε να συμπίπτουν στα ίδια ωθυλάκια. Τα παραπάνω αποτελέσματα παρέχουν μία ένδειξη ότι στο συγκεκριμένο βιολογικό σύστημα ένα είδος κυτταρικού θανάτου που επάγεται από τη δράση της μη-ιονίζουσας Η/Μ ακτινοβολίας των κινητών τηλεφώνων είναι η απόπτωση. Απαιτείται η επιβεβαίωση τους με περαιτέρω πειράματα και μελέτη επιπλέον χαρακτηριστικών, όπως η συμπύκνωση της χρωματίνης των πυρήνων και η ενδεχόμενη ταύτισή της με το θρυμματισμό του DNA.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς την Ερευνητική Ομάδα του Καθηγητή Α.Χ. Μαργαρίτη.

**DETECTION OF APOPTOTIC CELL DEATH FEATURES IN THE EGG  
CHAMBERS CELLS OF THE EXPOSED INSECT *Drosophila melanogaster* TO  
GSM-900 MHz MOBILE PHONE RADIATION**

*Chavdoula E.D., Panagopoulos D.J., Margaritis L.H.*

*Radiation Biophysics Lab, Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology,  
University of Athens, Panepistimiopolis 157 84, Athens. Email: [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)*

According to previous research of our laboratory, the increased percentage of the induced cell death in the egg chambers cells was found to be responsible for the previously observed decrease in the insect's reproductive capacity due to GSM-900 MHz mobile phone exposure. The induced cell death was found in all types of the egg chambers cells based on the detection of fragmented DNA (TUNEL Assay). Except for DNA fragmentation in the present study, we examined the influence of mobile phone radiation on the actin cytoskeleton organization (Rhodamine-conjugated phalloidin staining) and the possible caspase activation (FITC-VAD-FMK inhibitor). According to our preliminary results, a 6 min daily exposure of the insects to a GSM field, during the first 3 days of their adult lives, affected the organization of the actin network and induced caspase activation in the egg chambers' cells of the early and mid-oogenesis, in which the increased percentages of fragmented DNA were found. Using double staining with TUNEL and phalloidin we were able to verify the presence of both features in the same damaged egg chambers. Our findings provide some evidence that one type of cell death induced by mobile phone radiation in the examined biological system is apoptosis. The above mentioned results need to be further verified with more experiments testing other apoptotic characteristics as well, such as chromatin condensation and its possible coincidence with DNA fragmentation.

*This study was financed by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to the Research Group of Professor L.H. Margaritis.*

**ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΜΕΤΑΛΛΑΓΩΝ ΣΤΑ ΓΟΝΙΔΙΑ ΤΗΣ ΑΙΜΟΧΡΩΜΑΤΩΣΗΣ ΚΑΙ  
ΤΗΣ ΦΕΡΡΟΠΟΡΤΙΝΗΣ ΣΕ ΑΤΟΜΑ ΜΕ ΑΙΜΟΧΡΩΜΑΤΩΣΗ**

**Χαρατζά Γ.<sup>1</sup>, Παπαϊωάννου Μ.<sup>2</sup>, Κορομηλά Θ.<sup>1</sup>, Δρόσος Ι.<sup>1</sup>, Αλεπόρου- Μαρίνου  
Β.<sup>1</sup>, Κόλλια Π.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Γενετικής Ανθρώπου, Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα  
Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, <sup>2</sup>Εργαστήριο Ιατρικών Μεταγγίσεων και  
Αιμοδοσίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας,

Η αιμοχρωμάτωση (HFE) είναι μια ανωμαλία του μεταβολισμού του σιδήρου και χαρακτηρίζεται από υπερφόρτωση σιδήρου. Η κληρονομική αιμοχρωμάτωση οφείλεται σε μεταλλάξεις του HFE γονιδίου, αν και σημαντικό ποσοστό των ασθενών με HFE φέρουν μεταλλάξεις σε άλλα γονίδια, όπως το γονίδιο της φερροπορτίνης (SLC40A1), του μοναδικού κυτταρικού εξαγωγέα σιδήρου από τα εντεροκύτταρα και τα μακροφάγα. Στην παρούσα εργασία απομονώθηκε DNA από περιφερικό αίμα 34 ασθενών με πιθανή HFE και ακολούθησε ενίσχυση της DNA αλληλουχίας των γονιδίων SLC40A1 και HFE. Τα αποτελέσματα μετά την ανάλυση αλληλουχίας νουκλεοτιδίων έδειξαν ότι στο γονίδιο HFE βρέθηκε η μεταλλαγή H63D [12/34 δείγματα, 35.3%] και σε σημαντικά μικρότερο ποσοστό οι μεταλλάξεις C282Y, S65C [1/34 δείγματα (2.9%) για κάθε μία]. Ένας ασθενής ταυτοποιήθηκε διπλός ετεροζυγώτης για τις μεταλλάξεις Q127H/P160del. Επίσης, βρέθηκε ο πολυμορφισμός μιας θέσης (SNP) στην 5'UTP περιοχή (C→G, νουκλ. +113), καθώς και νέα SNPs στην 5'UTP περιοχή [ A→G] και στα εσώνια 4 [G→A, (14,7%) και T→A(2,9%)] και 6 [G→A (14,7%) και T→C (2,9%)]. Στο γονίδιο SLC40A1 ανιχνεύτηκε η ανερμηνεύσιμη μεταλλαγή [G→T, αα425 (14,7%)] και το SNP (T→C, V221, 58,8%). Νέα SNPs ταυτοποιήθηκαν στο εσώνιο 1 [G→C, 22/34 δείγματα 64,7%] και στο εσώνιο 2 (A→G/ G→C/ C→G/ A→T σε ποσοστό 2,9% το καθένα). Επίσης, προσδιορίστηκαν νέες αλλαγές που κωδικοποιούν συνώνυμο αμινοξύ (εξώνιο 3, A→G/ εξώνιο 6, G→A/ εξώνιο 7, T→A), ενώ αλλαγή στο κωδικοποιούμενο αμινοξύ δημιουργείται από τις αλλαγές A→G/ C→T/ G→T&A→C σε διαφορετικές θέσεις του εξωνίου 7. Τα παραπάνω αποτελέσματα και ιδιαίτερα οι νέες αλλαγές στο γονίδιο της SLC40A1 υποδεικνύουν την πολυπλοκότητα του μηχανισμού ρύθμισης του σιδήρου και την ανάγκη για περαιτέρω μελέτη του γονιδίου SLC40A1.



## DETECTION OF HFE AND FERROPORTIN MUTATIONS IN INDIVIDUALS WITH HEMOCHROMATOSIS

Charatza G.<sup>1</sup>, Papaioannou M.<sup>2</sup>, Koromila T<sup>1</sup>, Drosos Y<sup>1</sup>, Aleporou-Marinou V<sup>1</sup>,  
Kollia P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Athens, Department of Biology, Division of Genetics and Biotechnology,  
Laboratory of Human Genetics <sup>2</sup>University of Thessalia, Blood Bank, School of Medicine.

Hemochromatosis (HH) is a common abnormality of iron metabolism characterized by excess absorption of dietary iron. Hereditary hemochromatosis is caused by mutations of the *HFE* gene but a substantial percentage of individuals with HH carried mutations in other genes such as the Ferroportin (*SLC40A1*) gene. *Ferroportin* encodes the protein which plays a critical role exporting iron from hand gut and macrophages. In the present study, DNA was extracted from peripheral blood samples of 34 HH Greek individuals. Genomic regions encoding the whole *HFE* and *Ferroportin* genes were amplified by PCR technique. According to the sequencing results in the *HFE* gene, the mutation H63D was the most prevalent [12/34 samples, 35.3%] and in minor percentage the mutations C282Y and S65C [1/34 samples (2.9%) for each one] were found. One of the patients was characterized as double heterozygote for the mutations Q127H/P160del. Moreover, a single nucleotide polymorphism (SNP) was found in the 5'UTP region (C→G, nucleotide. +113), as well as new SNPs were detected in the 5'UTP region [A→G] and introns 4 [G→A, (14,7%) and T→A(2,9%)] and 6 [G→A (14,7%) and T→C (2,9%)]. In the *SLC40A1* gene, a nonsense mutation [G→T, αα425 (14,7%)] and one SNP (T→C, V221, 58,8%) were found. SNPs in the *SLC40A1* intron 1 [G→C, 22/34 δείγματα 64,7%) and intron 2 (A→G/ G→C/ C→G/ A→T in percentage 2,9% for each one) were found. We also detected new mutations encoding for the same aa (exon 3, A→G/ exon 6, G→A/ exon 7, T→A), while a change to the encoding aa is created by the changes A→G/ C→T/ G→T&A→C in different nucleotides of exon 7. These results, especially the changes in *SLC40A1* gene, reveal the complexity of iron metabolism and the need for further investigation of the role of *SLC40A1* gene.

**ΕΚΦΡΑΣΗ ΟΙΣΤΡΟΓΟΝΙΚΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΣΤΟ ΗΠΑΡ ΚΑΙ ΤΟΝ  
ΠΝΕΥΜΟΝΑ ΑΡΟΥΡΑΙΩΝ *Wister*. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΜΕ  
ΣΟΥΣΑΜΙ ΚΑΙ ΦΛΟΙΟ ΣΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ**

*Χ<sup>η</sup>Αγαπίου Μ., Νάσσερ Α., Παπαδόπουλος Αθ. Ι.*

*Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας ΣΘΕ ΑΠΘ*

Στα πλαίσια της προσπάθειας που καταβάλλεται στο εργαστήριό μας για την μελέτη των θετικών επιπτώσεων στην υγεία μας, των φυτικής προέλευσης φυσικών χημικών ενώσεων με οιστρογονική δράση (φυτοοιστρογόνων), προχωρήσαμε στη μελέτη της έκφρασης των οιστρογονικών υποδοχέων τύπου α και β στο ήπαρ και τους πνεύμονες αρουραίων *Wister* πριν και μετά τη χορήγηση μέσω της διατροφής σουσαμιού ή φλοιού. Για τη μελέτη μας χρησιμοποιήσαμε την μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (RT-PCR). Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας, δεν παρατηρήθηκε έκφραση των υποδοχέων τύπου β σε κανέναν από τους δύο ιστούς ενώ υποδοχέας τύπου α ανιχνεύθηκε στο ήπαρ και στα δύο φύλα (αρσενικά και θηλυκά άτομα). Στον πνεύμονα, με τα μέχρι στιγμής αποτελέσματα δεν έχει επιβεβαιωθεί ούτε και η έκφραση του υποδοχέα α. Δεν διαπιστώνονται σημαντικές ποσοτικές αποκλίσεις μεταξύ αρσενικών και θηλυκών αρουραίων σχετικά με την έκφραση του υποδοχέα α στο ήπαρ. Επίσης δεν διαπιστώθηκε σημαντική επίπτωση της χορήγησης σουσαμιού ή περιστεριού στην έκφραση του συγκεκριμένου υποδοχέα.

**OESTROGEN RECEPTORS IN LIVER AND LUNG TISSUE OF WISTER RATS.  
EFFECT OF A DIET ENRICHED IN SESAME OR ITS PERICARP UPON THEIR  
EXPRESSION**

*Hatziagapiou M., Nasser A., Papadopoulos A.I.*

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

During the recent years the beneficial effects of natural phytoestrogens upon our health is studied in our laboratory. In the present work we report on our attempt to study the expression of oestrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$  (ER $\alpha$  and ER $\beta$ ) in the liver and lung of male and female Wister rats, before and after administration of sesame or its pericarp as additives in the normal feed. For our study the RT-PCR method was employed. No expression of ER $\beta$  could be detected in both of the tissues studied while ER $\alpha$  could be detected in the liver tissue in both male and female. No significant difference at the levels of ER $\alpha$  expression was noticed. Also no significant difference between the sexes was evident as far as the expression of this receptor is concerned. According to our results, so far in, the lung tissue neither ER $\alpha$  expression could be detected.

**ΑΝΑΣΤΟΛΗ ΤΗΣ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗΣ ΤΗΣ πολυ(A) ΟΥΡΑΣ ΑΠΟ  
ΣΥΝΘΕΤΙΚΑ ΑΝΑΛΟΓΑ ΝΟΥΚΛΕΟΣΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ**

*Χατζηγεωργίου Β., Μαραγκοζίδης Π., Κυρίτσης Α., Μαντά Σ., Τσουκαλά Ε.,  
Κομώτης Δ., Μπαλατσός Ν.Α.Α., Σταθόπουλος Κ.*

*Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πλούτωνος 26,  
412 21 Λάρισα. E-mail: [cstath@bio.uth.gr](mailto:cstath@bio.uth.gr)*

Η ρύθμιση της αποικοδόμησης των mRNAs είναι ζωτικής σημασίας για το κύτταρο. Το πρώτο βήμα της αποικοδόμησης στα ευκαρυωτικά κύτταρα είναι η βράχυνση της πολυ(A) ουράς. Ένα ένζυμο-κλειδί της διεργασίας είναι η πολυ(A)-εξειδικευμένη ριβονουκλεάση, PARN. Πολλές στρατηγικές έχουν προταθεί για τη ρύθμιση του ενζύμου, όμως ελάχιστα είναι γνωστά για την επίδραση μικρών μορίων στη δραστηριότητά του. Πρόσφατα δείξαμε πως τα νουκλεοτίδια πουρινών αναστέλλουν το ένζυμο. Επίσης δείξαμε πως συνθετικά ανάλογα νουκλεοσιδίων με αντικαρκινική και αντι-ϊική δράση που φέρουν τροποποιήσεις τόσο στο σάκχαρο (φθορο-γλυκοκυτταρανοζυλικός δακτύλιος), όσο και τη βάση (αδενίνη ή κυτοσίνη που φέρουν βεζνούλ-ομάδα) είναι συναγωνιστικοί αναστολείς της PARN. Στην παρούσα εργασία, βασιζόμενοι στις προηγούμενες μελέτες μας, συνθέσαμε και χρησιμοποιήσαμε νέα ανάλογα νουκλεοσιδίων που φέρουν το ίδιο τροποποιημένο σάκχαρο και ως βάση ουρακίλη ή 5-φθοροουρακίλη, με σκοπό να βελτιώσουμε τα χαρακτηριστικά της αναστολής των νουκλεοσιδίων. Επίσης χρησιμοποιήσαμε τροποποιημένα υποστρώματα [πολυ-2'-O-(2,4-δινιτροφαίνυλ) πολυ(A), DNP-πολυ(A)] που έχουν δειχθεί να αναστέλλουν ιϊκές αντίστροφες μεταγραφάσες καθώς και αρκετές ριβονουκλεάσες. Τα αποτελέσματά μας από την κινητική ανάλυση, τον προσδιορισμό των σταθερών αναστολής ( $K_i$ ) και τη σύγκριση με προηγούμενα δεδομένα μας, δείχνουν πως τόσο τα νέα νουκλεοσίδια, όσο και το τροποποιημένο υπόστρωμα αναστέλλουν αποτελεσματικότερα την PARN από αυτά προηγούμενων μελετών μας. Επίσης δείχνουν πως η PARN θα μπορούσε να αποτελέσει ένα νέο μοριακό στόχο για την ανάπτυξη ενώσεων με θεραπευτικές ιδιότητες μέσω της ρύθμισης της αποικοδόμησης των πολυ(A) ουρών και κατ' επέκταση της σταθερότητας των mRNAs.

## INHIBITION OF poly(A) TAIL DEGRADATION BY SYNTHETIC NUCLEOSIDE AND SUBSTRATE ANALOGUES

*Chatzigeorgiou V., Maragozidis P., Kyritsis A., Manta S., Tsoukala E.,  
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](mailto:cstath@bio.uth.gr)*

The regulation mRNA degradation is one of the most critical cellular processes. The first step in mRNA degradation usually is the shortening of poly(A) tail. A key enzyme in this process is poly(A)-specific ribonuclease, PARN. Many strategies have been proposed for the regulation of the enzyme, but very few is known for the effect of small molecules in PARN activity. We have recently shown that purine nucleotides inhibit PARN. We have also shown that synthetic nucleosides with modifications both in the sugar moiety (fluoro-glucopyranosyl ring) and the base (purine or pyrimidine modified on the amine with a benzoyl-group) behave as competitive inhibitors of PARN. Moreover, these nucleosides exhibit anticancer and antiviral activity in cell cultures. Our aim is to develop new compounds in order to inhibit the enzyme more effectively. In the present work, we extended our previous studies and we synthesized new nucleosides with the same modified sugar and a uracil or 5-fluorouracil as the base moiety. We also used modified substrates [poly-2'-O -(2,4-dinitrophenyl) poly (A), DNP-poly(A)] which is a potent inhibitor of reverse transcriptases and of several ribonucleases. Detailed kinetic analysis, calculation of  $K_i$  values and comparison with our previous results showed that both the new nucleosides and the substrate analogue, can inhibit PARN more effectively than the nucleosides that we have used previously. Moreover, our results show that PARN could emerge as a new molecular target for the development of compounds with therapeutic potential through the regulation of the degradation of poly(A) tails and thus the stability of mRNAs.

**ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΑΝΑΣΤΗΜΑΤΟΣ ΜΕ ΤΗΝ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗ ΤΕΧΝΙΚΗ  
FULLY ΤΗΣ ΣΥΓΧΡΟΝΗΣ ΣΚΕΛΕΤΙΚΗΣ ΣΥΛΛΟΓΗΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ:  
ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΣΕ ΑΡΧΑΙΟΛΟΓΙΚΟΥΣ ΣΚΕΛΕΤΟΥΣ**

**Χατζώκου Δ., Πάφος Κ., Κοίλιας Χ.\* και Σ.Κ. Μανώλης**

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό &  
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 84 Αθήνα.*

*\*Τμ. Πληροφορικής, ΤΕΙ Αθήνας, Οδός Αγ. Σπυρίδωνος, Αιγάλεω,*

Ο υπολογισμός του αναστήματος εν ζωή ενός ενηλίκου ατόμου από τα μετρικά σκελετικά δεδομένα αποτελεί ένα τμήμα της βιολογικής αναπαράστασης της σωματικής κατασκευής και παρέχει μια εικόνα του μεγέθους. Η εκτίμηση του αναστήματος αποτελεί μια από τις πιο χρήσιμες αλλά και σύνθετες ερευνητικές προσπάθειες. Επίσης το ανάστημα συνδράμει αποφασιστικά στη περιγραφή της ποικιλομορφίας των αρχαίων πληθυσμών συναρτήσει του χρόνου και της γεωγραφικής θέσης, δίνοντας τη δυνατότητα σύνδεσης τέτοιων παρατηρήσεων με γενετικούς, περιβαλλοντικούς και κοινωνικο-οικονομικούς παράγοντες. Πολλοί ερευνητές σημειώνουν ότι κάθε πληθυσμός πρέπει να έχει τις δικές του εξισώσεις υπολογισμού αναστήματος. Μέχρι σήμερα για τον υπολογισμό του αναστήματος σε ελληνικούς αρχαιολογικούς σκελετούς χρησιμοποιούνταν διάφορες εξισώσεις που έχουν προέλθει από άλλους πληθυσμούς. Χαρακτηριστικό παράδειγμα οι εξισώσεις των Trotter & Gleser (1952), αλλά και το F/S ratio (Feldesman 1990). Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η κατασκευή ειδικών εξισώσεων για τον ελληνικό πληθυσμό με στόχο τον υπολογισμό του αναστήματος σε σύγχρονους αλλά και αρχαιολογικούς πληθυσμούς. Η μόνη μέθοδος που είναι αποδεκτή από το σύνολο των ερευνητών είναι η ανατομική μέθοδος του Fully (1956), η οποία εφαρμόστηκε στους σκελετούς της σύγχρονης συλλογής αναφοράς, γνωστού φύλου και ηλικίας και υπολογίστηκε το ανάστημα σύμφωνα με την αναθεώρηση της Raxter (2006). Στη συνέχεια με ανάλυση παλινδρόμησης (regression) δημιουργήθηκαν εξισώσεις υπολογισμού αναστήματος συναρτήσει του μήκους του μηριαίου και της κνήμης με άριστους συντελεστές συσχέτισης  $R^2$ . Παρατίθενται οι σχετικές εξισώσεις:

**Ανάστημα= 0,2751 X μέγιστο μήκος αριστερού μηριαίου + 36,651 ( $R^2 = 0,917$ )**

**Ανάστημα= 0,2450 X μέγιστο μήκος δεξιού μηριαίου + 50,318 ( $R^2 = 0,878$ )**

**Ανάστημα= 0,2985 X μέγιστο μήκος αριστερής κνήμης + 48,802 ( $R^2 = 0,906$ )**

**Ανάστημα= 0,2823 X μέγιστο μήκος δεξιάς κνήμης + 55,713 ( $R^2 = 0,887$ )**

Τέλος διερευνήθηκε η εφαρμογή των εξισώσεων αυτών σε αρχαιολογικούς σκελετούς και τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με εκείνα της εφαρμογής των εξισώσεων των Trotter & Gleser (1952) και Feldesman et al. (1990).

**HEIGHT ESTIMATION USING THE FULLY ANATOMICAL METHOD IN A  
MODERN GREEK SKELETAL SAMPLE (THE ATHENS COLLECTION):  
APPLICATION TO ARCHAEOLOGICAL SPECIMENS**

*Chatzokou D., Pafos K., Koilias Chr.\*, and S.K. Manolis*

<sup>1</sup>*Dept of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, National & Kapodistrian  
University of Athens, Panepistimiopolis 15784 Athens, Greece, E-mail: [smanol@biol.uoa.gr](mailto:smanol@biol.uoa.gr)*

<sup>\*</sup>*Department of Informatics, Technological Institution of Athens, Ag. Spyridonos Str,  
12210 Aegaleo Attica, Greece. E-mail: [ckoilias@teiath.gr](mailto:ckoilias@teiath.gr)*

The estimation of living stature from skeletal biometric data is a part of biological depiction of body's construction and gives an idea of its size. The stature estimation represents one of the most useful but simultaneously, an elaborate scientific attempt. Furthermore, stature is a useful tool to describe the diversity within ancient populations in connection with the time and the geographical position, giving the opportunity to connect such observations with genetic, environmental and socio-economic factors. Many scientists pinpoint that each population should have their own stature equations. Up to date, to calculate stature in Greek archaeological remains, various regressions that were come from estimations relied on other populations had been used. Equations of Trotter & Glesser (1952) and also F/S Ratio (Feldesman 1990) represent an excellent pattern. The aim of that research is the creation of specific regression equations for Greek populations with the intention of estimating the stature at modern and archaeological populations. The only method that is fully accepted by the majority of scientists is that of Fully (1956), which applied to the skeletons of the modern reference collection, where the sex and age were known. The method is revised by Raxter (2006). In addition, regression analysis created equations to estimate living stature in connection to the femur and tibia lengths with excellent correlation coefficients. These equations are

$$\text{Stature} = 0,2751 \times \text{Maximum Length of Left Femur} + 36,651 \quad (R^2=0,917)$$

$$\text{Stature} = 0,2450 \times \text{Maximum Length of Right Femur} + 50,318 \quad (R^2=0,878)$$

$$\text{Stature} = 0,2985 \times \text{Maximum Length of Left Tibia} + 48,802 \quad (R^2=0,906)$$

$$\text{Stature} = 0,2823 \times \text{Maximum Length of Right Tibia} + 55,713 \quad (R^2=0,887)$$

All in all, the application of these equations to archaeological remains is explored, and the results compared to those of Trotter & Glesser (1952) and Feldesman et al. (1990).

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΦΥΤΩΝ, ΥΔΑΤΟΣ ΒΡΑΣΜΕΝΟΥ ΣΕ  
ΦΟΥΡΝΟ ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΩΝ**

*Χειμώνας Μ.<sup>1</sup>, Ριζοπούλου Σ.<sup>1</sup>, Μαργαρίτης Λ.Χ.<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>Τομέας Βοτανικής, <sup>2</sup>Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 15784 Αθήνα  
E-mail: [srhizop@biol.uoa.gr](mailto:srhizop@biol.uoa.gr), [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)*

Μελετήθηκε η επίδραση ύδατος βρασμένου σε φούρνο μικροκυμάτων στα πρώτα στάδια ανάπτυξης του αγγουριού. Παρατηρήθηκε η φύτρωση των σπερμάτων και η ανάπτυξη των αρτιβλάστων με την παροχή ύδατος βρασμένου σε φούρνο μικροκυμάτων (3, 5, 6 και 8 min). Συγκρίσεις έγιναν με τα ποσοστά φύτρωσης και την ανάπτυξη των αρτιβλάστων αγγουριού, με σύγχρονη παροχή α) ύδατος βρασμένου σε ηλεκτρική εστία, β) ύδατος βρύσης και γ) ύδατος δις-απεσταγμένου. Σε όλες τις περιπτώσεις το βρασμένο ύδωρ αφέθηκε να ψυχθεί πριν χρησιμοποιηθεί. Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι το μικρότερο ποσοστό φύτρωσης παρατηρήθηκε σε σπέρματα που διαβρέχτηκαν με ύδωρ βρασμένο σε φούρνο μικροκυμάτων (σε 24, 30 και 48 h), ενώ τα ποσοστά φύτρωσης τείνουν να εξισωθούν μετά από πάροδο 60 h. Ενδιαφέρον παρουσιάζει η ανάπτυξη αρτιβλάστων αγγουριού από σπέρματα που είχαν φυτρώσει σε δις απεσταγμένο ύδωρ και σε ύδωρ βρασμένο σε φούρνο μικροκυμάτων. Τα αρτίβλαστα αυτά τοποθετήθηκαν σε περλίτη και ποτίστηκαν με ύδωρ βρύσης και ύδωρ βρασμένο σε φούρνο μικροκυμάτων. Όσα αρτίβλαστα ποτίστηκαν για 30-60 ημέρες με ύδωρ βρασμένο σε φούρνο μικροκυμάτων εμφάνισαν σημαντικά μικρότερη ανάπτυξη, σε αντίθεση με τα αρτίβλαστα εκείνα που αν και είχαν φυτρώσει σε ύδωρ βρασμένο σε φούρνο μικροκυμάτων όταν ποτίστηκαν με νερό βρύσης, εμφάνισαν την μέγιστη ανάπτυξη. Τα μικροκύματα αναταράσσουν τα μόρια του ύδατος, τα οποία περιστρεφόμενα αποκτούν μεγαλύτερη κινητική ενέργεια, ενώ βρίσκονται σε συντονισμό με αλλαγές που γίνονται στο ηλεκτρομαγνητικό πεδίο του φούρνου των μικροκυμάτων. Πιθανολογείται πυροδότηση διαδικασιών που ελέγχουν τα πρώτα αναπτυξιακά στάδια των φυτών, δηλαδή την επιμήκυνση των κυττάρων, την επέκταση των κυτταρικών τοιχωμάτων, την πίεση σπαργής και το υδατικό δυναμικό των ιστών.



**MICROWAVED WATER AFFECTS THE EARLY STAGE OF GROWTH  
PROCESS OF PLANT TISSUES**

*Cheimonas M.<sup>1</sup>, Rhizopoulou S.<sup>1</sup>, Margaritis L.H.<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>Department of Botany, <sup>2</sup>Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology,  
National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 157 84 Greece  
E-mail: [srhizop@biol.uoa.gr](mailto:srhizop@biol.uoa.gr), [lmargar@biol.uoa.gr](mailto:lmargar@biol.uoa.gr)*

Microwaved water affects the germination and the seedlings' development of cucumber. The seeds were placed in petri dishes with water heated to boiling on the stove, with water heated to boiling in a microwave (boiled water was used after cooling), with tap water and bidistilled water. The results show that the lower germination (in percentage) was detected in the petri dishes where seeds were placed in water heated to boiling in a microwave (for 24, 30 and 30 h); the difference in germination tends to disappear after a 60 h period, in petri dishes with microwaved water. Also, the seedling development has been influenced by the watering with microwaved water and its growth has been substantially decreased. The opposite holds true for those seedlings that were watered with tap water, though been germinated in microwaved water; in this case the maximum elongation was measured. Probably, an unknown process affects the early stages of growth mechanisms of plant tissues, triggered via either the structure or the energy of microwaved water; it seems likely that such mechanism is related with cell elongation, cell wall expansion, turgor pressure and the water potential of the tissues.

**ΚΡΑΝΙΑΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΦΥΛΟΥ ΣΕ ΣΥΓΧΡΟΝΟ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ: ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΣΕ ΠΡΟΪΣΤΟΡΙΚΑ ΚΡΑΝΙΑ**

*Χοβαλοπούλου Μ.-Ε., Γιαρδόγλου Τ., & Σ.Κ. Μανώλης*

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 84 Αθήνα, E-mail: [smanol@biol.uoa.gr](mailto:smanol@biol.uoa.gr)*

Η μελέτη του φυλετικού διμορφισμού στον ανθρώπινο σκελετό, παρουσιάζει εξαιρετικό ενδιαφέρον για την ερευνητική ομάδα Βιολογικής Ανθρωπολογίας του Τμήματος Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου τα τελευταία πέντε χρόνια. Σε αυτή τη μελέτη έχουμε ερευνήσει το φυλετικό διμορφισμό σε κρανιακές μεταβλητές. Συλλέξαμε τα κρανιακά βιομετρικά δεδομένα της σύγχρονης ανθρώπινης συλλογής αναφοράς (γνωστή ως «The Athens Collection»). Τα βιομετρικά δεδομένα αναλύθηκαν με Discriminant (STATGRAPHICS για τα Windows) και πήραμε τη σχετική εξίσωση προσδιορισμού φύλου. Η εφαρμογή αυτής της εξίσωσης στο σύγχρονο κρανιακό υλικό έδωσε ένα ποσοστό ορθού φυλετικού καθορισμού 80,47% το οποίο είναι πολύ υψηλό. Στη συνέχεια εφαρμόσαμε την εξίσωση σε κρανιακό υλικό από το νεκροταφείο Φουρνί της μεσομινωικής περιόδου (Κρήτη). Το ενδιαφέρον είναι ο χαμηλός φυλετικός διμορφισμός που παρατηρήθηκε (από μελέτη των κλασικών μορφολογικών χαρακτηριστικών). Ωστόσο στα κρανία αυτά προσδιορίστηκε το φύλο από τον τελευταίο συγγραφέα). Τα αποτελέσματα της εφαρμογής της φυλετικής εξίσωσης έδωσαν έναν υψηλό ορθό φυλετικό καθορισμό των ανδρικών κρανίων (78,26%) ενώ στα θηλυκά η κατάταξη ήταν χαμηλή (μόνο 57,14%). Συνοψίζοντας, τα αποτελέσματα δείχνουν ότι αυτή η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να καθοριστεί το φύλο σε περιπτώσεις που το κρανιακό υλικό είναι αποσπασματικό συμπληρωματικά με την παραδοσιακή μέθοδο φυλετικού καθορισμού με την εξέταση των διμορφικών μορφολογικών χαρακτηριστικών του ανθρώπινου κρανίου.

**CRANIAL SEX DETERMINATION IN MODERN HELLENIC POPULATION:  
APPLICATION TO PREHISTORIC CRANIA**

*Chovalopoulou M.-E., Giardoglou T., and S.K. Manolis*

*<sup>1</sup>Dept of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, National & Kapodistrian  
University of Athens, Panepistimiopolis 15784 Athens, Greece.*

*E-mail: [smanol@biol.uoa.gr](mailto:smanol@biol.uoa.gr)*

The study of sexual dimorphism in the human skeleton, is of major research interest for the Biological Anthropology Research Unit of the Department of Animal and Human Physiology for the last five years. In this work we have investigated the sexual dimorphism in cranial biometric variables. We collected the cranial biometric data of the modern human reference collection (collectively known as "The Athens Collection"). The biometric data analyzed by Discriminant Function Analysis (STATRGRAPHICS for Windows) and we received the relevant sexing equation. The application of this equation in the modern cranial material revealed a percentage of correct sex determination 80,47% which is very high. Thereinafter we applied the equation in an extraordinary cranial material of the Middle Minoan Fourni cemetery (Crete Island). The interest is the low observed sexual dimorphism (by the observation of the classical morphological traits). However the Fourni skulls were sexed by the last author (SKM). The results of the sexing equation's application gave an almost high correct sex determination of the male skulls (78,26%) while the correct female classification was low (only 57,14%). In summary, the results suggest that this method may be used to determine sex in situations where cranial material is fragmentary, additionally to the traditional method – sex determination by the visual inspection of the morphological dimorphic traits of the human skull).

**ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΕΝΖΥΜΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ STRESS ΣΤΟ ΠΕΠΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ  
ΤΗΣ ΣΥΝΑΓΡΙΔΑΣ (*DENTEX DENTEX*) ΜΕΤΑ ΤΗ ΣΙΤΙΣΗ ΜΕ ΣΟΓΙΑ**

Χούρη Ε.<sup>1</sup>, Χατζηφώτης Σ.<sup>2</sup>, Λάζου Α.<sup>1</sup>, Αντωνοπούλου Ε.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., 541 24 Θεσσαλονίκη

<sup>2</sup> Ινστιτούτο Υδατοκαλλιεργειών, ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε., 710 03 Ηράκλειο

Η μερική αντικατάσταση των ιχθυάλευρων (FM) με σόγια (SM) στη σίτιση της συναγρίδας, *Dentex dentex* (Chatzifotis et al., 2008) έχει αρνητικές επιδράσεις στους δείκτες αύξησης των ψαριών και αύξηση της θνησιμότητας στα άτομα που σιτίστηκαν με σιτηρέσια στα οποία είχε αντικατασταθεί 40% των FM με SM (SM40). Αντίθετα, η αντικατάσταση με 25% SM (SM25) δεν επηρέασε αρνητικά ούτε την αύξηση, ούτε την ποιότητα μυϊκού ιστού. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να μελετηθεί η μερική αντικατάσταση των FM με SM σε δείκτες καταπόνησης, όπως η πρωτεΐνη θερμικού πλέγματος (HSP70) και η κινάση p38-MAPK, αλλά και η κασπάση 3 στο πεπτικό σύστημα της συναγρίδας. Δημιουργήθηκαν τρεις ισοθερμικές και ισοπρωτεϊνικές τροφές που περιείχαν ως πηγή πρωτεΐνης αποκλειστικά το FM, το FM που αντικαταστάθηκε από SM σε ποσοστό 25% (SM25) και 40% (SM40) και σιτίστηκαν σε συναγρίδες (μέσου βάρους 39 g) για 3 μήνες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η έκφραση της HSP70 στους ιστούς του στομάχου, στην πρόσθια και στην οπίσθια μοίρα του εντέρου δεν επηρεάζεται από τα σιτηρέσια με SM συγκρινόμενα με την ομάδα ελέγχου (FM). Αντιθέτως, στο μεσαίο τμήμα του εντέρου η αντικατάσταση του FM με SM40 επάγει την έκφραση της HSP70 ( $p < 0.05$ ). Η φωσφορυλίωση της p38-MAPK, από την άλλη πλευρά, μειώνεται σημαντικά ( $p < 0.05$ ) στην πρόσθια και τη μεσαία μοίρα του εντέρου στα άτομα που σιτίστηκαν με SM25 και SM40 σε σχέση με τα άτομα της ομάδας ελέγχου (FM). Αντίθετα, στο στομάχι, η σίτιση με SM25 επάγει τη φωσφορυλίωση της p38-MAPK ( $p < 0.05$ ) σε σχέση με τα άτομα ελέγχου (FM). Τέλος, η ενζυμική δραστηριότητα της κασπάσης 3 δε διαφοροποιήθηκε στο πεπτικό σύστημα της συναγρίδας που σιτίστηκε με την SM25 τροφή από τα άτομα ελέγχου (FM). Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι η τρίμηνη σίτιση με την SM25 τροφή δεν επηρεάζει αρνητικά τον πεπτικό σωλήνα της συναγρίδας, όσο αφορά στη HSP70 και τη δραστηριότητα της κασπάσης 3.

**CHANGES OF ENZYMATIC STRESS INDICATORS ON THE DIGESTIVE  
SYSTEM IN COMMON DENTEX (*DENTEX DENTEX*) AFTER FEEDING WITH  
SOY MEAL**

*Chouri E.<sup>1</sup>, Chatzifotis S.<sup>2</sup>, Lazou A.<sup>1</sup>, Antonopoulou E.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> *Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki,  
E-mail: [eaanton@bio.auth.gr](mailto:eaanton@bio.auth.gr)*

<sup>2</sup> *Institute of Aquaculture, Hellenic Centre for Marine Research of Crete, Heraklio*

The partial substitution of fish meal (FM) with soy meal (SM) in common dentex (*Dentex dentex*) diet (Chatzifotis et al., 2008), had negative effects on fish growth parameters and increased mortality in fish fed with SM diet replaced 40% (SM40). On the other hand, the replacement of FM by SM 25% (SM25) affects neither the fish growth nor the muscle quality. The aim of the present study was to investigate the effect of partial substitution of FM by SM on stress indicators, as heat shock protein (HSP70) and p38 MAPK, as well the caspase 3 activity, on the digestive system in common dentex. Three isoprotein and isoenergetic diets were prepared containing as source of protein either FM or partial replaced FM by SM 25% (SM25) and 40% (SM40). Fish of 39g were fed with these diets for 3 months. HSP70 was not affected by the SM diets in stomach, posterior and anterior intestine compared to controls (FM). On the contrary, SM 40 enhanced the levels of HSP70 ( $p<0.05$ ) in the middle part of intestine compared to FM fishes. Furthermore, both SM25 and SM40 diets reduced the phosphorylation of p38 MAPK ( $p<0.05$ ) in the anterior and middle intestine. On the other hand, in the stomach, SM25 induced p38 MAPK phosphorylation ( $p<0.05$ ) compared to FM fish. Moreover, the enzymatic activity of caspase 3 did not change between FM and SM25 diets in the digestive system of common dentex. Thus, it appears that the SM25 diet did not affect negatively the digestive system of common dentex, at least as concerns HSP70 and caspase 3 activity.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ ΣΤΟ ΓΛΥΚΟΓΟΝΟ ΚΑΙ ΣΤΗΝ  
ΕΚΦΡΑΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΘΕΡΜΙΚΟΥ ΠΛΗΓΜΑΤΟΣ ΚΑΙ MAP ΚΙΝΑΣΩΝ  
ΣΤΗΝ ΤΣΙΠΟΥΡΑ (SPARUS AURATA)**

*Χρούμπη Σ., Καϊτετζίδου Ε., Αντωνοπούλου Ε.*

*Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας Α.Π.Θ. 541 24 Θεσσαλονίκη*

Η χαμηλή εμπορική αξία των καλλιεργούμενων ψαριών οφείλεται κυρίως στη συσσώρευση ενδομυϊκού λίπους. Κύριος ρυθμιστής του βασικού αλλά και του κυτταρικού μεταβολισμού είναι η παγκρεατική ορμόνη ινσουλίνη. Μεταβολή στις φυσιολογικές τιμές συγκέντρωσης της ινσουλίνης στο αίμα, οδηγεί σε αλλαγές στην κυτταρική φυσιολογία, προκαλώντας την έναρξη σηματοδοτικών μονοπατιών με στόχο την ομοιόσταση του κυττάρου. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης αυξημένης συγκέντρωσης της ινσουλίνης, στα επίπεδα του γλυκογόνου και των στρες πρωτεϊνών HSP70, HSP90, p38 και ERK 1/2. Έτσι, σε φυλετικά ανώριμα άτομα τσιπούρας χορηγήθηκε ινσουλίνη σε δύο δόσεις [34 U/Kg βάρους σώματος (b.w.) και 17 U/Kg b.w.], και στη συνέχεια, υπολογίστηκαν τα επίπεδα του γλυκογόνου στο ήπαρ, στο λευκό και ερυθρό μυ, καθώς και των HSP70 και 90, p38-MAPK, ERK 1/2 στο ήπαρ και τον ερυθρό μυ, 24 ώρες μετά τη χορήγηση της ορμόνης. Στο ήπαρ, μετά την εξωγενή χορήγηση ινσουλίνης παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των επιπέδων του γλυκογόνου ανεξάρτητα της χορηγηθείσας δόσης, ενώ η επίδραση της χαμηλής δόσης οδήγησε σε αύξηση της έκφρασης της HSP70, σε αντίθεση με τις HSP90, που δεν εμφανίζουν καμία στατιστική διαφορά. Καμία διαφορά δεν παρατηρήθηκε στη φωσφορυλίωση των p38-MAPK και ERK1/2 μετά την επίδραση της χαμηλής δόσης ινσουλίνης στο ήπαρ. Αντίθετα, η χορήγηση 34 U/Kg b.w. ινσουλίνης δεν προκάλεσε καμία διαφορά στα επίπεδα των παραπάνω πρωτεϊνών στο ήπαρ. Στον ερυθρό μυ δεν παρατηρείται καμία στατιστική διαφορά στην έκφραση των πρωτεϊνών HSP70, HSP90, αλλά ούτε στη φωσφορυλίωση των p38-MAPK και ERK1/2. Τέλος, τα επίπεδα του γλυκογόνου, μετά την επίδραση ινσουλίνης 34U/Kg b.w., παρέμειναν αμετάβλητα τόσο στον ερυθρό όσο και στον λευκό μυ, σε αντίθεση με την αύξηση του γλυκογόνου στον λευκό μυ μετά την εφαρμογή της χαμηλής δόσης της ορμόνης.

**EFFECTS OF INSULIN ADMINISTRATION IN GLYCOGEN AND ON THE  
EXPRESSION OF HEAT SHOCK PROTEIN AND MAP KINASE IN  
GILTHEAD SEABREAM (*SPARUS AURATA*)**

*Chroubi S., Kaitetzidou E., Antonopoulou E.*

*Department of Zoology, School of Biology, A.U.Th., Thessaloniki*

The low commercial value of the farmed fish is due mainly to the accumulation of intramuscular fat. The main regulator of both the basic and the cellular metabolism is the pancreatic hormone insulin. Changes on the physiological plasma insulin levels lead to changes on cellular physiology, causing the initiation of signalling pathways for maintaining the cellular homeostasis. The purpose of the present investigation was to study the effects of increased concentration of insulin, on glycogen levels and on the stress proteins HSP70, HSP90, p38-MAPK and ERK 1/2. Therefore, immature sea bream (*Sparus aurata*) were injected with insulin in two doses [34 U / Kg body weight (bw) and 17 U / Kg bw], and glycogen levels in the liver, in white and red muscle, as well as the expression of HSP70 and 90, pp38, pERK 1 / 2 in the liver and red muscle were measured, 24 hours after hormone administration. Exogenous insulin administration in both doses resulted in a significant reduction of glycogen in the liver, while only the lower dose increased expression of HSP70, in contrast to HSP90, which show no statistical difference compared to controls. No difference was found on the phosphorylation of p38-MAPK and ERK1 / 2 after the low dose insulin treatment compared to controls. The administration of 34 U / Kg bw insulin did not cause any difference on the hepatic protein levels. Moreover, in red muscle, no significant difference was observed neither on HSP70, HSP90, nor on the phosphorylation of p38-MAPK and ERK1/2. Finally, the levels of glycogen remained unchanged in both red and white muscle after the effect of high dose of insulin, in contrast to the effects of low dose administration in white muscle, where a glycogen increase was observed.

**ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΑΠΟ ΑΠΟΣΤΑΣΗ ΚΑΙ Η ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΠΟΛΥΜΕΣΩΝ ΣΤΗΝ  
ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ**

*Ξηρογιαννοπούλου Π.Ι., Ντζούνη Μ.Π., Τζιώτη Μ., Παπαγεωργίου Δ.,  
Βατίκαλου Γ., Μοσχογιάννη Σ.Δ., Χατζημανώλη Μ.Θ., Χατζηπολυχρόνη Χ.Π.,  
Γεωργακόπουλος Η., Γκιβίση Α., Καλαφάτη Ε., Νιώρα Μ., Πριφτάκης Δ.,  
Τζάτζου Α., Τσαγκάλοβα Γ., Τσεκούρα Α., Χριστακοπούλου Ε., Βελέντζας  
Α.Δ., Παπαδήμας Γ. και Λ.Χ. Μαργαρίτης*

*<sup>1</sup>Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ*

Τα τελευταία χρόνια γίνεται διεθνώς μια προσπάθεια αξιοποίησης των πολυμέσων στην εκπαίδευση από απόσταση μέσω διαδικτύου. Το 2000 πρωτοξεκίνησε η προσπάθεια αυτή, στον τομέα Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής όταν αναρτήσαμε στο διαδίκτυο την πρώτη ιστοσελίδα (<http://kyttariki.biol.uoa.gr>). Η προσπάθεια αυτή συνεχίζεται μέχρι σήμερα, καθώς επεκτείνεται και σε άλλους τομείς του τμήματος Βιολογίας. Προπτυχιακοί φοιτητές, ενημερώνουν καθημερινά τη νέα ιστοσελίδα (<http://multimedia.biol.uoa.gr/>), στο πλαίσιο της διπλωματικής τους εργασίας, με καταγραφές μαθημάτων (προπτυχιακών & μεταπτυχιακών), συνεδρίων και άλλων εκδηλώσεων. Με βάση στατιστικά στοιχεία που συλλέχθηκαν, μέσω ερωτηματολογίου που μοιράστηκε σε πολλούς φοιτητές Βιολογίας του Ε.Κ.Π.Α., έδειξαν ότι, μεγάλο βοήθημα αποτελεί εξίσου η χρήση CD, που μοιράζεται από την ομάδα των πολυμέσων, αλλά και η ιστοσελίδα για το διάβασμά τους. Επιτρέπουν καλύτερη επανάληψη στο σπίτι αφού έχουν παρακολουθήσει το μάθημα στη σχολή, δεν χρειάζεται να κρατούν σημειώσεις την ώρα της παράδοσης και δίνουν όλη τους τη προσοχή στον καθηγητή. Επίσης μπορούν να αναπληρώσουν τις ημέρες που χρειάστηκε να απουσιάσουν από το μάθημα. Οι περισσότεροι (83,2%) σήμερα διαθέτουν γρήγορη σύνδεση στο σπίτι, γεγονός που τους διευκολύνει στη χρήση της ιστοσελίδας. Συγκρίνοντας τα ποσοστά παρακολούθησης στα μαθήματα του Τομέα διαπιστώσαμε ότι οι καταγραφές των μαθημάτων όχι μόνο δεν αποτρέπουν τους φοιτητές από την ζωντανή παρακολούθηση, αλλά ακόμη και οι φοιτητές που δεν θα παρακολουθούσαν το μάθημα (20,4%), χρησιμοποιούν το CD ή την ιστοσελίδα για το διάβασμά τους. Απώτερος στόχος των προσπαθειών μας είναι η γενίκευση των ζωντανών εκπομπών μαθημάτων και διαλέξεων στο Τμήμα Βιολογίας, και σε άλλους τομείς, συμπεριλαμβάνοντας όσο το δυνατόν περισσότερα προπτυχιακά και μεταπτυχιακά μαθήματα καθώς επίσης και εργαστηριακές ασκήσεις που πραγματοποιούνται με καταγραφές ερευνητικών πειραμάτων, αλλά και καταγραφές επιστημονικών συνεδρίων.

*Η διατήρηση των εξυπηρετητών και η κάλυψη των αναλωσίμων καλύπτεται από τις πιστώσεις του Μ.Δ.Ε. «Εφαρμογές της Βιολογίας στην Ιατρική»*



## THE EFFECTIVE USE OF MULTIMEDIA IN DISTANT LEARNING

*Xirogiannopoulou P., Ntzouni M.P., Tzioti M., Papageorgiou D., Vatalou G.  
Moshogianni S., Chatzimanoli M., Hatzipolihroni C., Georgakopoulos E., Gkivisi  
A., Kalafati H., Niora M., Priftakis D., Tzatzou A., Tsagkalova G., Tsekoura K.,  
Christakopoulou H., Velentzas A., Papadimas G., and L.H. Margaritis*

*National & Kapodistrian University of Athens - Faculty of Biology, Department of Cell  
Biology & Biophysics, , Panepistimioupolis, Zografou 15784, Athens Greece*

The rapid evolution of technologies brought nowadays radical changes in teaching methods. Instead of producing scientists who memorize facts and mimic skills, this rapid advancement and improvement of technology has dictated that we produce individuals with high level thinking skills. In the year 2000, a great effort was made in the Department of Cell Biology & Biophysics of the University of Athens in the Biology Department, creating the first e-learning web page (<http://kyttariki.biol.uoa.gr>). Up to today, this effort of trying to keep up with the evolution in teaching methods is continued, while extending in more Departments of the Faculty of Biology. Our new web page (<http://multimedia.biol.uoa.gr/>) is daily updated by undergraduate students, with recordings of undergraduate and postgraduate courses, congresses and other events. Based on statistical elements that we collected from many students of Biology in the University of Athens, it is obvious that distance learning and the use of multimedia in education is very helpful. Both, the CD that we distribute and the web page, allow students for a better review at home, after attending a course in the classroom and paying attention to the professor because they didn't need to note down much information. Another very important issue for many of them is that they can substitute the courses they missed and even though they were absent from class; they could keep up with the professor at the next lesson. The fact that most students (83.2%) nowadays have a fast internet connection at home, makes it much easier for them to use the web page. Comparing the rates of students that prefer to attend courses of our Department, to courses of other Departments in Biology, we realized that generally students that come to class, continue to do so, which means that they use distance learning as secondary material. Those that wouldn't attend, or attend rarely (20.4%), use the CD or the web page to study for the course at home. The final objective of our efforts is the extension of live emissions of courses and lectures in more Departments in the Faculty of Biology, including as much undergraduate and postgraduate courses as possible, as well as laboratorial exercises that take place, with recordings of inquiring experiments, but also more recordings of scientific congresses.

*The maintenance of the server and the expenses of consumables that are used, are covered by the credits of the Master's Certificate in "Applications of Biology in Medicine"*

**ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΗΣ ΑΡΟΕ ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ ΤΗΣ ALZHEIMER  
ΣΕ ΕΝΑ ΜΟΝΤΕΛΟΥ ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΟΥ ΠΟΝΤΙΚΟΥ**

*Κατσούρη Α., Αναστασοπούλου Ε., Γεωργόπουλος Σ.*

*ΠΒΕΑΑ, Σωρανού Εφεσίου 4, Παπάγου 11527, Αθήνα, Ελλάδα*

Εισαγωγή: Η παρουσία του ε4 αλληλομόρφου της απολιποπρωτεΐνης Ε (ΑροΕ) αποτελεί το σημαντικότερο γενετικό παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη της νόσου του Alzheimer (AD). Ωστόσο ο μηχανισμός μέσω του οποίου η ΑροΕ συμβάλει στην παθογένεια της νόσου δεν είναι γνωστός. Η σπουδαιότητα του ρόλου της ΑροΕ στην εναπόθεση του αμυλοειδούς έχει δειχθεί σε μελέτες όπου χρησιμοποιήθηκαν διαγονιδιακά μοντέλα ποντικών Alzheimer τα οποία αναπτύσσουν αμυλοειδείς πλάκες και επίσης εκφράζουν τα ανθρώπινα αλληλόμορφα της ΑροΕ. Οι μελέτες αυτές έχουν εστιάσει στη μελέτη του ρόλου της ΑροΕ του ΚΝΣ χωρίς να εξεταστεί η συνεισφορά της περιφερικής ΑροΕ στην εξέλιξη της νόσου. Η ΑροΕ είναι μία σημαντική πρωτεΐνη του συστήματος ομοιόστασης και μεταβολισμού της χοληστερόλης στην περιφέρεια, όπου η έλλειψη της προκαλεί αθηροσκλήρωση σε διαγονιδιακά ποντίκια στα οποία έχει αδρανοποιηθεί το ενδογενές γονίδιο.

Σκοπός/Μέθοδοι: Για να εξακριβωθεί ο ρόλος της περιφερικής ΑροΕ στην παθογένεση της AD έχουμε κατασκευάσει ένα διαγονιδιακό μοντέλο ποντικού το οποίο εκφράζει το ανθρώπινο αλληλόμορφο huΑροΕ4 υπό τον έλεγχο ενός ηπατο-ειδικού υποκινητή (TTRI). Το διαγονιδιακό αυτό ποντίκι διασταυρώθηκε με ένα διαγονιδιακό μοντέλο Alzheimer (5XFAD).

Αποτελέσματα/Συμπεράσματα: Έχουμε κατασκευάσει ένα καινούριο μοντέλο διαγονιδιακού ποντικού το οποίο εκφράζει την huΑροΕ4 στην περιφέρεια αλλά όχι στον εγκέφαλο και το διασταυρώσαμε με ένα διαγονιδιακό μοντέλο Alzheimer. Στο μοντέλο αυτό στο οποίο είναι αδρανοποιημένο το ενδογενές γονίδιο της ΑροΕ, η περιφερική έκφραση της huΑροΕ4 μειώνει τα επίπεδα χοληστερόλης πίσω στα φυσιολογικά επίπεδα στον ορό του αίματος. Επιπλέον, τα προκαταρκτικά μας αποτελέσματα δείχνουν τη δυνατότητα της περιφερικής ΑροΕ να προάγει την εναπόθεση αμυλοειδούς στον εγκέφαλο. Περαιτέρω ανάλυση θα ξεκαθαρίσει τον ρόλο της περιφερικής ΑροΕ στην AD προσφέροντας έτσι ένα πιο προσιτό στόχο ο οποίος μπορεί να ρυθμιστεί και να επηρεάσει την εξέλιξη της νόσου.

---

**ROLE OF PERIPHERAL APOE IN THE PATHOGENESIS OF AD IN A  
TRANSGENIC MOUSE MODEL**

*Katsouri L., Anastasopoulou E., Georgopoulos S.*

*Biomedical Research Institute, Academy of Athens, Soranou Efessiou 4, Papagou 11527,  
Athens, Greece*

Background: Apolipoprotein E (ApoE) is a major risk factor for the development of Alzheimer's disease (AD); nevertheless the mechanism of ApoE in the pathogenesis of the disease remains unclear. The significance of ApoE in amyloid deposition has been revealed in studies using Alzheimer transgenic mice that develop amyloid plaques and express the human ApoE alleles on an ApoE deficient background. Although the role of the CNS-derived ApoE has been established the role of peripheral ApoE in AD pathology has not been evaluated.

Aim/methods: To elucidate the role of peripheral ApoE in the pathogenesis of AD, we have generated a huApoE4 transgenic mouse under a liver-specific promoter (TTRI) and crossed it with an Alzheimer transgenic mouse (5XFAD APP/PS1) on the ApoE<sup>-/-</sup> background.

Results/Conclusions: We have generated a new huApoE4 transgenic mouse model that expresses huApoE4 in the periphery and not in the brain. Expression of peripheral huApoE4 lowers cholesterol levels in the blood serum of transgenic mice. Then we crossed the TTRI-huApoE4 transgenic mice with an Alzheimer mouse model. Our preliminary data demonstrate the potential of peripheral ApoE to induce amyloid plaque formation in the brain. Further analysis is needed to establish the role of peripheral ApoE in AD thus providing an accessible target to regulate in AD pathogenesis.



# **ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ**

## **(INDEX)**

*Abusdeg Farag* 10

*Courty J.* 242

*Day A.* 200, 202

*Ducoffe A.R.* 260

*Dutrillaux B.* 54

*Østvold A.C.* 286

*Pörtner H.-O.* 16

*Quader H.* 194

*Szyszka R.* 146

*Vioque A.* 330

*Zalom F.G.* 26, 110

## A

*Αγγελή I.K.* 86, 102, 190, 192, 386

*Αγγέλου Α.-Ξ.Δ.* 310

*Αδαμάκης Σ.Ι - Δ.* 2

*Αθανασιάδου Α.* 278

*Αθανασίου Σ.* 120

*Αθανασόπουλος Α.* 4

*Αθανασοπούλου Σ.Γ.* 6

*Αϊδίνης Β.* 212

*Ακμούτσου Π.* 8, 198

*Αλεξανδρίδης Θ.Κ.* 250, 324

*Αλέξη Μ.* 10

*Αλεπόρου-Μαρίνου Β.* 32, 50, 268,  
286, 392

*Αλιμήσης Κ.* 52, 56

*Αμανατίδης Γ.* 160

*Αμίλλης Σ.* 284

*Ανάγνου Ν.* 318

*Ανασοντζής Γ.Ε.* 92, 374

*Αναστασιάδου Ε.* 318, 388

*Αναστασιάδου Χ.12*

*Αναστασίου Δ.Κ.14*

*Αναστασοπούλου Ε.* 410

*Ανέστης Α.* 16

*Αντωνικόπουλος Γ.Ν.* 38

*Αντωνέλου Μ.* 18, 386

*Αντωνιάδου Χ.* 306

*Αντωνοπούλου Ε.* 46, 72, 238, 404,  
406

*Αποστολάκος Π.* 20; 194

*Αποστολίδης Α.Π.* 246

*Αραβαντινός Γ.* 172

*Αρακλιώτη Ε.Γ.* 310

*Αργυράκη Μ.* 262

*Αργυρίδης Ν.* 128

*Αρμπή Μ.* 360

*Ασημάκης Η.Δ.* 22

*Ασπροδίνη Ε.* 24

*Αυγουστίνος Α.* 26, 372

*Αυλωνίτης Ν.* 290

## B

*Βαλάκος Ε.Δ.* 196, 316, 320, 382

*Βανταράκης Α.* 278

*Βαρθολομαίου Ε.* 28

*Βαρθολομάτος Γ.* 76

*Βασιλάκη Ε.Γ.* 30, 288

*Βασιλείου Σ.* 32

*Βασιλοπούλου Μ.* 32

*Βατίκαλου Γ.* 408

*Βγενοπούλου Π.* 34

*Βεκρέλλης Κ.* 84, 222

*Βελέντζας Α.Δ.* 30, 36, 288, 408

*Βελέντζας Π.Δ.* 30, 36, 288

*Βερίλης Π.* 38

*Βλαστός Δ.* 98

*Βλαχογιάννης Ι.Γ.* 360

*Βλαχοδήμος Κ.* 40

*Βλαχονάσιος Κ.* 100, 232, 298

*Βοργιάς Κ.Ε.* 82

*Βουκελάτου Γ.* 42

*Βουτσινάς Γ.Ε.* 14, 60, 124, 172, 318

*Βώκου Δ.* 198

**Γ**

Γαβριήλ Α. 56, 130  
Γαϊτανάκη Αικ. 86, 102, 190, 192, 320,  
386  
Γαϊτάνου Μ. 356  
Γαλάτης Β. 20, 194  
Γαληνού Μ.-Ε. 44  
Γαρμπής Σ. 84  
Γεωργακόπουλος Η. 408  
Γεωργάτος Σ. 170  
Γεωργιάδης Α. 246  
Γεωργικοπούλου Κ. 290  
Γεωργίου Γ. 56, 188, 282  
Γεωργίου Δ. 46  
Γεωργίου Ι. 76  
Γεωργίου Μ. 276  
Γεωργίου Σ. 352  
Γεωργόπουλος Σ. 48, 410  
Γεωργοπούλου Ο. 200  
Γεωργούλης Α. 50, 286  
Γιαγιά-Αθανασοπούλου Ε.Β. 310  
Γιάγκου Μ. 132, 344  
Γιαννακοπούλου Ο. 52, 56  
Γιαννιός Ι. 170  
Γιαννόπουλος Γ. 272, 314  
Γιαννούλης Θ. 54  
Γιαννούρης Ε. 108  
Γιαννούση Κ. 158, 160  
Γιαρδόγλου Τ. 402  
Γιολάρη Ε. 56, 362  
Γιουτλάκης Μ. 58, 226  
Γκένας Χ. 12, 136, 264  
Γκιβίση Α. 408  
Γκιώκας Σ. 382  
Γκιώνη Β. 60  
Γκόνου-Ζάγκου Ζ. 156  
Γκρέκα-Σπηλιώτη Β.Ε. 250, 282, 324  
Γκριτζαλης Κ.Χ. 62, 64  
Γούμενος Δ.Σ. 360

Γουρνάς Χ. 44, 284  
Γούσια Ε. 66  
Γούτας Ν. 50  
Γραμμουστιάνου Α. 68

**Δ**

Δάβανος Ν. 70  
Δεληγιάννη Δ.Δ. 140  
Δεσπότη Σ. 71  
Δήμας Κ. 318  
Δημηρόπουλος Α. 176  
Δημητριάδη Α. 74  
Δημητριάδης Β.Κ. 68, 106, 308  
Δημητριάδου Ε. 76  
Δημοπούλου Α. 42  
Δήμου Ν.Α. 78  
Διαλλινάς Γ. 44, 80, 178, 280, 284,  
374  
Διαμαντόπουλος Ι. 40  
Δραΐνας Δ. 330  
Δρίκος Ι. 82  
Δροσοπούλου Ε. 28, 372  
Δρόσος Γ. 50, 286  
Δρόσος Ι. 268, 392

**Ε**

Ελευθεριάδης Κ. 152  
Ελευθερίου Π.Ε. 2  
Εμμανουηλίδου Ε. 84, 222  
Ευθυμίοπουλος Σ. 212, 322, 378

**Ζ**

Ζαβιτσάνου Σ. 86  
Ζάγκρης Ν. 176  
Ζαρκάδης Ι.Κ. 6  
Ζαφειράτου Σ. 88  
Ζαχαριουδάκης Γ.Σ.Α. 90  
Ζέρβα Α.Π. 92  
Ζέρβας Χ. 30, 36, 288  
Ζήνωνος Ζ.Α. 94

Ζούμπος Ν. 42, 120  
Ζούρος Ε. 168  
Ζυγουρίδης Ν.Ε. 26, 110

## Η

Ηλιάδου Χρ. 354  
Ηλιόπουλος Κ. 184, 234, 236

## Θ

Θανασοπούλου Α. 318  
Θανοπούλου Ε. 42, 120  
Θανοπούλου Κ. 96  
Θεοδωρίδης Ι. 98  
Θεοδωρόπουλος Κ. 100  
Θεοδωροπούλου Μ.Κ. 336  
Θεοφιλάτος Δ. 102  
Θεοχαρίδου Α. 174

## Ι

Ιακωβίδου-Κρίτση Ζ. 262  
Ιορδανίδου Ά. 104  
Ιτζιου Α. 106  
Ιωάννου Κ. 34

## Κ

Κάγκαλου Ι. 108, 270  
Καϊτετζίδου Ε. 406  
Κακάνη Ε.Γ. 110, 372  
Καλαμπόκη Α. 112  
Καλαντίδης Κ. 200  
Καλαφάτη Ε. 408  
Καλδής Αθ. 100, 232  
Καλογεροπούλου Θ. 290  
Καλογιάννη Μ. 114  
Καλπαξής Δ. 304  
Καλφαρέντζος Φ. 250, 324  
Καπέλλος Θ.Σ. 114  
Καποδίστρια Κ. 206  
Καραγεωργίου Γ. 254

Καραγιάννη Ά. 158  
Καραγιάννης Φ. 116  
Καραμάνος Ν.Κ. 60  
Καραμπά Α. 118  
Καραμπίνα Σ. 120  
Καραμπίνας Θ. 60  
Καρβέλα Α. 250, 282, 324  
Καρίνου Ε. 122  
Καρκούλης Π.Κ. 124, 172  
Καρλετίδη Κ.Σ. 126  
Καρούδας Θ. 128, 186  
Κασιουλή Χ.Μ. 56, 130  
Καστρίτση – Καθαρίου Ι. 366  
Κατσούδη Γ.Μ. 56, 130  
Κατσούρη Α. 410  
Κατσώρης Π. 134, 242  
Κατσώρχης Θ. 4  
Καψαλά Ν. 132  
Καψάλη Α. 134  
Καψανάκη-Γκότση Ε. 156, 204  
Κεχαγιάς Γ. 250, 324  
Κιάκη Κ. 142  
Κίλιας Γ. 166, 258, 214, 274  
Κιοσσεύ Θ. 136, 264  
Κίττας Χρ. 50, 286  
Κλέτσας Δ. 60  
Κλώσσα-Κίλια Ε. 166, 214, 258, 274  
Κοϊδης Π. 174  
Κοίλιας Χ. 184, 234, 236, 398  
Κόκκαλη Χ. 138  
Κόκκινος Π.Α. 140  
Κοκοκύρης Α. 142, 144  
Κολαΐτη Ρ.-Μ. 96, 146  
Κόλλια Ι. 56, 148  
Κόλλια Π. 32, 268, 286, 392  
Κομιώτης Δ. 396  
Κομπότης Κ. 150  
Κομσέλη Ειρ.-Στ. 152  
Κοντοπούλου Χ. 154  
Κορομηλά Θ. 32, 268, 392



Κοτσακιάζη Π. 316, 382  
Κοτσίφης Α. 154  
Κουγιανού-Κουτσούκου Σ. 96, 146  
Κουλούκουσα Μ. 50, 286  
Κουλουμπής Σ.Χ. 156  
Κουνατίδης Η. 8, 158, 160, 198  
Κουρακλή Α. 278  
Κουράκλη-Συμεωνίδη Α. 42  
Κουρουνάκη Α. 132  
Κουσκούκης Α. 276  
Κουσουλάκος Σ. 130, 188, 302, 362  
Κούτσικα-Σωτηρίου Μ. 246  
Κουτσογιαννούλη Ε. 138, 162  
Κουτσομήτρον Δ. 164  
Κράιτσεκ Σ. 166  
Κρασσάκου Μ. 144  
Κρητικού Ε. 328  
Κριεμπάρδης Α. 18  
Κυριακού Ε. 168  
Κυρίτσης Α. 396  
Κυρίτσης Ν. 170  
Κυρούση Χ. 328  
Κωνσταντάκου Ε.Γ. 124, 172, 318  
Κωνσταντινίδου Κ. 174  
Κωνσταντόπουλος Κ. 176  
Κωστή Β. 178  
Κωστίδης Σ. 280  
Κωστομητσόπουλος Ν. 180  
Κωστόπουλος Γ.Κ. 182  
Κωστοπούλου Ε. 184

#### Λ

Λαζαρίδου Μ.-Ι. 186  
Λάζου Α. 104, 404  
Λαμπροπούλου Α. 56, 188  
Λαμπροπούλου Μ. 116, 206  
Λαμπροπούλου Π. 42  
Λατανιώτης Λ. 190  
Λεάνδρου Μ. 192

Λεονάρδος Ι.Δ. 12, 136, 254, 264, 270  
Λεοτσινίδης Μ. 304  
Λιβανός Π. 194  
Λινός Δ. 250, 324  
Λιούσια Β. 12  
Λίτου Ζ.Ι. 350, 380  
Λούβρου Ι. 164  
Λούκα Μ. 32  
Λουκά Π. 196  
Λουκίδης Γ. 262  
Λυγερού Ζ. 328  
Λυμπεράκης Π. 196  
Λύτρα Μ. 330

#### Μ

Μαδεμτζόγλου Δ. 8, 198  
Μαδέσης Π. 200, 202  
Μακρή Π. 204  
Μάμαλη Ε. 206  
Μαμούρης Ζ. 10, 54, 138, 154, 162,  
334, 352  
Μαντά Σ. 396  
Μαντζούτσου Β. 206  
Μανωλάκη Π. 208  
Μανώλης Σ.Κ. 88, 184, 228, 234, 236,  
276, 398, 402  
Μαραγκοζίδης Π. 396  
Μαργαρίτης Α.Χ. 18, 30, 36, 52, 56,  
84, 124, 130, 148, 172, 188,  
204, 210, 244, 288, 302, 312,  
348, 362, 370, 386, 388, 390,  
400, 408  
Μαρίνος Ε. 50  
Μαρίνου Ι. 50  
Μαριόλη Δ. 6  
Μαρκόπουλος Γ. 76  
Μαρμάρας Β.Ι. 116, 206, 360  
Μαρούλη Ε. 212  
Μαρτιμιανάκης Σ. 214

Ματθιόπουλος Κ.Δ. 26, 110, 372  
Μάτσα Ρ. 356  
Μαυραγάνη-Γσιπίδου Π. 8, 158, 160,  
198, 372  
Μαυρίδης Κ. 230  
Μαυροειδής Μ. 216  
Μαυρομαρά Π. 200  
Μαυρούλη Μ. 218, 220  
Μαυροφρύδη Όλ. 152  
Μεγαλοφώνου Π. 58, 226, 354  
Μελαχροινού Κ. 84, 222  
Μεττής Α. 56, 362  
Μικρός Ε. 280  
Μικρού Α. 6  
Μικρούλης Α. 118, 224  
Μιλάτου Ν. 226  
Μίνος Γ. 128, 186  
Μιχαήλ Δ. 228  
Μιχαηλίδης Β. 16, 342  
Μιχαηλίδου Κ. 230  
Μιχαλέτου Δ. 268  
Μλαδενόπουλος Κ. 246  
Μονοκρούσσος Ν. 142  
Μοντεσάντου Β. 364  
Μόσιαλος Δ. 352  
Μοσχογιάννη Σ.Δ. 408  
Μούγιου Ν. 232  
Μουντράκης Κ. 228, 234  
Μούτου Κ. 10, 138, 162, 352;  
Μπάγκος Π.Γ. 22, 78, 336, 350, 380,  
Μπάκου Β.Ε. 30, 36, 288  
Μπαλανίκα Α. 236  
Μπαλατσός Ν.Α.Α. 396  
Μπάλκα Ν. 332  
Μπάμιας Α. 34  
Μπάρκας Π.Γ. 52, 56, 224  
Μπαχαρίδης Π.Κ. 238  
Μπεζάς Α. 12  
Μπέης Δ. 240  
Μπέης Ι. 86, 102, 190, 192

Μπενάκη Δ. 280  
Μπίκου Μ. 330  
Μπίρμπα Χ. 242  
Μπόμπορη Δ.Χ. 46, 66, 292  
Μπορμπόλης Φ. 44  
Μπούρτζης Κ. 158, 160  
Μπούτου Ε. 82  
Μύαρη Α. 52, 56, 244  
Μυλωνάς Ι.Γ. 246  
Μυρίσσα Α. 248

## N

Νάσσερ Α. 394  
Νεοχωρίτης Κ. 262  
Νιάννου Ε. 200  
Νικηφόρου Μ. 88  
Νικόλαινας Ε. 250  
Νικολόπουλος Γ.Κ. 78  
Νιώρα Μ. 408  
Νουτσόπουλος Δ. 76  
Νταϊλιάνης Σ. 252  
Ντάκης Α. 254  
Ντάλλας Κ. 42  
Ντέντος Σ.Γ. 256  
Ντζούνη Μ.Π. 56, 348, 408  
Ντόβα Χ.-Κ. 258

## Ξ

Ξανθοπούλου Α. 388  
Ξηρογιαννοπούλου Π.Ι. 408  
Ξυλούρη Μ. 348

## Ο

Οικονομίδης Π.Σ. 254  
Οικονομίδου Β.Α. 126, 294, 366, 376  
Οικονομοπούλου Μ.Θ. 262  
Οικονόμου Α. 264  
Οικονόμου-Petersen Ε. 18  
Οικονόμου-Αμίλλη Α. 164

**Π**

Παγιούλα Α. 266  
Παναγάκος Α. 266  
Παναγιωτίδης Π. 364  
Παναγιώτου Κ. 174  
Παναγόπουλος Δ. 390  
Παντερής Ε. 2, 20, 150, 346  
Παντζαρτζή Χ. 28  
Παπαβασιλείου Σ. 88  
Παπαγεωργίου Α. 268  
Παπαγεωργίου Γ. 178  
Παπαγεωργίου Δ. 408  
Παπαδήμας Γ. 408  
Παπαδημητρίου Θ. 12, 270  
Παπαδημητρόπουλος Μ.-Ε. 272  
Παπαδόπουλος Α.Ι. 74, 394  
Παπαδόπουλος Ν. 160  
Παπαδόπουλος Σ. 60  
Παπαδοπούλου Α. 388  
Παπαδοπούλου Σ. 218  
Παπαευγενίου Ν. 226  
Παπαζαφείρη Π. 152, 290  
Παπαϊωάννου Μ. 392  
Παπαϊωάννου Χ. 274  
Παπαναστασίου Α.Δ. 6  
Παπαναστασόπουλος Κ. 276  
Παπανδρέου Ν.Χ. 126  
Παπασιδέρη Ι.Σ. 18, 30, 36, 288  
Παπαστεργιάδου Ε. 108, 208  
Παπαχατζοπούλου Α. 278  
Παπαχριστοδούλου Α. 280  
Παπαχριστοφόρου Χ. 88  
Πάπιστας Α. 254  
Παππά Α. 282  
Πασπαλιάρης Β. 284  
Πασχαλίδου Α. 158, 160  
Παταργιάς Θ. 286  
Πατρινός Γ. 278  
Παυλίδης Α. 284  
Πάυλου Μ. 286

Πάυλου Μ.-Α. 32  
Παφίλης Π. 196, 260, 316, 320, 382  
Πάφος Κ. 398  
Περδικάρη Α.Σ. 30, 288  
Περιστέρη ΕΛ. 290  
Πεταλά Μ. 144  
Πετρίκη Ο. 292  
Πετρονικολού Ν.Κ. 294  
Πετροπούλου Π. 296  
Πετροπούλου Χ.Γ. 112  
Πετροντσά Ε.Ι. 228  
Πέττα Ι. 248  
Πεχλιβάνη Ν. 298  
Πολάτογλου Ε. 262  
Πουλακάκης Ν. 300  
Πρέκα Κ.Π. 30, 288  
Πριφτάκης Δ. 408  
Προύσαλη Α. 302  
Πυθαροπούλου Σ. 304  
Πώρρα Μ. 306

**Ρ**

Ραδέα Κ. 164  
Ραφτοπούλου Ε.Κ. 308  
Ριζοπούλου Σ. 4, 296, 400  
Ροβάτσος Μ.Θ. 310  
Ροδάκης Γ.Κ. 168  
Ρουμελιώτη Φ. 56, 312  
Ρουμελιώτης Θ. 84  
Ρουμπελάκη Μ. 318  
Ρούμπος Χ. 332  
Ρουσσίδης Α.Ε. 60  
Ρούσσου Η.Γ. 314  
Ρούτσιας Ι. 218, 220  
Ρουφίδου Χ. 72  
Ρόχας Χιλ Α.Π. 250, 282, 324

**Σ**

Σαγώνας Κ. 316

Σαζακλή Ε. 304  
Σαμαρά Α. 318, 388  
Σαμαρά Π.34  
Σαμκινίδου Ε. 282  
Σαραφίδου Θ. 54, 138, 154, 162, 334  
Σεραφείδης Ν. 110  
Σέττα-Καφφετζή Ν. 318  
Σιβροπούλου Α. 122, 174, 298  
Σίμου Χ. 196, 320  
Σκορίλας Α. 230  
Σκουλικίδης Ν.Θ. 64  
Σκούρας Ζ.Γ. 28  
Σκούφας Γ. 266  
Σλάβη Ν. 322  
Σμαΐλη Μ. 324  
Σοφianoπούλου Β. 326  
Σπάθας Δ.Χ. 70  
Σπανάκης Ν. 218, 220  
Σπέλλα Μ. 328  
Σταθόπουλος Κ. 396  
Σταθοπούλου Π.Μ. 92, 374  
Στάικου Α. 342  
Σταμάτης Κ. 54, 138, 154, 162, 334  
Σταματοπούλου Β. 330  
Σταμόπουλος Δ. 332  
Σταμούλης Κ. 18, 334  
Σταμπολάκης Χ.Κ. 336  
Στασινοπούλου Μ. 302  
Σταύρου Ε. 278  
Στεργίου Κ. 46  
Στεφανής Α. 84, 222, 338  
Στεφανίδης Κ. 108  
Στραβοπόδης Δ.Ι. 14, 30, 36, 124,  
172, 288, 318  
Συμεωνίδης Α. 42, 120  
Σύρρου Μ. 76  
Σφενδουράκης Σ. 214, 258, 274  
Σωτηρίου Σ.Χ. 38

**T**

Ταραβήρας Σ. 328, 340  
Ταχτατζής Γ.Κ. 342  
Τερζούδη Γ. 370  
Τέστα Θ. 132, 344  
Τζαβάρας Θ. 76  
Τζάτζου Α. 408  
Τζιούτζιου Ν. 346  
Τζιώτη Μ., 408  
Τζούνη Μ. 84  
Τομάζου Μ.Ε. 350  
Τόσκα Ε. 352  
Τουμπέκη Χ. 330  
Τουραπή Χρ. 354  
Τράστα Α. 356  
Τσαγκάλοβα Γ. 408  
Τσάγκαρης Γ.Θ. 358, 388  
Τσάκας Σ. 360  
Τσακρής Α. 218, 220  
Τσαντές Α.Ε. 78  
Τσαρδακάς Ν. 332  
Τσαυτάρης Α. 200, 202  
Τσαχάκη Μ. 322, 378  
Τσεκούρα Α. 408  
Τσιάκα Μ. 56, 362  
Τσιάμης Κ. 364  
Τσιάνος Β. 366  
Τσιάπαλης Δ. 330  
Τσιατάς Μ. 34  
Τσίκλιρας Α. 254  
Τσιόπτσας Κ. 174  
Τσιρίκα Α. 266  
Τσιρώνης Ι. 368  
Τσιτσιλώνη Ο. 34  
Τσόγκα Ε. 370  
Τσολερίδης Κ.Α. 262  
Τσουκαλά Ε. 396  
Τσουμάνη Κ.Τ. 110, 372

**Φ**

Φαράγκ – Χενίν Φ.Ι. 374  
Φειδά Δ. 376  
Φερτάκης Β. 42  
Φετάνη Α. 378  
Φιμερέλη Δ.Κ. 380  
Φίρμπας Π. 382  
Φλυτζάνης Κ.Ν. 94, 112, 248, 368  
Φουντουλάκη Ε. 238  
Φουφόπουλος Ι. 260, 384  
Φραγκοπούλου Α.Φ. 56, 130, 188,  
302, 362, 386, 388  
Φράγκου Α. 278  
Φραντζιός Γ. 8, 198  
Φωτοπούλου Σ. 212

**Χ**

Χαβάκη Σ. 50, 286  
Χαβδούλα Ε. 52, 56, 148, 244, 312,  
390  
Χαμόδρακας Σ.Ι. 22, 78, 126, 294,  
336, 350, 376, 380

Χαρατζά Γ. 392  
Χατζηαγαπίου Μ. 394  
Χατζηγεωργίου Β. 396  
Χατζημανώλη Μ.Θ. 408  
Χατζηνικολάου Δ.Γ. 92, 156, 374  
Χατζηπολυχρόνη Χ.Π. 408  
Χατζηφώτης Σ. 72, 404  
Χατζοπούλου-Κλαδαρά Μ. 104  
Χατζώκου Δ. 398  
Χειμώνας Μ. 400  
Χιντήρογλου Χ. 306  
Χοβαλοπούλου Μ.-Ε. 228, 402  
Χούρη Ε. 404  
Χουσιάδας Χρ. 152  
Χριστακοπούλου Ε. 408  
Χριστοδούλου Μ. 354  
Χριστοπούλου Μ. 176  
Χρούμπη Σ. 406

**Ψ**

Ψαρροπούλου Κ. 118, 224