

Hellenic Society
for Biological Sciences

Ελληνική Εταιρεία
Βιολογικών Επιστημών

26^ο επιστημονικό συνέδριο
26^ο scientific conference

ΠΡΑΚΤΙΚΑ
PROCEEDINGS

27-30 Μαΐου 2004

May 27-30, 2004

Βόλος-Volos

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



Υπό την αιγίδα των Πανεπιστημίων
Αθηνών και Θεσσαλίας



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

**26° ΕΤΗΣΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ
26th ANNUAL CONFERENCE**

**ΠΡΑΚΤΙΚΑ
PROCEEDINGS**

**27^η – 30^η Μαΐου 2004
May 29 – 30, 2004**

**ΒΟΛΟΣ
VOLOS, GREECE**

ISBN: 960-87324-2-5

ISSN: 1109-4885

© Ελληνική Εταιρεία Βιολογικών Επιστημών, 2004

**Εκτυπώθηκε στο Εκτυπωτικό Κέντρο του
Εθνικού & Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών,**

ΧΟΡΗΓΟΙ - SPONSORS

**Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών**

**Νομαρχιακή Αυτοδιοίκηση Μαγνησίας
Δήμος Βόλου
Δήμος Νέας Ιωνίας Βόλου**

BIOSURE – R & T Cell Co.

BIORAD

METROLAB

Π. ΜΠΑΚΑΚΟΣ Α.Ε.

S.B. Biotechnology Suppliers A.E.

LAB SUPPLIES

MAGENTA Ε.Π.Ε.

ΙΑΤΡΙΚΕΣ ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΛΙΤΣΑΣ

ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΠΑΡΙΣΙΑΝΟΥ Α.Ε.

ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΝΕΩΝ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ

NATIONAL GEOGRAPHIC (Ελληνική έκδοση)

SCIENTIFIC AMERICAN (Ελληνική Έκδοση)

Ranamed – Μιχαήλ Κ. Τσικαλάκης

Διοικητικό Συμβούλιο Ε.Ε.Β.Ε. (2003-2005)
Hellenic Society for Biological Sciences Board (2003-2005)

Πρόεδρος :	Καθηγητής Λουκάς Χ. Μαργαρίτης
Αντιπρόεδρος :	Καθηγητής Βασίλης Μαρμάρας
Γενικός Γραμματέας :	Επικ. Καθηγητής Βασίλης Γαλανόπουλος
Ταμίας :	Επικ. Καθηγητής Σωτήρης Κ. Μανώλης
Μέλη :	Καθηγήτρια Αντιγόνη Λάζου Αν. Καθηγήτρια Π. Μαυραγάνη-Τσιπίδου Αν. Καθηγήτρια Μαρία Λαμπροπούλου

Οργανωτική Επιτροπή
Organizing Committee

Πρόεδρος	Καθηγητής Λ.Χ. Μαργαρίτης
Αντιπρόεδρος Α'	Καθηγητής Β. Μαρμάρας
Αντιπρόεδρος Β'	Καθηγήτρια Αντιγόνη Λάζου
Γενικός Γραμματέας	Αναπλ. Καθηγητής Σ.Λ. Κουσουλάκος
Ειδικός Γραμματέας	Αναπλ. Καθηγητής Ζ. Μαμούρης
Ταμίας	Επικ. Καθηγητής Σ.Κ. Μανώλης
Μέλη	Καθηγητής Θ. Παταργιάς Καθηγητής Ν. Μοσχονάς Αναπλ. Καθηγητής Γ. Ροδάκης Αν. Καθηγήτρια Μ. Λαμπροπούλου Επικ. Καθηγήτρια Κ. Μούτου Λέκτορας Αιμ. Ζίφα

Τοπική Οργανωτική Επιτροπή
Local Organizing Committee

Πρόεδρος	Καθηγητής Β. Μπαγιάτης, Πρύτανης ΠΘ
Αντιπρόεδρος	Καθηγητής Ν. Σταθάκης
Γενικός Γραμματέας	Αναπλ. Καθηγητής Ζ. Μαμούρης
Μέλη	Επικ. Καθηγήτρια Κ. Μούτου Λέκτορας Αιμ. Ζίφα

- 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
Ειρήνη Πετρουτσά

Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΠΡΟΣΦΩΝΗΣΗ
ΤΟΥ ΠΡΟΕΔΡΟΥ ΤΗΣ ΟΡΓΑΝΩΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ
ΤΟΥ 26^{ου} ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΥ ΣΥΝΕΔΡΙΟΥ,
ΚΑΘΗΓΗΤΗ ΛΟΥΚΑ Χ. ΜΑΡΓΑΡΙΤΗ

Αγαπητοί Συνάδελφοι,

*Το 26^ο ετήσιο Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών διοργανώνεται στην καρδιά της Κεντρικής Ελλάδας, στην πρωτεύουσα της όμορφης Μαγνησίας την **Ολυμπιακή πόλη του Βόλου**, από 27-30 Μαΐου 2004.*

Η επιλογή του Βόλου που είναι και η έδρα του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, ως τόπου διεξαγωγής του Συνεδρίου, ήταν αρκετά δύσκολη, γιατί έπρεπε να διατηρήσουμε το ενδιαφέρον συμμετοχής αμείωτο, μετά τις επιτυχημένες εξόδους της ΕΕΒΕ στο Πυθαγόρειο της Σάμου (1998), στο Γαλησσά της Σύρου (1999), στη Σκιάθο (2000), στη Χίο (2001), στην Ερέτρια (2002) και Μυτιλήνη (2003).

Πέρασαν 10 ολόκληρα χρόνια !!! Το 1994 το συνέδριο έλαβε χώρα στα αμφιθέατρα του νεοσύστατου τότε Πανεπιστημίου Θεσσαλίας με την αμέριστη βοήθεια των συναδέλφων-μελών ΔΕΠ του Παν/μίου της Θεσσαλίας Χ. Γούλα, ..., Γαλανοπούλου, Ζ. Μαμούρη (που είναι ενεργό μέλος και της τωρινής Οργανωτικής Επιτροπής). Εκείνη η χρονιά ήταν σημαντική για την ιστορία της Εταιρείας, αφού για πρώτη φορά τα Πρακτικά δόθηκαν κατά την έναρξη των εργασιών του συνεδρίου. Κάτι που το τηρούμε από τότε...

Ελπίζουμε ότι και φέτος η παράδοση θα συνεχιστεί, αφού ήδη οι συμμετοχές ξεπέρασαν το περυσινό επίπεδο (περίπου 190 εργασίες είτε προφορικές είτε αναρτώμενες ανακοινώσεις). Είναι εκπληκτικό ότι ενώ γράφεται αυτό το κείμενο με πληροφροούν ότι έρχονται συνεχώς και νέες περιλήψεις. Ακόμη είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι, ο αριθμός των μεταπτυχιακών και προπτυχιακών φοιτητών που συμμετέχουν τα τελευταία χρόνια αυξάνει συνεχώς, και αυτό είναι ελπιδοφόρο αφού έρχονται σε επαφή μεταξύ τους καθώς και με άλλα μέλη ΔΕΠ κι ερευνητές, γνωρίζοντας από κοντά τις δραστηριότητες στα βιολογικά ερευνητικά πεδία.

*Το συνέδριο, ως συνήθως, διακρίνεται σε δύο ενότητες, τις προφορικές παρουσιάσεις (II κύριες ομιλίες και 39 σύντομες ανακοινώσεις) και τις αναρτώμενες εκθέσεις (posters) που ανέρχονται σε 133 (!). Ακόμη έχει προγραμματιστεί, μια στρογγυλή τράπεζα με θέμα «**Το παρόν και το μέλλον της Βιολογικής έρευνας και εκπαίδευσης στην Ελλάδα**». Τέλος έχει προγραμματιστεί **ειδική τελετή** προς τιμήν διακεκριμένων επιστημόνων της Ελληνικής Βιολογικής κοινότητας-μελών της Ε.Ε.Β.Ε.*

Η Οργανωτική Επιτροπή οφείλει να ευχαριστήσει τους τοπικούς παράγοντες, ιδιαίτερα τον Νομάρχη Μαγνησίας κ. Ιωάννη Πρίντζο, τον Δήμαρχο Βόλου κ. Κυριάκο Μήτρου και τον Δήμαρχο Νέας Ιωνίας Βόλου κ. Στέφανο Φούσκη για τη αμέριστη βοήθειά τους στην οργάνωση του 26^{ου} Συνεδρίου, καθώς επίσης και τους χορηγούς. Καλωσορίζω τους Συνέδρους και τους εύχομαι καλή επιτυχία και ευχάριστη διαμονή.

ΜΙΑ ΜΙΚΡΗ ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΠΟΤΙΜΗΣΗ (Β΄ ΜΕΡΟΣ)

Σοφία Ριζοπούλου, Λουκάς Μαργαρίτης
Τμήμα Βιολογίας, Ε. Κ. Πανεπιστήμιο Αθηνών

Όταν φτάνει ο Μάης, στα Τμήματα Βιολογίας των Ελληνικών Πανεπιστημίων υπάρχει μια αναταραχή, μια αέναη κίνηση δασκάλων και διδασκομένων ανάμεσα σε γραφεία, διαδρόμους, εργαστήρια, μια περιρρέουσα συζήτηση για το συνέδριο. Οι υπολογιστές και οι εκτυπωτές ανάβουν κι ο χρόνος παραμονής στη σχολή παραβιάζεται ασύστολα.

Κάθε Μάη, χρόνια τώρα, εκεί προς το τέλος του μήνα, λίγο πριν την εξεταστική, όλοι περιμένουν το συνέδριο της Ε.Ε.Β.Ε. Κάτι σαν αναμέτρηση μεταξύ προετοιμασίας κι αποτελέσματος. Κάτι σαν επίσημη εκδρομή των Βιολόγων λίγο πριν τη λήξη του ακαδημαϊκού έτους – στο δρόμο που χάραξε ο Πανταζής πριν 65 χρόνια. Κάτι αόρατο κι εύθραυστο, σαν την εμπιστοσύνη της καρδιάς κι όχι μόνο της γνώσης, συγκεντρώνει το ενδιαφέρον των Ελλήνων Βιολόγων, φοιτητών, φοιτητριών, ερευνητών, καθηγητών κάθε βαθμίδας. Κάτι σαν την τελευταία πράξη ενός έργου, με ρόλους πρώτους, δεύτερους, αφανείς, αόρατους που επαναλαμβάνεται χωροχρονικά, απαιτώντας ακρίβεια, αποτελεσματικότητα, αυστηρότητα, σαφήνεια, αλλά κι ελληνικό πνεύμα, δράμα, φαντασία, αντοχή κι ελιγμούς της τελευταίας στιγμής. Και, ω του θαύματος, τυπώνονται Πρακτικά και Πρόγραμμα, πριν την έναρξη του Συνεδρίου!

Η Ελληνική Εταιρεία Βιολογικών Επιστημών ξεκίνησε την πορεία της πριν από 28 χρόνια, σε στενό κύκλο διακεκριμένων επιστημόνων από το χώρο της Βιολογίας. Στα χρόνια που μεσολάβησαν διευρύνθηκε και με τη συμμετοχή νεώτερων επιστημόνων, που θεραπεύουν την επιστήμη της Βιολογίας και άρχισε μια επικοινωνία σ' ετήσια βάση.

Στα συνέδρια αυτά οι βιολόγοι, φοιτητές και φοιτήτριες, προπτυχιακοί και μεταπτυχιακοί ακούν για πρώτη φορά, επιτεύγματα της επιστήμης που σπουδάζουν. Πόσο κοντά στη βασική γνώση και στις εφαρμογές της είναι η εργαστηριακή πραγματικότητα; Κάποιοι ονειρεύονται, άλλοι σχεδιάζουν, μερικοί προετοιμάζονται κι οι πιο μεθοδικοί στοχεύουν. Κάποιοι άλλοι είναι απόντες, αλλά νοερά είναι κοντά στους συνέδρους.

Κάθε χρόνο το Συνέδριο γίνεται σε διαφορετικό τόπο, έχει διαφορετική χροιά, άλλη ατμόσφαιρα. Σημασία έχει η δουλειά που παρουσιάζεται με ανακοινώσεις, αναρτώμενες παρουσιάσεις (posters), συζητήσεις επίσημες μέσα στην αίθουσα, ανεπίσημες έξω από αυτή, ακόμα και στα μπαράκια.

Φέτος, το 26^ο Συνέδριο πραγματοποιείται στο Βόλο. Από εδώ ξεκίνησαν οι Αργοναύτες κι έφτασαν ως την Κολχίδα (στη σημερινή Γεωργία), επειδή ο Βασιλιάς της ήταν ο κάτοχος του χρυσόμαλλου δέρατος. Σαν μέσα από το μύθο της αργοναυτικής εκστρατείας, οι άνθρωποι συνεχίζουν να κινούνται ανιχνεύοντας. Πολλά χρόνια αργότερα ο Θεόφιλος βρέθηκε από τη Λέσβο

στον Άνω Βόλο ζωγραφίζοντας (υπάρχει το Μουσείο-σπίτι). Έτσι και οι Έλληνες Βιολόγοι σήμερα, με τα συνέδρια της Ε.Ε.Β.Ε. «μετακινήθηκαν» από τη Λέσβο (25^ο Συνέδριο - 2003) στο Βόλο (26^ο Συνέδριο - 2004) ανακοινώνοντας τα έργα τους (υπάρχει το βιβλίο των Πρακτικών).

Η ολυμπιακή (για το 2004) πόλη του Βόλου σα να στεφανώνεται από το Πήλιο. Εκεί έζησε ο Κένταυρος και εξακολουθούν να φύονται όλα τα στεφανωματικά κατά τον Θεόφραστο φυτά των Ολυμπιακών αγώνων η δάφνη, η ελιά, η μυρτιά και πολλές μηλιές, ως τις μέρες μας.

Στις μέρες μας, εκτός από τις *παράλιες* (διακοπών), το μαγευτικό Πήλιο, τη φυτική παραγωγή (κυρίως), την κίνηση στο λιμάνι και τα γνωστά τσιπουράδικα, η περιοχή συμβάλλει στα θέματα και στις αναζητήσεις της Ανώτατης Εκπαίδευσης και Έρευνας με τα νέα Τμήματα του *Πανεπιστημίου Θεσσαλίας*.

- Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος
- Γεωπονίας Ζωικής Παραγωγής και Υδάτινου Περιβάλλοντος
- Παιδαγωγικό Δημοτικής Εκπαίδευσης
- Παιδαγωγικό Προσχολικής Εκπαίδευσης
- Παιδαγωγικό Ειδικής Αγωγής
- Ιστορίας Αρχαιολογίας και Κοινωνικής Ανθρωπολογίας
- Μηχανικών Χωροταξίας Πολεοδομίας και Περιφερειακής Ανάπτυξης
- Μηχανολόγων Μηχανικών Βιομηχανίας
- Πολιτικών Μηχανικών
- Αρχιτεκτόνων Μηχανικών
- Μηχανικών Ηλεκτρονικών Υπολογιστών Τηλεπικοινωνιών και Δικτύων
- Οικονομικών Επιστημών

Ευχόμαστε νάναι το συνέδριο και φέτος, όπως ήταν και τις άλλες χρονιές, ευκαιρία για γόνιμες συζητήσεις, μελλοντικές συνεργασίες, στοχασμούς, για δημιουργική αναδρομή στο παρελθόν, αντικειμενική απεικόνιση του παρόντος και γόνιμος σχεδιασμός για το μέλλον.

Σοφία Θ. Ριζοπούλου, Λουκάς Χ. Μαργαρίτης
Αθήνα, Μάιος 2004



CHEMICON

Αντισώματα, ELISA kits, PCR kits



MOLECULAR PROBES

Φθορίζουσες ενώσεις και kit για ανοσοφθορισμό, φλουορόμετρο κτλ.



MACHERY-NAGEL

Kit για απομόνωση και καθαρισμό Plasmid, Genomic και Viral DNA - RNA
Μεμβράνες Υβριδισμού Blotting Paper



HT BIOTECHNOLOGY

Modifying Enzymes
DNA MW Markers
Biochemicals (Agarose, IPTG, X-Gal, dNTPs)



KISKER

Πλαστικά αναλώσιμα (tips, epp.microtubes, κλπ), στατώ για σωληνάρια, cryoboxes
Κασσέτες αυτοραδιογραφίας, screens, films Μικροσυσσκευές

LAB SUPPLIES

ΑΝΤΙΠΡΟΣΩΠΕΙΕΣ ΕΙΣΑΓΩΓΕΣ & ΕΜΠΟΡΙΟ
ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΚΑΙ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ

Ιοφώντος Ι, 11634 Αθήνα

τηλ / φαξ : 210-72 94 603

E-mail: labsupplies@groovy.gr



SEIKAGAKU AMERICA

TAKARA

SEIKAGAKU
Carbohydrates

TAKARA
Molecular Biology, Cell Biology,
Glycobiology κλπ.



CAYMAN
Ερευνητικά ELISA kits
Διάφορες ουσίες για ερευνητική χρήση



FINNZYMES
DyNAzyme Taq Polymerase
DyNAzyme EXT
Phusion High Fidelity DNA Polymerase
RT-PCR kits (με AMV ή MMLV RNase H')



GENHUNTER
Προϊόντα για Differential Display



Avanti[®]
POLAR LIPIDS, INC.

AVANTI POLAR LIPIDS

Λιπίδια

LAB SUPPLIES

**ΑΝΤΙΠΡΟΣΩΠΕΙΕΣ ΕΙΣΑΓΩΓΕΣ & ΕΜΠΟΡΙΟ
ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΚΑΙ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ**

Ιοφώντος Ι, 11634 Αθήνα
τηλ / φαξ : 210-72 94 603

E-mail: labsupplies@groovy.gr

ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ

ABSTRACTS

**ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥΣ ΣΤΗΝ
ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ ΤΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ – Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΩΝ ΥΓΡΩΝ
ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΕΛΑΙΟΤΡΙΒΕΙΩΝ****Αγγελόπουλος Κ.¹, Παρασκευά Χ.^{2,3}, Κανελλοπούλου Δ.^{2,3}, Τενέντες Γ.¹,
Σταματελοπούλου Κ.¹, Κουτσούκος Π.^{2,3}**¹Τμήμα Βιολογίας, ²Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Πατρών,
Πανεπιστημιόπολη, Ρίο Αχαΐας, ΤΚ 26504³Ερευνητικό Ινστιτούτο Χημικής Μηχανικής και Χημικών Διεργασιών Υψηλών
Θερμοκρασιών, Πλατάκι Αχαΐας, ΤΚ 26504

Θα παρουσιαστούν δεδομένα που ενθαρρύνουν την προοπτική αξιοποίησης κλασμάτων υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων στην προστασία των καλλιεργειών. Τα τελευταία χρόνια διαπιστώνεται η ανάγκη να χρησιμοποιούνται φυτικής προέλευσης εκχυλίσματα για την αντιμετώπιση ανταγωνιστικών ειδών που μειώνουν τις αποδόσεις των καλλιεργειών σε αντικατάσταση των ήδη χρησιμοποιούμενων αγροχημικών που ρυπαίνουν το περιβάλλον. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται και τα ζιζανιοκτόνα που χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση της αυτοφυούς βλάστησης (ζιζάνια) στις καλλιέργειες. Στις περισσότερες περιπτώσεις τα φυτικά εκχυλίσματα περιέχουν ενώσεις που είναι προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού των φυτών. Μεταξύ αυτών είναι διάφορες φαινολικές ή πολυφαινολικές ενώσεις. Χημική ανάλυση των υγρών αποβλήτων από ελαιοτριβεία έδειξε ότι περιέχουν κλάσματα με φαινολικές ενώσεις. Το φαινολικό κλάσμα από τα υγρά απόβλητα διαπιστώθηκε ότι έχει ισχυρή φυτοτοξική δράση με βάση τη δοκιμή επίδρασης διαφορετικών συγκεντρώσεων στη βλάστηση σπερμάτων καλλιεργούμενων ειδών και αυτοφυών φυτών. Στα πειράματα αυτά διαπιστώθηκε ότι η φυτοτοξικότητα διαφοροποιείται από είδος σε είδος σε μια σειρά καλλιεργούμενα και αυτοφυή είδη που μελετήθηκαν. Η διαφοροποίηση στη φυτοτοξικότητα μπορεί να αποτελέσει τη βάση για την διερεύνηση της υπόθεσης ότι τα υγρά απόβλητα ελαιοτριβείων ή κλάσματα τους θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως βιολογικής προέλευσης αναστολείς της ανάπτυξης αυτοφυών (ζιζανίων) σε καλλιέργειες ανθεκτικών ειδών. Ως παράδειγμα θα αναφερθεί η προοπτική της χρήσης του φαινολικού κλασμάτος στην αντιμετώπιση της αγριοβρώμης σε καλλιέργεια σίτου.

Χρηματοδότηση: Quality of Life and Management of Living Resources (5FP-RS),
Key Action 5: Sustainable Agriculture, Fisheries and Forestry, CRAFT- Contract
No: QLK5-CT-2002-71666

NATURAL PLANT PRODUCTS AND THEIR ROLL IN CROP PROTECTION - THE CASE OF OLIVE MILL WASTEWATERS

Angelopoulos K.¹, Paraskeva C.^{2,3}, Kanellopoulou D.^{2,3}, Tenentes G.¹,
Stamatelopoulou K.¹, Koutsoukos P.^{2,3}

¹Department of Biology, ²Department of Chemical Engineering, University of Patras,
University Campus, Rion, GR 26504

³Institute of Chemical Engineering and High Temperature Chemical Processes,
Platani Achaïas, GR 26504

Results that encourage the possibility to use the olive mill wastewaters in crop protection will be presented. Last years it has been found out the need for the use of plant extract against several pests that decrease crop yields instead of different agrochemicals that pollute the environment. Among them are included the herbicides against native plants that grown in cultivated areas and in crops. In most cases plant extracts contain substances that are usually products of secondary metabolism. Among them are phenolic or polyphenolic compounds. Chemical analysis of olive mill wastewaters showed that contain phenolic substances that have phytotoxic effects on plant growth, as it was showed in the dose response phytotoxic test on seed germination and root elongation in both cultivated and native species. Phytotoxicity was differentiated among species studied. This phenomenon can be support the hypothesis that phenolic fractions of olive mill wastewaters can be exploited as biological herbicides in crops with tolerant cultivated species. As a case study the phytotoxic action of olive mill wastewaters phenolic fraction on wild oat (*Avena sterilis* L.) seed germination will be presented.

Funding: Program: Quality of Life and Management of Living Resources (5FP-RS), Key Action 5: Sustainable Agriculture, Fisheries and Forestry, CRAFT- Contract No: QLK5-CT-2002-71666

**ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΦΥΤΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΚΛΑΣΜΑΤΩΝ ΥΓΡΩΝ
ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΕΛΑΙΟΥΡΓΕΙΩΝ****Αγγελόπουλος Κ.¹, Τενέντες Γ.¹, Σταματελοπούλου Κ.¹, Παρασκευά Τ.^{2,3},
Καννελοπούλου Δ.², Κουτσούκος Π.^{2,3}**¹Τμήμα Βιολογίας, ²Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Πατρών,
Πανεπιστημιόπολη, Ρίο Αχαΐας, 26504³Ερευνητικό Ινστιτούτο Χημικής Μηχανικής και Χημικών Διεργασιών Υψηλών
Θερμοκρασιών, Πλατάνι Αχαΐας, 26504

Αξιολογήθηκαν οι φυτοτοξικές επιδράσεις τοξικού κλάσματος υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων σε καλλιεργούμενα είδη [μαρούλι, (*Lactuca sativa* L.), λάχανο, (*Brassica oleracea* L.), βρώμη, (*Avena sativa* L.), σιτάρι, (*Triticum aestivum* L.), βαμβάκι, (*Gossypium herbaceum* L.), αραβόσιτος (*Zea mays* L.), κολοκύθι, (*Cucurbita pepo* L.)] και σε αυτοφυή είδη [(*Avena sterilis* L., *Setaria sp* L., *Sinapis alba* L., *Sonchus oleraceus* L.)] με το επίσημο test τοξικής επίδρασης στη βλάστηση των σπερμάτων και την επιμήκυνση του ριζιδίου τους. Υπολογίστηκε η ενεργός συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών του τοξικού κλάσματος για 10% και 50% παρεμπόδιση της βλάστησης των σπερμάτων και της επιμήκυνσης των ριζιδίων (EC₁₀, EC₅₀). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το τοξικό κλάσμα έχει φυτοτοξικές επιδράσεις στη βλάστηση των σπερμάτων και στη επιμήκυνση του ριζιδίου σε όλα τα είδη που μελετήθηκαν, αλλά οι επιδράσεις αυτές διαφοροποιούνται μεταξύ αυτών των ειδών. Το λάχανο, η βρώμη, και το σιτάρι θα μπορούσαν να χαρακτηρισθούν ως ανθεκτικά είδη. Σ' αυτά τα είδη η επίδραση της συγκέντρωσης του τοξικού κλάσματος στο ρυθμό βλάστηση των σπερμάτων είναι γραμμική. Για συγκέντρωση φαινολικών 375-380 mg/l η παρεμπόδιση ήταν 8-10%. Αντιθέτως τα τέσσερα αυτοφυή είδη – κοινά ζιζάνια σε καλλιέργειες σιτηρών – ήταν πολύ ευαίσθητα για τις ίδιες συγκεντρώσεις φαινολικών. Τα καλλιεργούμενα καλαμπόκι, βαμβάκι και μαρούλι θα μπορούσαν να χαρακτηρισθούν ως ημι-ανθεκτικά είδη. Επίσης υπολογίστηκε ο δείκτης βλαστικότητας ο οποίος συνδυάζει την παρεμπόδιση στη βλαστικότητα των σπερμάτων και την παρεμπόδιση στην επιμήκυνση του ριζιδίου. Σύμφωνα με αυτό το δείκτη το σιτάρι, η βρώμη και το κολοκύθι με δείκτη βλαστικότητας >60 μπορούν να χαρακτηρισθούν ως ανθεκτικά είδη. Στα υπόλοιπα είδη ο δείκτης βλαστικότητας είναι <60.

Χρηματοδότηση: Quality of Life and Management of Living Resources (5FP-RS),
Key Action 5: Sustainable Agriculture, Fisheries and Forestry, CRAFT- Contract
No: QLK5-CT-2002-71666

PHYTOTOXICITY EVALUATION OF OLIVE MILL VEGETABLE WATER

Angelopoulos K.C.¹, Tenentes G.¹, Stamatelopoulou K.¹, Paraskeva C.A.^{2,3},
Kanellopoulou D.G.², Koutsoukos P.G.^{2,3}

¹Department of Biology, ²Department of Chemical Engineering, University of Patras,
University Campus, Rio, GR 26504

³Institute of Chemical Engineering and High Temperature Chemical Processes,
Platani Achaïas, GR 26504

Phytotoxicity of olive-mill vegetable water (OMW) toxic fraction in cultivated [(*Lactuca sativa* L. (lettuce), *Brassica oleracea* L. (cabbage), *Avena sativa* (oat), *Triticum aestivum* L. (wheat), *Gossypium herbaceum* L. (cotton), *Zea mays* (L.) (corn), *Cucurbita pepo* L. (zucchini)] and native species [(*Avena sterilis* L. (wild oat), *Setaria sp* L., *Sinapis alba* L., *Sonchus oleraceus* L.)] was evaluated with the official seed germination/root elongation toxicity test. The effective concentration of phenolic compounds (in OMW toxic fraction) for 10% and 50% inhibition of seed germination and root elongation (EC₁₀, EC₅₀) were estimated. The results showed that the OMW toxic fraction has phytotoxic effects on seed germination and radicle elongation in all species but these effects differentiated among species. Cultivated species *Brassica oleracea* L. (cabbage), *Avena sativa* (oat), *Triticum aestivum* L. (wheat) should be characterized as tolerant species. Their dose response curves showed a linear relationship between the concentration of phenolics and % inhibition of seed germination rate. At concentration of 375-380 mg/l phenolics, the inhibition was relatively low (8-10%). In contrast four native species *Avena sterilis* L. (wild oat) *Setaria sp* L. *Sinapis alba* L. and *Sonchus oleraceus* L. all common weeds in cereal crops were very sensitive for the same concentration of OMVW toxic fraction. Cultivated species as *Zea mays* L., *Gossypium herbaceum* L., and *Lactuca sativa* L. should be characterized as mid-tolerant species. The germination index (GI), which combines both the inhibition in germination rate and inhibition in root elongation, was also estimated. According to this index *Triticum aestivum* L., *Avena sativa* L. and *Cucurbita pepo* L. (Their GI are >60) characterized as tolerant species. The GI values of other species were estimated < 60.

**Funding: Program: Quality of Life and Management of Living Resources (5FP-RS),
Key Action 5: Sustainable Agriculture, Fisheries and Forestry, CRAFT- Contract
No: QLK5-CT-2002-71666**

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΜΕ ΣΗΣΑΜΙ ΣΕ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥΣ
ΑΠΟΤΟΞΙΝΩΣΗΣ****Αθανασούλα Α., Λιαδάκη Κ., Λαζάρου Δ., Παπαδόπουλος Α.Ι.**

Εργαστήριο Φυσιολογία Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, ΣΘΕ, ΑΠΘ

Το κυτόχρωμα P₄₅₀ και η τρανσφεράση της γλουταθειόνης GST αποτελούν μέρος του αποτοξινωτικού μηχανισμού των θηλαστικών και εντοπίζονται κυρίως στο ήπαρ. Το P₄₅₀ ανήκει στη φάση I αποτοξίνωσης και καταλύει την οξειδωση ή αναγωγή ξενοβιοτικών ουσιών ενώ η GST ανήκει στη φάση II και καταλύει τη σύζευξη πυρηνόφιλων ξενοβιοτικών ουσιών με τη γλουταθειόνη. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση της διατροφής με σηςάμι στην έκφραση των ενζύμων P₄₅₀ και μικροσωμικής GST (mGST). Στο ηπατικό μικροσωμικό κλάσμα πειραματοζώων, (αρουραίοι Fisher), που εκτράφηκαν για τέσσερις εβδομάδες μετά τον απογαλακτισμό τους, με τροφή που εμπεριείχε 30% σηςάμι προσδιορίστηκαν οι κινητικές παράμετροι Km και Vmax των δύο ενζύμων. Ως μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν πειραματοζώα ίδιας ηλικίας και φύλου στα οποία χορηγήθηκε τροφή δίχως προσθήκη σησαμιού. Ο έλεγχος της δραστηριότητας του P₄₅₀ στο μικροσωμικό κλάσμα έγινε χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα την 7-ethoxyresorufin (7-ER) ενώ της mGST έγινε έναντι του υποστρώματος 1-Chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB). Διαπιστώθηκε ότι η διατροφή με σηςάμι προκαλεί αύξηση της τιμής Km του P₄₅₀ προς την (7-ER) με παράλληλη αύξηση της τιμής Vmax υποδηλώνοντας μείωση της συγγένειας του ενζύμου προς το συγκεκριμένο υπόστρωμα με παράλληλη αύξηση της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης. Μερική απομόνωση του ενζύμου με κατακρήμνιση πρωτεϊνών με κορεσμό θειικού αμμωνίου σε ποσοστό 40% και 60%, οδήγησε σε υπερβολική αύξηση της τιμής της Km με ταυτόχρονα σημαντική απώλεια δραστηριότητας. Καταβάλλονται προσπάθειες για προσδιορισμό των κινητικών παραμέτρων με χρήση άλλων υποστρωμάτων. Για τον προσδιορισμό της mGST το κλάσμα των μικροσωμάτων υποβλήθηκε σε χρωματογραφία συγγένειας (affinity) σε στήλη γλουταθειόνης συζευγμένης σε CnBr-activate Sepharoze 4b. Τα πρώτα αποτελέσματα δείχνουν μη στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων πειραματοζώων.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτείται από την ΓΓΕΤ (ΠΕΝΕΔ ΟΙΕΔ439) και την εταιρεία τροφίμων Αφοί Χαϊτογλου ΑΒΕΕ.

EFFECT OF SESAME DIET ON THE DETOXIFICATION MECHANISMS

Athanasoula A., Liadaki K., Lazarou D., Papadopoulos A.I.

Laboratory of Animal Physiology, Department of Biology, School of Sciences
Aristotle University of Thessaloniki

Cytochrome P₄₅₀ and glutathione transferase (GST) are involved in the detoxification of organisms and they are most abundant in the liver. P₄₅₀ belongs to the first stage of detoxification and catalyses oxidation or reduction of xenobiotics while GST belongs to the second stage of detoxification and catalyses the conjugation of nucleophiles with the tripeptide of glutathione. This study was conducted in order to identify the dietary effect of sesame upon the expression of P₄₅₀ and microsomal GST. The kinetic parameters of Km and Vmax for the two enzymes were determined in hepatic microsomal fraction of young Fisher rats fed with food supplied with 30% sesame for 4 weeks. As control were used normally fed rats of the same age and sex. The activity of P₄₅₀ was measured towards 7-Ethoxyresorufin (7-ER) while that of mGST towards 1-Chloro-2,4-Dinitrobenzene (CDNB). According to our results, sesame diet causes increase of Km value of P₄₅₀ towards 7-ER with simultaneous increase of Vmax, suggesting decrease of enzyme avidity towards the substrate with parallel increase of the enzyme protein concentration. Partial purification of the enzyme by means of ammonium sulfate saturation (40% to 60%) resulted to substantial loss of activity combined with a ten-fold increase in Km value. The determination of kinetic parameters towards other substrates is now attempted. For the determination of mGST activity the microsomal fraction was subjected to affinity chromatography purification by means of a GSH-CnBr activate sepharose 4b column. According to preliminary results, no significant alteration of the enzyme's activity is observed between the two experimental groups.

Supported by a grant from GSRT (ΓΕΝΕΑ 01ΕΔ439) and Haitoglou Bros.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΟΥΒΙΚΟΥΙΤΙΝΩΣΗΣ ΤΗΣ ΙΣΤΟΝΗΣ Η2Α ΚΑΤΑ ΤΗΝ
ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΑΠΟΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΤΙΚΩΝ
ΚΥΤΤΑΡΩΝ****Αλατζάς Α. και Α. Φουντούλη**Εργαστήριο Βιολογίας Ανάπτυξης, Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας,
Τμήμα Βιολογίας Α.Π.Θ.

Μελετήθηκε η ουβικουιτινωμένη μορφή της ιστόνης Η2Α στις τρεις αναπτυξιακές ζώνες (μεριστωματική ζώνη, ζώνη επιμήκυνσης και ζώνη διαφοροποίησης) της ρίζας του φυτού *Zea mays*. Απομονώθηκαν ιστόνες από κάθε αναπτυξιακή ζώνη ξεχωριστά, διαχωρίστηκαν με SDS-PAGE και με δισδιάστατη ηλεκτροφόρηση AUT/AUC-PAGE και έγινε ανοσο-ανίχνευση της Η2Α καθώς και της ουβικουιτινωμένης μορφής της (uΗ2Α). Παράλληλα, αναλύθηκαν με τον ίδιο τρόπο ιστόνες που απομονώθηκαν από καλλιέργειες κάλλων, οι οποίοι είχαν αναπτυχθεί από τμήματα της ρίζας που αντιπροσώπευαν τις τρεις αναπτυξιακές ζώνες. Τέλος, έγινε ανοσοϊστοχημική ανίχνευση της uΗ2Α σε τομές της ρίζας για να προσδιορισθούν οι ιστοί όπου εντοπίζεται η συγκεκριμένη τροποποίηση. Η ανάλυση των πηκτών έδειξε ότι η uΗ2Α αποτελεί το 26% περίπου της ολικής Η2Α στη μεριστωματική ζώνη και στη ζώνη επιμήκυνσης, ενώ στην ζώνη διαφοροποίησης η ποσοστιαία συμμετοχή της μειώνεται στο 19%. Αντίθετα, στα κύτταρα των πρωτογενών κάλλων που προέρχονται από τη ζώνη διαφοροποίησης η συμμετοχή της uΗ2Α αυξάνεται στο 32% της ολικής, στους κάλλους που προέρχονται από τις άλλες δύο ζώνες παραμένει στα επίπεδα των μαρτύρων, ενώ στους δευτερογενείς και τριτογενείς κάλλους, σταθεροποιείται σ'αυτά, ασχέτως της ζώνης από την οποία προέρχονται οι κάλλοι. Η ανοσοϊστοχημική ανίχνευση της uΗ2Α έδειξε ότι η συγκεκριμένη τροποποίηση εντοπίζεται σε όλα τα κύτταρα της μεριστωματικής ζώνης και της ζώνης επιμήκυνσης, ενώ στη ζώνη διαφοροποίησης παρατηρείται μόνο στα κύτταρα της επιδερμίδας και του περικυκλίου, που είναι τα μόνα κύτταρα της ζώνης αυτής που διατηρούν τις μεριστωματικές τους ιδιότητες. Η αυξημένη ποσοστιαία συμμετοχή της uΗ2Α στη μεριστωματική ζώνη και στη ζώνη επιμήκυνσης, σε σχέση με τη ζώνη διαφοροποίησης, καθώς και ο εντοπισμός της μόνο σε μεριστωματικά κύτταρα, πιθανόν να υποδηλώνουν τη σχέση της τροποποίησης αυτής με τον ρυθμό της κυτταρικής διαίρεσης. Η σημαντική αύξηση της συμμετοχής της στους προερχόμενους από τη ζώνη διαφοροποίησης πρωτογενείς κάλλους ίσως να σχετίζεται με τη διαδικασία επιδιόρθωσης βλαβών που πιθανόν προκαλούνται κατά την αντιγραφή του DNA ως συνέπεια της απότομης αλλαγής του ρυθμού διαίρεσης των κυττάρων της ζώνης αυτής κατά την αποδιαφοροποίησή τους. Αντίθετα, στους δευτερογενείς και τριτογενείς κάλλους τα κύτταρα έχουν προσαρμοστεί στη νέα φυσιολογική κατάσταση και το επίπεδο ουβικουιτινώσεως της Η2Α είναι παρόμοιο με αυτό των μεριστωματικών κυττάρων.

UBIQUITINATION OF HISTONE H2A DURING PLANT CELL DIFFERENTIATION AND DEDIFFERENTIATION

Alatzas A. & A. Foundouli

Laboratory of Developmental Biology, Department of Genetics, Development & Molecular
Biology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki

The developmental zones in the root of *Zea mays* (meristematic zone, elongation zone and differentiation zone) can be easily identified and isolated. Histones from each zone were isolated, separated by SDS-PAGE and two-dimensional AUT/AUC-PAGE and H2A and ubiquitinated H2A (uH2A) were immunodetected. Additionally, histones were isolated from callus cultures, propagated from root segments of the three developmental zones and analysed as mentioned above. Finally, immunohistochemical detection of uH2A in root sections was used in order to determine the tissues containing this histone modification. According to gel analysis, uH2A represents approximately 26% of total H2A in meristematic and elongation zone, but this portion decreases to 19% in differentiation zone. In contrast, uH2A portion increases up to 32% in the first callus culture derived from differentiation zone, it remains 26% in calli derived from the two other zones, while in the second and third callus subcultures the uH2A portion is similar to that of meristematic cells, independent of the zone they are derived. According to the immuno-histochemical detection, uH2A exists in every cell of meristematic and elongation zones, while in differentiation zone is localized only in pericycle and epidermis cells, which are the only cells within this zone that retain their meristematic properties. The increased uH2A portion in meristematic and elongation zone cells, compared to differentiation zone and uH2A localization, which is restricted in meristematic cells, may correlate this modification to cell division. The increased H2A ubiquitination level observed in the first callus culture derived from differentiation zone might be a feature related to DNA damage due the sudden change in cell proliferation rate during their dedifferentiation. In contrast to first callus culture cells, the second and third callus subculture cells are already habituated to the new physiological state and the H2A ubiquitination level is similar to that of meristematic cells.

**ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΣΤΙΣ ΒΛΑΒΕΣ ΚΑΙ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΤΟΥ
DNA ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΠΟ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ
ΜΑΣΤΟΥ**

**Αναγνωστάκης Ν.^{1,2}, Καραναστάση Γ.^{1,2}, Μεσσήνη-Νικολάκη Ν.²,
Γουργουλιάνης Κ.Ι.³, Χρίστου Κ.³, Αθανασίου Ε.⁴, Τσιλιμιγκάκη Σ.¹
και Σ.Μ. Πιπεράκης¹**

¹Εργαστήριο Επιδιορθωτικών Μηχανισμών DNA, Ινστιτούτο Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ
Δημόκριτος, Αθήνα. ²Τομ. Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα. ³Πνευμονολογική Κλινική, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας,
Λάρισα. ⁴Χειρουργική Κλινική, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα.

Στη παρούσα μελέτη ερευνήσαμε την ευαισθησία λεμφοκυττάρων από ασθενείς με καρκίνο του μαστού στην επίδραση γ-ακτινοβολίας και H₂O₂. Χρησιμο-ποιώντας το comet assay υπολογίσαμε το ποσοστό των βλαβών και την επιδιορθωτική ικανότητα σε σύγκριση με φυσιολογικούς πληθυσμούς. Επιπλέον προσδιορίσαμε τον αριθμό των νεκρωτικών και αποπτωτικών κυττάρων. Τα αποτελέσματα έδειξαν μειωμένη επιδιορθωτική ικανότητα στις βλάβες του DNA σε κύτταρα από ασθενείς με καρκίνο του μαστού. Αντίθετα η απόπτωση βρέθηκε αυξημένη.

**DNA DAMAGE AND REPAIR IN BREAST CANCER PATIENTS
LYMPHOCYTES**

**Anagnostakis N.^{1,2}, Karanastasi G.^{1,2}, Messini-Nikolaki N.², Gourgoulisanis K.³,
Christou K.³, Athanasiou E.⁴, Tsilimigaki S.¹ and S.M. Piperakis¹**

¹DNA Repair Lab., Institute of Biology, NCSR Democritos, Athens, Greece.
²Dept. of Cell Biology, School of Biology, University of Athens, Athens, Greece
³Palmonary Department, University of Thessaly, Larisa, Greece.
⁴Surgical Dept, University of Thessaly, Larisa, Greece

In this study the effects of γ-irradiation and H₂O₂ on lymphocytes from breast cancer patients was examined. With the comet assay we estimated the DNA damage and the repair capacity on the above population in comparison to controls. The apoptotic and necrotic cell population was also estimated. Our results show a decreased DNA repair capacity in lymphocytes from breast cancer patients. An increased apoptosis was found if compared to healthy individuals.



.....στο χώρο της υγείας από το 1917

ΑΘΗΝΑ



**Έδρα, Δηληγιαννη 34
Τηλ. 210 5231271**

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ



**Έδρα για την Β. Ελλάδα,
Λιτοχώρου 37 &
Λ. Κ. Καραμανλή
Τηλ. 2310 248 000**

- ⇒ Επιστημονικά όργανα και συσκευές
- ⇒ Διαγνωστικά προϊόντα
- ⇒ Προϊόντα Ανοσοαιματολογίας - Μοριακής Βιολογίας
- ⇒ Εργαστηριακά αναλώσιμα προϊόντα (χημικά, υαλικά)
- ⇒ Ραδιοϊσότοπα
- ⇒ Τμήμα Service και επισκευής οργάνων

Σύμφωνα με τις απαιτήσεις του προτύπου ΕΛΟΤ EN ISO 9001:2000, διασφαλίζει την παροχή προϊόντων και υπηρεσιών υψηλής ποιότητας που συμμορφώνονται με τις απαιτήσεις της Ελληνικής και Ευρωπαϊκής Νομοθεσίας.



P. BACACOS S.A.
CHEMICAL &
PHARMACEUTICAL
PRODUCTS CO. LTD
34, DILIGIANNI STR., 104 38
GR- ATHENS
PHONE: 5231271 - 5232631,
FAX: 5229141
E-MAIL: central@bacacos.gr

Π. ΜΠΑΚΑΚΟΣ Α.Ε.
ΑΝΩΝΥΜΟΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΧΗΜΙΚΩΝ
ΚΑΙ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ
ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ
ΔΗΛΗΓΙΑΝΝΗ 34 - 104 38 ΑΘΗΝΑ
ΤΗΛΕΦΩΝΑ: 5231271 - 5232631,
FAX: 5229141
E-MAIL: central@bacacos.gr

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΤΗΣ ΘΑΛΑΣΣΑΣ ΣΤΗΝ ΕΝΖΥΜΙΚΗ
ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΓΛΥΚΟΛΥΤΙΚΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ PK ΣΤΟ ΔΙΘΥΡΟ
ΜΑΛΑΚΙΟ *Mytilus galloprovincialis*****Ανέστης Α. και Β. Μιχαηλίδης**Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών
Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, GR – 54006

Οι οργανισμοί προκειμένου να επιβιώσουν σε ένα ενδιαίτημα, πρέπει να έχουν την ικανότητα να αποκρίνονται στις αλλαγές του φυσικού τους περιβάλλοντος. Η θερμοκρασία είναι ο σημαντικότερος αβιοτικός παράγοντας που αντιμετωπίζουν οι εξώθερμοι οργανισμοί, καθώς επιδρά σε πολλές βιολογικές διεργασίες. Η θαλάσσια μεσοπαραλιακή ζώνη χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερα απότομες διαβαθμίσεις της θερμοκρασίας στο χώρο και το χρόνο κατά τη διάρκεια του παλιρροιακού κύκλου. Επειδή τα δίθυρα της μεσοπαραλιακής ζώνης είναι δυνητικά αναερόβιοι οργανισμοί, αξιοποιούν βιολογικούς μηχανισμούς που τους επιτρέπουν να συνεχίσουν τις βιολογικές τους δραστηριότητες ακόμα και όταν η συγκέντρωση του οξυγόνου είναι πολύ μικρή. Η κίνηση του πυροσταφυλικού οξέος (PK) έχει έναν κεντρικό ρόλο στην μετάπτωση από τον αερόβιο στον αναερόβιο μεταβολισμό. Εμφανίζεται σε δύο μορφές, οι οποίες διαφέρουν στο βαθμό φωσφορυλίωσής τους και στη δραστικότητα τους, με την λιγότερο φωσφορυλιωμένη να είναι η πιο ενεργός. Το ερώτημα που τέθηκε στη παρούσα εργασία ήταν η επίδραση της αλλαγής της θερμοκρασίας στην αερόβια ικανότητα των μυδιών. Για την απάντηση του ερωτήματος Ιστοί (πόδι, μανδύας, χιαστός, προσαγωγός και βράγχια) από μύδια που είχαν παραμείνει σε διαφορετικές θερμοκρασίες (18, 20, 24, 26, 28 και 30°C) αντίστοιχα για 30 ημέρες απομακρύνονταν κάθε 5 ημέρες και στη συνέχεια προσδιοριζόταν η ενζυμική δραστικότητα της PK σύμφωνα με γνωστές μεθόδους. Τα αποτελέσματα έδειξαν μια μείωση της μέγιστης δραστικότητας του ενζύμου στις πρώτες 10 – 15 ημέρες στις θερμοκρασίες από 24 έως 30°C. Κατόπιν η δραστικότητα ανέκαμπτε ως τα επίπεδα που ανιχνεύθηκαν στα ζώα που διατηρήθηκαν στους 18 και 20°C. Επίσης διαπιστώθηκε ότι η σταθερά Km παρέμενε σταθερή σε υψηλότερες θερμοκρασίες. Κατά συνέπεια, η μείωση της μέγιστης δραστικότητας της PK σε υψηλότερες θερμοκρασίες θα μπορούσε να είναι αποτέλεσμα μείωσης της συγκέντρωσης του ενζύμου στα κύτταρα, υποδεικνύοντας έναν χαμηλότερο μεταγραφικό ρυθμό. Επιπλέον η ποσοστιαία θνησιμότητα των μυδιών διαπιστώθηκε πως αυξάνεται σταδιακά μετά τους 24°C. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η θερμοκρασία μπορεί να αλλάξει τον τύπο του ενεργειακού μεταβολισμού στους ιστούς των μυδιών από την αερόβια σε αναερόβια κατάσταση. Η μετάπτωση αυτή οδηγεί σε μειωμένη ανακύκλωση του ATP και σε καταστολή του μεταβολισμού που θα μπορούσε να ελαττώσει το ρυθμό αρκετών φυσιολογικών διεργασιών. Η ανάπτυξη του φαινομένου του θερμοκηπίου πιθανότατα θα οδηγήσει σε αύξηση της θερμοκρασίας της βιόσφαιρας. Επομένως είναι πιθανό στο μέλλον τα δίθυρα, όπως το *Mytilus galloprovincialis*, να πρέπει να στηρίζονται περισσότερο στην αναερόβια παραγωγή ATP. Περαιτέρω συνέπειες από την αύξηση της θερμοκρασίας της βιόσφαιρας αφορούν τη φυσιολογία ολόκληρου του οργανισμού, την ηθολογία του και την κατανομή του πληθυσμού, στον οποίο ανήκει.

EFFECTS OF SEA WATER TEMPERATURE ON THE ENZYMATIC ACTIVITY OF PK IN THE MARINE BIVALVE *Mytilus galloprovincialis*

Anestis A. & B. Michaelidis

Lab. of Animal Physiology, Department of Zoology, Faculty of Biology, School of Science, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, GR – 54006, Greece.

To persist in a particular habitat, organisms must be responsive to the changes in their physical environment. Temperature is the most important abiotic stress factor that ectothermic organisms face, as it affects biological processes at all levels of biological organization, from the whole organism, to tissue, cell and molecular processes. The marine intertidal zone is characterized by especially sharp spatial and temporal gradients in temperature as a result of alternating exposure to aquatic and terrestrial conditions during the tidal cycle. Intertidal marine bivalves are potentially anaerobic organisms and are therefore able to develop biological mechanisms that allow them continue their biological activities even when oxygen concentration is very low. Pyruvate kinase has a key role in the transition from aerobic to anaerobic metabolism. This glycolytic enzyme appears in two different forms, which differ in their phosphorylation status and their enzymatic activities, with the less phosphorylated form being more active. Here we present our results on the activity of pyruvate kinase in five tissues (foot, mantle, ABRM, PAM and branchia) of the marine bivalve *Mytilus galloprovincialis* maintained at different temperatures. Specifically, adult mussels were divided into six groups and maintained in aquarium for acclimatization at 18, 20, 24, 26, 28 and 30 ° C respectively for 30 days. Every 5 days mussels were drawn out, tissues were dissected and enzymatic activity was determined according to known methods. The obtained results indicate a decrease in the maximum activity of enzyme within the first 10 – 15 days at 24-30°C. Thereafter the enzyme activity recovered to that exhibited by the animals kept at 18 and 20°C. Analysis of enzyme kinetic properties showed that Km remained constant at higher temperatures. Consequently, the decrease in maximum activity of PK at higher temperatures might be a result of a decrease in enzyme concentration in the cells, indicating a lower transcriptional rate. Moreover, the percentage of mussel's mortality was found to increase gradually after the 24°C (maximum mortality at 30° C). The results indicate that temperature can influence the mode of energy metabolism in the tissues of mussels, shifting it from an aerobic to anaerobic state. The transmission to anaerobic metabolism results in a lower ATP turnover and metabolic depression. The latter could slow down the rate of several physiological processes as development and increase in body mass. Due to the development of greenhouse phenomenon, regional and global climatic and related environmental changes will probably take place, including increase in global temperatures. It is possible that in the future intertidal mussels, like *Mytilus galloprovincialis*, will have to rely more on their anaerobic ATP-production pathways. Further consequences from the global warming concern whole organism physiology, animal ethology and population distribution.

**ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΤΩΝ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ
ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΑΝΑΙΜΙΑ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ
ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΗ ΣΦΑΙΡΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ ΚΑΙ ΗΠΙΑ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ
ΑΝΑΙΜΙΑ**

Αντωνέλου Μ.Χ.¹, Παπασιδέρη Ι.Σ.¹, Καραμπαμπά Φ.Ι.², Λουτράδη Α.²
και Λ.Χ. Μαργαρίτης¹

¹Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784, Αθήνα ²Κέντρο Μεσογειακής Αναιμίας, Π.Γ.Ν.Α. «Λαϊκό», Αθήνα.

Οι γενετικές βλάβες των ερυθροκυτταρικών (RBC) μεμβρανικών πρωτεϊνών προκαλούν αιμολυτικές αναιμίες όπως η κληρονομική σφαιροκυττάρωση (HS). Για την ανίχνευση της παθοφυσιολογικής σημασίας των αποκλίσεων της μεμβράνης, εξετάστηκαν 12 HS ασθενείς (μεταλλαγμένη σπεκτρίνη, αγκυρίνη ή ζώνη 3), συγκριτικά με φορείς Μεσογειακής αναιμίας (MA) (ετερόζυγη α-MA και ήπια β-MA), ελληνικής καταγωγής.

Για τη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν αιματολογικές παράμετροι, οσμωτική ευθραυστότητα, SDS-PAGE και ανοσοσύτωση RBCs, ολικών μεμβρανών, μεμβρανικών σκελετών (MSk) και πρωτεϊνικών εκχυλισμάτων.

Η πλειονότητα των HS-μεμβρανών χαρακτηρίζεται από αυξημένα ποσά IgGs και ζώνης 8, διμερή ζώνης 3 και ανεπάρκεια παλλιδίνης. Σε αντίθεση με την HS λόγω έλλειψης ζώνης 3, η πλειονότητα των μεμβρανών και των MSk με ανεπάρκεια σκελετικών πρωτεϊνών, φέρουν αιμοσφαιρινικές αλυσίδες, ολιγομερή και διαμοριακά συμπλέγματα σφαιρινών. Το ποσό της σφαιρίνης των σκελετών δεν είναι ανάλογο αυτού της μεμβράνης και δεν αυξάνεται μετά από σπληνεκτομή. Οι μεμβράνες στην ήπια MA χαρακτηρίζονται από διαταραγμένα ηλεκτροφορητικά πρότυπα γλυκοφορινών, αγκυρίνης, ζώνης 8, ζώνης 3 και, ενίοτε, έκτοπες ζώνες και τρυπτικά πεπτιδία σπεκτρίνης. Ορισμένες από τις προαναφερόμενες διαταραχές της μεμβράνης ίσως είναι χρήσιμες στη διάγνωση της HS. Ο σχηματισμός πολυμερών και διαμοριακών συμπλεγμάτων σφαιρίνης φαίνεται να συσχετίζεται με την παθοφυσιολογία της HS λόγω ανεπάρκειας σκελετικών πρωτεϊνών και πιθανά να είναι ενδεικτικός οξειδωτικών βλαβών της μεμβράνης οι οποίες περαιτέρω προάγουν τα γεγονότα της περιφερικής αιμόλυσης στην HS.

Η μελέτη αυτή χρηματοδοτήθηκε από το “Εμπειρικό Ίδρυμα” και τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Παν/μίου Αθηνών στην Ι. Σ. Παπασιδέρη.

ANEMIA – ASSOCIATED ABERRATIONS OF RED BLOOD CELL MEMBRANE PROTEINS IN HEREDITARY SPHEROCYTOSIS AND MILD THALASSEMIA

Antonelou M.H.¹, Papassideri I.S.¹, Karababa F.J.², Loutradi A.², & L.H. Margaritis¹

¹Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Zografou 15784, Athens, Greece. ²Center of Thalassemias, L.H., Athens, Greece

The defects in red blood cell (RBC) membrane proteins may cause congenital hemolytic disorders like hereditary spherocytosis (HS), which is manifesting as anemia, jaundice and splenomegaly. To elucidate membrane protein aberrations that may play a pathophysiologic role in the observed hemolysis, we examined 12 HS patients (primary defects in spectrin, ankyrin or band 3), in comparison with a group of mild thalassemic subjects (heterozygous alpha thalassemia and beta thalassemia minor) of Greek origin. We have used hematological parameters, osmotic fragility test, SDS-PAGE scanning of peripheral blood RBC, total ghosts, membrane skeletons (MSk) and protein extracts and immunoblotting. The majority of the HS-ghosts were characterized by increased IgG binding, band 3 dimers, pallidin deficiency and a sharp increase in the amount of band 8 (2IKD). Contrary to the band 3-deficient HS cases, the majority of the skeletal protein-deficient ghosts and MSk were also found enriched in bound globin, globin multimers and cross-linkings. The amount of MSk bound globin was not proportional to the ghost-bound hemoglobin and was not increased after splenectomy, as usual in thalassemic MSk. The mild thalassemic samples were characterized by disturbed electrophoretic patterns of glycophorins, ankyrin 2.1, band 8, band 3 and, in some cases, aberrant electrophoretic zones and tryptic peptides of spectrin. Some of the above mentioned aberrations might be useful for the diagnosis in HS. In this small sample, the formation of globin multimers and cross-linkings seems to be associated with the pathophysiology of skeletal protein deficiency HS and is possibly indicative of oxidative defects of the membrane, that further promote the peripheral hemolysis events.

This study was supported by the “Empeirikeion Foundation” and the Special Account for Research Grants of the University of Athens to I. S. Papassideri.

ΠΟΛΕΜΟΣ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

Αντωνίου Π., Κωσταρίδης Π., Σταματίου Δ., Τζαβάρας Ν. και Α. Τραυλού

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784 Αθήνα

Αν και σύμφωνα με τον Ηράκλειτο «ο πόλεμος πατήρ πάντων μεν εστί» πολλοί λίγοι έχουν ασχοληθεί με την επίπτωσή του στο περιβάλλον. Στην παρούσα εργασία εξετάζουμε τις επιπτώσεις του πολέμου στο περιβάλλον και στον άνθρωπο στα πλαίσια ενός προτεινόμενου προγράμματος Περιβαλλοντικής Εκπαίδευσης στη Μέση Εκπαίδευση. Ακολουθώντας τη μέθοδο project, το πρόγραμμα χωρίζεται σε 5 μέρη. Α. Ιστορική Αναδρομή: Γίνεται αναφορά στις πολεμικές συγκρούσεις από τους αρχαίους χρόνους έως σήμερα. Συγκρίνονται τα αίτια για τα οποία έγιναν οι πόλεμοι σε συνδυασμό με την κατανομή των φυσικών πόρων στις αντίστοιχες περιοχές. Β. Προετοιμασίες για τον πόλεμο: Μελετώνται δραστηριότητες που αφορούν την προετοιμασία για τον πόλεμο όπως κατασκευή οχυρών, καταφυγίων, αποψίλωση δασών κλπ και προξενούν καταστροφές στα οικοσυστήματα. Προτείνονται οργανωμένες επισκέψεις (π.χ. στο αεροδρόμιο της Τανάγρας) για εγκυρότερη και πληρέστερη ενημέρωση. Γ. Επιπτώσεις στο φυσικό και ανθρωπογενές περιβάλλον: Εστιάζοντας σε συγκεκριμένα πολεμικά γεγονότα εξετάζουμε τις επιπτώσεις από την ατομική βόμβα στη Χιροσίμα, τις οικολογικές συνέπειες από τον πόλεμο του κόλπου στο Ιράκ και τις οικολογικές καταστροφές από τους βομβαρδισμούς στη Γιουγκοσλαβία. Γίνεται αναφορά και για τις επιπτώσεις του πολέμου στο ανθρωπογενές περιβάλλον όπως κτίρια, νοσοκομεία, μνημεία κλπ. Δ. Σύγκριση βλαβών πολέμου – ειρήνης: Γίνεται σύγκριση των επιπτώσεων στο περιβάλλον σε καιρό ειρήνης με αυτές σε καιρό πολέμου. Π.χ. Χιροσίμα – Τσέρνομπιλ. Συνειδητοποίηση των μαθητών με παιχνίδι ρόλων. Ε. Πρόσφατοι πόλεμοι και πόλεμοι στο μέλλον: Έρευνα και συνεντεύξεις από άτομα που έχουν λάβει μέρος σε πόλεμο. Λήψη φωτογραφιών και video. Επισκέψεις σε ειδικούς επιστήμονες και κέντρα (π.χ. Δημόκριτος) για να το πως θα γίνονται οι πόλεμοι στο μέλλον. Στο τέλος του προγράμματος προτείνεται διημερίδα στο σχολείο, έκθεση με το φωτογραφικό υλικό, προβολή video και συζήτηση. Δημοσιοποίηση των συμπερασμάτων σε φυλλάδιο του σχολείου, αποστολή τους στον τοπικό και τον ημερήσιο τύπο και αξιολόγηση του προγράμματος.

Η εργασία αυτή παρουσιάστηκε στα πλαίσια εξέτασης του μαθήματος «Περιβαλλοντική Εκπαίδευση» για το μεταπτυχιακό δίπλωμα ειδίκευσης «Σύγχρονες τάσεις διδακτικής των βιολογικών μαθημάτων και νέες τεχνολογίες». Επ. υπεύθυνος: Κατσώρης Θεόδωρος. Ευχαριστούμε τη συντονίστρια του μαθήματος κ. Μ. Αριανούτσου και τον κεντρικό εισηγητή κ. Γ. Φαραγγιτάκη για τις εύστοχες υποδείξεις τους.

WAR AND ENVIRONMENT

Antoniou P., Kostaridis P., Stamatiou D.G., Tzavaras N., and Travlou A.

Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology, National & Kapodistrian
University of Athens, Panepistimiopolis 157 84, Athens, Greece

Even if, according to Heraclitus, «“the war is father of everything» very few people have dealt with its effects on the environment. In this paper we examine the consequences of war to natural environment and to human beings through an insight springing from a proposed environmental program to high schools. We have followed the method “project” and we have divided the program into five sections. **A. Historic retrospection:** It is a report of warlike clashes from ancient times till nowadays. A comparison was done between the reasons, which led to the wars in relation to the distribution of the natural resources of some regions. **B. Warlike preparations:** What were examined were the activities during the preparation for a war; for instance, the structure of strongholds, refuges, deforestation etc and the destruction of ecosystems. Organized visits (ex, to the airport of Tanagra) are suggested for more reliable and complete information. **C. Effects on the natural and human made environment:** Focusing on specific war facts we examine the consequences of atomic bomb in Hiroshima, the ecologic consequences of the Golf war in Iraq and the ecologic destructions due to the bombing in Yugoslavia. The consequences of the war on the human made environment are also reported (ex, buildings, hospitals, monuments etc). **D. Comparison between damages of the war and damages during periods of peace:** A comparison between the damages during wars and during periods of peace was made. Ex, Hiroshima - Chernobyl. Comprehension is achieved by the students through a game of rules. **E. Recent wars and wars in the future:** Search and interviews from people who have participated in a war. Taking of photographs and videotaping. Visits to expert scientists and scientific institutions (ex, Democritus) in order to be informed about how wars will be in the future. In the end of the program what is suggested is a two-day meeting in the school, a photography display, video projections and discuss. The conclusions are published in the school’s newspaper, are sent to the local and everyday press, and finally, the program is valuated.

This project was presented in the final examination of the subject “Environmental Education” of the Master Degree Program: “New processes in teaching of biological lessons by using modern technology” under the supervision of Prof. T. Katsorchis. We kindly thank the supervisor of the subject Dr. M. Arianoutsou and the main tutor Dr. G. Faraggitakis for their thoughtful enlightening.

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΠΟΥ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΑΠΟ
ΕΠΑΓΩΓΕΙΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΟΣΩΜΑΤΩΝ (PPARs) ΣΤΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΟΥ
ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΛΙΠΙΔΙΩΝ ΣΤΑ ΨΑΡΙΑ****Αντωνοπούλου Ε. ***Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ. - 541 24,
Θεσσαλονίκη

Σημαντικό πρόβλημα στις σύγχρονες εντατικές ιχθυοκαλλιέργειες, αποτελεί η αυξημένη συσσώρευση λίπους στους ιστούς των εκτρεφόμενων ειδών, η οποία οδηγεί σε μείωση της εμπορικής τους αξίας. Επίσης, οι διατροφικές απαιτήσεις των ψαριών σε n-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, που προέρχονται κυρίως από ιχθυέλαια και πρωτεΐνες αλιευόμενων ψαριών, συμβάλλουν στην παγκόσμια μείωση των ιχθυαποθεμάτων εξαιτίας της υπεραλίευσης, καθώς οι ιχθυοκαλλιέργειες εντατικοποιούνται με το χρόνο. Έτσι, είναι επιτακτική η ανάγκη της άμεσης και αποτελεσματικής αντιμετώπισης των παραπάνω προβλημάτων για τη βιωσιμότητα των ιχθυοκαλλιεργειών. Μελέτες σε αμφίβια και θηλαστικά δείχνουν ότι βασικό ρόλο στην ομοιοστάση των λιπιδίων κατέχουν οι υποδοχείς που ενεργοποιούνται από επαγωγείς υπεροξειδισωμάτων (Peroxisome proliferator-activated receptors: PPARs), ρυθμίζοντας τόσο τη β-οξειδωση των λιπαρών οξέων, όσο και τη συσσώρευση τριγλυκεριδίων. Οι PPARs είναι μεταγραφικοί παράγοντες, που ανήκουν στην υπεροικογένεια των πυρηνικών ορμονικών υποδοχέων και ενεργοποιούνται από φυσικά λιπαρά οξέα και από φαρμακευτικές ουσίες με υπολιπιδαιμική δράση. Εμφανίζονται σε τρεις τύπους με διαφορετικούς και διακριτούς ρόλους ο καθένας: α, β ή δ (ανάλογα με το εξεταζόμενο είδος) και γ. Έρευνες σε ποντίκια δείχνουν ότι ο τύπος α συμμετέχει στη ρύθμιση του καταβολισμού των λιπαρών οξέων και των παραγώγων τους. Ο υποδοχέας αυτός εκφράζεται κυρίως σε ιστούς με υψηλούς ρυθμούς καταβολισμού λιπαρών οξέων και αυξημένη υπεροξειδισωματική λειτουργία, δηλαδή στο συκώτι, νεφρά, καρδιά, φαιό λιπώδη ιστό και εντερική βλέννα. Ο τύπος γ παίζει σημαντικό ρόλο στη λιπογένεση, ελέγχοντας την ανάπτυξη και διαφοροποίηση των κυττάρων του λιπώδους ιστού, καθώς και στο μεταβολισμό των υδατανθράκων, διαδραματίζοντας ρόλο υποδοχέα για τα αντιδιαβητικά φάρμακα της TZD κλάσης. Ο PPAR γ εκφράζεται κυρίως στο λιπώδη ιστό και σε λιγότερο βαθμό στο παχύ έντερο, στον αμφιβληστροειδή, τους σκελετικούς μυς, το συκώτι και το ανοσοποιητικό σύστημα. Ο ρόλος του τύπου β ή δ παραμένει αδιευκρίνιστος ενώ υπερτερεί έναντι των δύο άλλων τύπων σε όλους σχεδόν του ιστούς που έχουν εξεταστεί εκτός του λιπώδους ιστού.

* Προσκεκλημένη ομιλήτρια

Πρόσφατα απομονώσαμε και χαρακτηρίσαμε τα αντίστοιχα γονίδια και συμπληρωματικά DNA (cDNAs) για τις τρεις ισομορφές των PPARs από τη τσιπούρα (*Sparus aurata*) και το λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*). Η χρήση της φυλογενετικής ανάλυσης, με βάση τις αλληλουχίες βάσεων των γονιδίων ή/και των αμινοξέων των κωδικοποιούμενων πρωτεϊνών, κατέταξε τους τρεις τύπους PPAR των ψαριών ως ομόλογους των PPAR από άλλους οργανισμούς. Επίσης, η έρευνα της έκφρασης του mRNA των τριών τύπων PPAR στους ιστούς των ψαριών, έδειξε ένα πρότυπο έκφρασης ανάλογο με αυτό που παρουσιάζουν άλλα σπονδυλωτά. Συγκεκριμένα, ο PPAR α εκφράζεται κυρίως στο συκώτι, τον ερυθρό μυ, την καρδιά και τον εγκέφαλο, ενώ ο PPAR β εκφράζεται κυρίως στο συκώτι και στον εγκέφαλο και, τέλος, ο PPAR γ στο συκώτι, στο έντερο και στο λιπώδη ιστό. Η δομή των PPARs χαρακτηρίζεται από τέσσερις δομικές περιοχές (domains). Η περιοχή A/B, που βρίσκεται στο αμίνο άκρο του μορίου, εμπεριέχει μεταγραφική λειτουργία, η οποία είναι ανεξάρτητη από την παρουσία υποκαστάτη. Ακολουθεί η περιοχή C (DNA binding domain - DBD), η οποία συνδέει τον PPAR με το DNA σε συγκεκριμένες ομόφωνες ακολουθίες, τα Peroxisome Proliferator Response Elements (PPREs), των προαγωγέων γονιδίων, η έκφραση των οποίων ρυθμίζεται από τους PPARs. Η περιοχή D λειτουργεί ως σύνδεσμος μεταξύ της DBD και της περιοχής E (ligand binding domain - LBD). Η περιοχή LBD που καταλαμβάνει το COOH άκρο του μορίου του υποδοχέα, περιέχει τη μεταγραφική λειτουργία, η οποία εξαρτάται από την παρουσία υποκαταστάτη. Οι PPARs από την τσιπούρα και το λαβράκι, όπως και οι ομόλογες πρωτεΐνες των θηλαστικών, αναγνωρίζουν και συνδέονται στα PPREs ως ετεροδιμερή με τους υποδοχείς X του ρετινοϊκού οξέως (RXRs, retinoid - X receptors). Μάλιστα τουλάχιστον για τα θηλαστικά, η πλήρης μεταγραφική ενεργοποίηση του ετεροδιμερούς PPAR-RXR εξαρτάται από την παρουσία υποκαταστατών και για τους δύο υποδοχείς. Μελέτη της αναγνώρισης υποκαταστατών των PPARs των ψαριών έδειξε ότι το εικοσανοειδές 8(S)-HETE, το μείγμα τριών ισομερών του συζευγμένου λινολεϊκού οξέως (CLA mix) και η υπολιπιδαιμική ουσία ETYA αποτελούν αποτελεσματικούς υποκαταστάτες για τον PPAR α. Για τον PPAR β, αποτελεσματικοί υποκαταστάτες ήταν το CLA mix, και η υπολιπιδαιμική ουσία Wyl4,643, ενώ για τον τύπο γ, ήταν το φυτανικό οξύ και το CLA mix. Τα παραπάνω υποδηλώνουν ότι οι PPARs στα ψάρια, όπως και στα θηλαστικά, κατέχουν σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό των λιπιδίων. Συνεπώς μπορούν να αποτελέσουν ένα χρήσιμο εργαλείο στην προσπάθεια χειραγώγησης του λιπιδιακού ισοζυγίου στα ψάρια μέσω νέων διατροφικών τύπων και αγωγών.

Το ερευνητικό έργο χρηματοδοτήθηκε από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Q5RS-2000-30360)

THE ROLE OF THE PEROXISOME PROLIFERATOR-ACTIVATED RECEPTOR ISOTYPES (PPARs) IN THE CONTROL OF LIPID METABOLISM IN FISHES

Antonopoulou E. *

Dept. of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki - 541 24, Thessaloniki,

One of the major problems in fish aquaculture is the accumulation of fat in the tissues of farmed fish, which leads to a reduction in its commercial value. In addition, there is considerable interest in the reduction and replacement of fish oils in farmed fish diets without jeopardizing product quality. Therefore, a better understanding of the mechanisms of lipid metabolism in fish is important from both a scientific and commercial point of view. In amphibians and mammals, peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) are recognized as key regulators of both arms of lipid homeostasis, i.e. fatty acid oxidation (catabolism) and triglyceride accumulation (adipogenesis). PPARs are ligand inducible transcription factors that belong to the nuclear hormone receptor superfamily. Known PPAR ligands for the mammalian and amphibian PPARs include natural fatty acids and eicosanoids as well as synthetic compounds such as hypolipidemic drugs belonging to the fibrate class and antidiabetic drugs of the thiazolidinedione class. Three isotypes called PPAR α , β/δ and γ have been identified in mammals and other vertebrates. They display differential tissue distribution and each of the three isotypes fulfills specific functions. PPAR α regulates fatty acid metabolism and is highly expressed in liver, kidney, heart and intestine and brown adipose tissue. PPAR γ regulates adipocyte differentiation and control energy homeostasis and inflammatory responses. PPAR γ is mostly expressed in brown and white adipose tissues and to a lesser extent, in the large intestine, the retina and some parts of the immune system. Little is known about the main function of PPAR β , though it is the most ubiquitously expressed isotype and is found in higher amounts than α and γ in almost all tissues examined, except the adipose tissue. In recognizing the potential of PPARs as a tool to address questions related to fatty acid and lipid metabolism in fish, we have attempted to identify and functionally characterize these receptors from two marine farmed fish species, sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Full-length cDNAs encoding three PPAR isotypes have been characterized recently, from both sea bream and sea bass. By means of sequence alignments and phylogenetic comparisons we showed that these isotypes were structural homologues of mammalian PPARs, and

* Invited speaker

furthermore, the mRNA expression profile of fish PPARs was similar, although not identical, to that observed in other vertebrates. Thus, PPAR α mRNA was mainly expressed in liver, red muscles, heart and brain. PPAR β was detected in liver and brain, whereas, PPAR γ was especially high in liver, gut and adipose tissue. PPARs share the typical domain organization of nuclear receptors. Four main domains are distinguished: the N-terminal A/B domain comprising a ligand-independent transactivation function called activation function 1 (AF-1); the highly conserved C domain forming DNA-binding domain (DBD); the D domain or so-called hinge domain, linking the DBD to the ligand-binding domain (LBD); and, the C-terminal E/F domain or LBD, containing a ligand-dependent transactivation function, termed AF-2. The DNA binding properties of the fish PPARs have been studied with the electrophoretic mobility shift assay and we demonstrated that these receptors, like their mammalian homologues, heterodimerize with the retinoic X receptor (RXR) to bind to a variety of peroxisome proliferator response elements (PPREs) of either mammalian or piscine origin. Transcriptional activation by the PPAR-RXR heterodimer has been shown at least in mammals, to depend on the presence of ligands for both receptors. Screening for fish PPAR ligands, including both naturally occurring fatty acids and synthetic compounds, found that the eicosanoid 8(S)-HETE, and a mix of conjugated linoleic acid (CLA mix) as well as the hypolipidemic compound (ETYA) activated PPAR α . As concerning PPAR β , the most potent activators were the CLA mix and the hypolipidemic drug Wy14,643. Moreover, the CLA mix and the phytanic acid activated PPAR, as identified by transient transfection assays or with the coactivator-dependent receptor ligand assay. The above-mentioned facts point out the importance of PPARs in fish lipid metabolism. The relevance of the above findings to issues of primary importance to modern aquaculture (e.g. excess deposition of fat in the tissues of farmed fish and the replacement of fish oils by plant oils in fish diets) is also discussed.

This work was supported by the EU 5FP (Q5RS-2000-30360).

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΤΡΟΦΙΚΗΣ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΗΣ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΘΗΡΕΥΤΙΚΗ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΗ ΣΕ ΔΥΟ ΣΑΥΡΕΣ ΤΟΥ ΑΙΓΑΙΟΥ

Αποστολοπούλου Μ., Παφίλης Π. και Ε.Δ. Βαλακος

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784 Αθήνα

Η αυτοτομία της ουράς θεωρείται ως ένας από τους πλέον αποτελεσματικούς αντιθηρευτικούς μηχανισμούς στις σαύρες. Συνίσταται στην αποκοπή τμήματος της ουράς όταν το ζώο δεχτεί επίθεση από κάποιο πιθανό εχθρό. Το τμήμα που θα προκύψει κινείται έντονα και παρατεταμένα προκειμένου να προσελκύσει την προσοχή του επίδοξου θηρευτή έτσι ώστε η σαύρα να κατορθώσει να αποδράσει. Η κίνηση αυτή τροφοδοτείται από το αποθηκευμένο στους ιστούς της ουράς γλυκογόνο και αποτελεί μια τυπική περίπτωση αναερόβιου μεταβολισμού.

Στην παρούσα εργασία επιχειρήσαμε να συγκρίνουμε την απόδοση της αυτοτομίας σε δύο είδη σαυρών που έχουν υιοθετήσει ένα διακριτό πρότυπο διαβίωσης και ανήκουν σε διαφορετικές οικογένειες. Το *Cyrtopodion kotschy* (οικογένεια Gekkonidae) είναι ένα νυκτόβιο ως επί το πλείστον είδος το οποίο χαρακτηρίζεται ως παθητικός θηρευτής (στήνει ενέδρα στη λεία του). Η *Podarcis erhardii* (οικογένεια Lacertidae) δραστηριοποιείται αποκλειστικά την ημέρα και κατατάσσεται στους λεγόμενους ενεργούς θηρευτές (κυνηγά την τροφή του). Επιλέξαμε τα συγκεκριμένα είδη διότι παρουσιάζουν μια ευρύτατη εξάπλωση στον αιγαίο χώρο και απαντούν σε συμπατρία. Λόγω του συγκεκριμένου μοντέλου ανεύρεσης τροφής που ακολουθεί η *P.erhardii* εκτείνεται για ικανά χρονικά διαστήματα και παρουσιάζεται πιο ευάλωτη σε μια πιθανή θήρευση. Αντίθετα το *C.kotschy* παραμένει προφυλαγμένο στην θέση όπου έχει επιλέξει να ενεδρεύσει με αποτέλεσμα να δέχεται λιγότερες επιθέσεις. Υποθέσαμε ότι αυτή η ουσιώδης διαφοροποίηση ως προς τη διάρκεια έκθεσης σε θηρευτές θα απεικονίζονταν και στα ποσοστά της αυτοτομίας. Η απόδοση της μελετούμενης ιδιότητας παραμένει σε υψηλά επίπεδα και στα δύο είδη. Πιστεύουμε ότι οι χαμηλές ταχύτητες που αναπτύσσει το *C.kotschy* ευθύνονται για αυτό το αποτέλεσμα. Το συγκεκριμένο είδος είναι αναγκασμένο να καταφύγει σε αυτοτομία αφού δεν μπορεί με απλή διαφυγή να δραπετεύσει (όπως η *P.erhardii*). Αντίθετα εντυπωσιακές διαφορές προκύπτουν στη διάρκεια της κίνησης της ουράς καθώς και στην ποσότητα του γαλακτικού οξέος που παράγεται. Και στις δύο περιπτώσεις οι τιμές είναι υψηλότερες για την *P.erhardii*. Φαίνεται ότι ο μεγάλος κίνδυνος που συνεπάγεται η ενεργός θήρευση συνοδεύεται και από κατάλληλες προσαρμογές ώστε η τμηθείσα ουρά να γίνει πιο "ενδιαφέρουσα" για τους δώκτες της σαύρας αυτής.

THE EFFECT OF THE FEEDING STRATEGY ON THE ANTIPREDATION STRATEGY IN TWO LIZARDS FROM THE AEGEAN ARCHIPELAGO

Apostolopoulou M., Pafilis P. & E.D. Valakos

Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens,
Panepistimioupolis 157 84, Athens, Greece

Tail autotomy, the self-induced tail separation from the body, is widespread among lizards. The vigorous movements of the detached tail are believed to aid escaping by diverting the predator's attention away from the lizard's because movement by a separated tail diverts a predator's attention away from the lizard's body. In addition, such movement increases handling time as the predator attempts to consume it, further permitting the lizard to escape. Post-autotomy tail movement is fuelled by glycogen and supported by anaerobic metabolism.

The aim of this study is to compare autotomy performance between two species belonging in two distant families that follow a different pattern of predation. *Cyrtopodion kotschy* (Gekkonidae), which activates mainly during night is a "sit-and-wait" predator (ambushes to its prey). Contrary *Podarcis erhardii* (Lacertidae) is a strictly diurnal species that actively foraging. Both species show a great dispersion in the Aegean region and live in sympatry.

P. erhardii remains uncovered for long periods due to the particular model of foraging that has adopted. So it risks a high probability of attack. *C.kotschy* instead seems to be safer because of the low risk tactic of ambush. We thus hypothesized that the observed difference in the time of exposure in possible predators would affect tail loss performance.

The ease of the tail amputation remains the same in both the examined species. We believe that *C.kotschy* compensates that way its inefficiency in escaping by fleet. *P.erhardii* on the other hand is capable of high-speed escape, even from specialist saurophagous predator. Nevertheless great differences emerge when we compare the final lactate accumulation and the total motion time of the shed-tail. In both cases the higher values are restricted to *P.erhardii*. It seems that the higher jeopardy of *P.erhardii*'s model of living requests suitable adaptations which will turn the tail portion more "interesting" to the predators eg. higher thrashing-time of the tail.

**SHR3: ΈΝΑ ΝΕΟ ΜΕΛΟΣ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ ΤΩΝ ΠΥΡΗΝΙΚΩΝ
ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ****Αραμπατζίδου Μ., Τσιρώνης Ι., Φερτάκης Β., Ντάλλας Κ. και Κ.Ν. Φλυτζάνης**

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πανεπιστημιόπολη 26500 Ρίο

Το γονιδίωμα του αχινού περιέχει αρκετά γονίδια τα οποία είναι μέλη της οικογένειας των πυρηνικών υποδοχέων και τα οποία εκφράζονται σε διάφορα εμβρυικά στάδια καθώς και σε διάφορους ιστούς στα ενήλικα άτομα. Τέτοια γονίδια κωδικοποιούν τους ορφανούς υποδοχείς COUP-TF και SHR2 οι οποίοι έχουν μελετηθεί εκτενώς. Διαλογή από εμβρυική cDNA βιβλιοθήκη του αχινού οδήγησε σε ένα νέο μέλος της οικογένειας των πυρηνικών υποδοχέων, το οποίο ονομάσαμε SHR3. Για να ταυτοποιηθούν πρόσθετοι πυρηνικοί υποδοχείς στον αχινό, έγινε διαλογή μακροσυστοιχίας BAC γενομικής βιβλιοθήκης χρησιμο-ποιώντας ως ανιχνευτές τμήματα DNA τα οποία ανταποκρίνονται στη περιοχική πρόσδεση DNA των υποδοχέων: COUP-TF, SHR2, SHR3 και του ομολόγου Ftz-fl του αχινού. Τα δεδομένα μας υποδηλώνουν ότι εκτός από τα τέσσερα προσδιορισμένα γονίδια, το γονιδίωμα του αχινού περιλαμβάνει τουλάχιστον δύο ακόμη μέλη της οικογένειας, τα οποία προς το παρόν δεν έχουν προσδιοριστεί. Αλληλούχιση του πλήρους SHR3 cDNA κλώνου (3850 bp) απεκάλυψε ένα ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης μεγέθους 2145bp που κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη μεγέθους 715 αμινοξέων. Αυτή η πρωτεΐνη διαθέτει όλα τα δομικά χαρακτηριστικά ενός πυρηνικού υποδοχέα, όπως περιοχική πρόσδεση του DNA αποτελούμενη από δύο δακτύλους ψευδαργύρου (τύπου C2:C2), περιοχική πρόσδεση ορμόνης, κλπ. Τα αποτελέσματα μέσω χρήσης Blast δείχνουν ότι η περιοχική πρόσδεση του DNA είναι κυρίως ομόλογη με τον υποδοχέα GCNF (Germ Cell Nuclear Factor) που απαντάται στα θηλαστικά και σχετικές πρωτεΐνες από άλλους οργανισμούς όπως ο GRF (GCNF Related Factor). Το πρότυπο έκφρασης του SHR3 στον αχινό κατά τη διάρκεια της εμβρυικής ανάπτυξης αναλύθηκε με RT-PCR, χρησιμοποιώντας ολικό RNA από διάφορα εμβρυικά στάδια του είδους *Paracentrotus lividus*. Το επιλεγμένο ζεύγος εκκινήτων (primers) για τις αντιδράσεις RT-PCR καλύπτει μια περιοχική 550bp του κλωνοποιημένου cDNA στην περιοχική πρόσδεση της ορμόνης. Παρατηρήθηκαν τρία κύρια PCR προϊόντα, το αναμενόμενο, μεγέθους 550bp και δύο μικρότερα. Παρατηρήθηκαν επίσης αλλαγές στα σχετικά ποσά των τριών προϊόντων κατά τη διάρκεια της πρώιμης ανάπτυξης. Όλα τα PCR προϊόντα κλωνοποιήθηκαν με σκοπό να διαπιστωθεί αν αποτελούν προϊόντα εναλλακτικού ματίσματος.

SHR3: A NEW MEMBER OF THE SEA URCHIN NUCLEAR RECEPTORS

Arampatzidou M., Tsironis I., Fertakis V., Dallas C. & C.N. Flytzanis

Department of Biology, University of Patras, Rio 26500, Greece

The sea urchin genome contains several members of the nuclear receptor family of genes, which are expressed at various embryonic stages and in various adult tissues. Such genes encode the orphan receptors COUP-TF and SHR2, which have been extensively studied. A screening of a sea urchin embryonic cDNA library produced a new member of the nuclear receptor family, which we named SHR3. To identify additional nuclear receptors in the sea urchin we screened a macroarrayed BAC genomic library using as probes DNA segments corresponding to the DNA binding domains of COUP-TF, SHR2, SHR3 and the Ftz-FI homologue from sea urchin. Our data suggest that other than the four identified genes, the sea urchin genome contains at least 2 additional currently unidentified members of the family. Sequencing of the complete SHR3 cDNA clone (3850bp) revealed an open reading frame of 2145bp encoding a protein of 715 aminoacids. This protein has all the structural characteristics of nuclear receptors i.e., DNA binding domain composed of two zinc fingers (C2:C2 type), ligand binding domain, etc. Blast results indicate that the DNA binding domain is mostly homologous to mammalian GCNF (Germ Cell Nuclear Factor) receptor and related proteins from other organisms such as GRF (GCNF Related Factor). The expression pattern of SHR3 during sea urchin embryonic development was analyzed with RT-PCR using total RNA from various embryonic stages of *Paracentrotus lividus*. The selected set of primers for the RT-PCR reactions spans a 550bp region of the cloned cDNA in the corresponding ligand binding domain. Three major PCR products were observed, the expected 550bp and two smaller ones. Quantitative changes in the relative amounts of the three products were observed throughout early development. All three PCR products were cloned in order to sequence them and determine whether they represent alternative spliced transcripts.

**ΣΥΝΔΡΟΜΟ BARDET-BIEDL: ΜΟΡΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ
BBS2 ΚΑΙ BBS6 ΣΕ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ ΑΠΟ ΤΗΝ ΒΟΡΕΙΑ ΕΛΛΑΔΑ**

Αυγητίδου Α.¹, Καλογερίδης Α.¹, Κυριακοπούλου Ι.², Τσίγκα Α.¹,
Χαραλαμπίδου-Βρανίτσα Σ.¹, Ιωαννίδου-Παπαγιαννάκη Ε.¹, Βλαχάκη Ε.¹,
Κλωνιζάκης Φ.¹, Καλινδέρη Κ.¹, Κλωνιζάκης Ι.¹, Κυριακόπουλος Γ.², Λευκός Ν.¹

¹Αιματολογικό Εργαστήριο Κυτταρικής και Μοριακής Βιολογίας, Β' Παθολογική Κλινική Α.Π.Θ., Ιπποκράτειο Νοσοκομείο Θεσ/νίκης. ² Μονάδα τεχνητού νεφρού, Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας.

Το σύνδρομο Bardet-Biedl (BBS; MIM 209900) είναι μια πολυγονιδιακή, αυτοσωμική, υποτελής διαταραχή, η οποία χαρακτηρίζεται από πολλαπλά, πρωτεύοντα και δευτερεύοντα, κλινικά χαρακτηριστικά. Στα πρωτεύοντα χαρακτηριστικά ανήκουν η δυστροφία του αμφιβληστροειδούς, η παχυσαρκία, ο υπογοναδισμός, η νοητική καθυστέρηση και η νεφρική δυσπλασία. Άλλα χαρακτηριστικά (δευτερεύοντα), με ποικίλες συχνότητες, είναι ο σακχαρώδης διαβήτης, η ηπατική ίνωση, αναπαραγωγικές ανωμαλίες, καθώς και προβλήματα στο λόγο και τη συμπεριφορά. Η συχνότητα εμφάνισης του συνδρόμου στην Β. Αμερική και στην Ευρώπη ποικίλει από 1:140.000 μέχρι 1:160.000 γεννήσεις, ενώ στο Κουβέιτ και στο Newfoundland του Καναδά, η συχνότητα είναι πολύ μεγαλύτερη. Αναλύσεις σύνδεσης και απλοτύπων σε πολυμελείς οικογένειες αποκάλυψαν τουλάχιστον επτά ασύνδετα γονίδια στο ανθρώπινο γονιδίωμα, που ευθύνονται για την εμφάνιση του συνδρόμου. Ο σκοπός της εργασίας αυτής, η οποία για πρώτη φορά πραγματοποιείται στην Ελλάδα, είναι η γενετική ανάλυση μιας οικογένειας με σύνδρομο Bardet – Biedl. Πιο συγκεκριμένα, έγινε μελέτη των γονιδίων BBS2 και BBS6 για γνωστούς και άγνωστους πολυμορφισμούς και για μεταλλάξεις. Η απομόνωση του γενωματικού DNA έγινε από ολικό αίμα, με τη χρήση ειδικού ΚΙΤ (DNA isolation kit from whole blood – Gentra systems). Δεκαεπτά εξόνια από το BBS2 και έξι εξόνια από το BBS6 ενισχύθηκαν με την τεχνική της Αλυσιδωτής Αντίδρασης της Πολυμεράσης (PCR). Ακολούθησε ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR, με την τεχνική της Ανάλυσης Πολυμορφισμών Μονόκλωνης Αλυσίδας (SSCP), σε όλα τα μέλη της οικογένειας και σε πενήντα υγιή άτομα. Τα διαφορετικά πρότυπα αναλύθηκαν περαιτέρω με τη μέθοδο εύρεσης της πρωτο-διάταξης του DNA (Sequencing). Μέχρι τώρα, η σάρωση των εξονίων των BBS γονιδίων αποκάλυψε διαφορετικά πρότυπα σε αρκετά δείγματα, τα οποία μπορεί να οφείλονται είτε σε μεταλλάξεις, είτε σε πολυμορφισμούς. Χαρακτηριστικά, η ανάλυση της πρωτο-διάταξης του DNA σε ένα δείγμα αποκάλυψε την παρουσία της αλλαγής G532V σε ομόζυγη κατάσταση. Ο ακριβής ρόλος της αλλαγής αυτής είναι υπό διερεύνηση. Ταυτόχρονα, γίνεται συσχετισμός των μοριακών ευρημάτων με το φαινότυπο των ασθενών. Έχει προταθεί ότι η γενετική ετερογένεια στο σύνδρομο Bardet- Biedl μπορεί να προκαλεί τη φαινοτυπική ποικιλομορφία που εμφανίζεται. Η συσχέτιση ανάμεσα στη φύση των μεταλλάξεων στα γονίδια BBS και στην βαρύτητα της ασθένειας παραμένει άγνωστη.

BARDET-BIEDL SYNDROME: MOLECULAR ANALYSIS OF BBS2 AND BBS6 GENES IN A FAMILY FROM NORTHERN GREECE

**Avgitidou A.¹, Kalogeridis A.¹, Kyriakopoulou I.², Tsigas A.¹,
Haralambidou-Vranitsa Σ.¹, Ioannidou-Papagiannaki E.¹, Vlachaki E.¹,
Klonizakis F.¹, Kalinderis K.¹, Klonizakis I.¹, Kyriakopoulos G.², Lefkos N.¹**

¹Laboratory of Molecular Biology and Genetics, Haematology Unit, Second Dept. of Internal Medicine, Aristotle University of Thessaloniki, Hippokraton Hospital, Thessaloniki, Greece

²Renal Unit, General Hospital of Larisa, Larisa, Greece

Bardet-Biedl syndrome (BBS; MIM 209900) is a multigene autosomal recessive disorder, characterized by multiple, primary and secondary clinical features. The primary features include rod-cone dystrophy, central obesity, hypogonadism, mental retardation and renal dysplasia. Other features (secondary) of varying frequency include diabetes mellitus, hepatic fibrosis, reproductive abnormalities and speech and behavior abnormalities. Prevalence rates in North America and Europe range from 1:140000 to 1:160000 live births, however, in Kuwait and in Newfoundland of Canada, the rate is much higher. Linkage studies and haplotype analysis in affected families with many members, revealed at least seven independent genes in the human genome, which are responsible for the syndrome. The aim of this paper, which for the first time takes place in Greece, is the genetic analysis of a family with the syndrome Bardet – Biedl. Particularly, we investigated the BBS2 and BBS6 genes, for known and unknown polymorphisms and mutations. Genomic DNA was extracted from whole blood by Gentra Systems DNA isolation kit. Seventeen exons from BBS2 and six from BBS6 were amplified by polymerase chain reaction (PCR). The PCR products of all the five members of the family and of fifty healthy people from North Greece, were analyzed by polyacrylamide gel electrophoresis, using the Single Strand Conformation Analysis (SSCP). DNA sequencing analysis further analyzed the different SSCP patterns. Until now, many different SSCP patterns were revealed in our study. These patterns may be a result of either mutations or polymorphisms. Specifically, the sequencing analysis in one sample revealed the presence of the G532V variation in homozygous condition. However, the exact role of this variation is still under further investigation. In addition, the molecular findings are related to the phenotype of the patients. It is widely recognized that the substantial genetic heterogeneity in BBS might contribute to the overall phenotypic variation. The correlation among the nature of the BBS mutations and the severity of the disease is still unclear.

**ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΗ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΕΚΤΡΕΦΟΜΕΝΩΝ ΚΑΙ ΑΓΡΙΩΝ
ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΟΥ ΛΑΒΡΑΚΙΟΥ (*Dicentrarchus labrax* L).****Βαβαρούτα Β., Ρογδάκης Γ. και Γ. Κατσέλης**Τμήμα Ιχθυοκομίας-Αλιείας, ΤΕΙ Μεσολογίου, Νέα Κτίρια Μεσολόγγι 302 00,
E-mail: yrogdak@teimes.gr

Στην παρούσα εργασία γίνεται μελέτη της μορφολογικής διαφοροποίησης άγριων και εκτρεφόμενων πληθυσμών λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) με την εφαρμογή πολυπαραγοντικών μεθόδων ανάλυσης, χρησιμοποιώντας 30 χαρακτηριστικές αποστάσεις του σώματος κάθε ατόμου. Στόχος της εργασίας ήταν η σύγκριση των αποτελεσμάτων με εκείνα προηγούμενης μελέτης που προβολές χαρακτηριστικών αποστάσεων του σώματος. Συγκρίθηκαν 181 άτομα άγριου πληθυσμού (μέσου σταθερού μήκους $SL=20.91\pm 2.45\text{cm}$) με 115 άτομα ($SL=20.85\pm 2.43\text{cm}$) από εντατικά εκτρεφόμενο πληθυσμό. Προκειμένου να αφαιρεθεί η ποικιλότητα που οφείλεται στην αλλομετρία, όλες οι μετρήσεις μετασχηματίστηκαν με την εφαρμογή της σχέσης του *Reist*. Η εφαρμογή της ανάλυσης κυρίων συνιστωσών παραγόντων (*PCA*) έδειξε ότι η μεγαλύτερη διαφοροποίηση (73.7% της ολικής ποικιλότητας) συνδέεται με χαρακτήρες που εκφράζουν αποστάσεις που συνδέονται με το ύψος και μήκος των πτερυγίων (κυρίως του I^{ου} ραχιαίου), το μήκος και ύψος του κορμού καθώς και αποστάσεων της περιοχής του κεφαλιού (διάμετρος ματιού, μήκος βραγχιακού επικαλύμματος, μήκος άνω γνάθου). Η εφαρμογή βηματικής ανάλυσης διαχωρισμού έδειξε, ότι τα δείγματα εμφανίζουν σημαντική μορφολογική διαφοροποίηση μεταξύ των πληθυσμών (ποσοστό επανατοποθέτησης 99.7%). Τα αποτελέσματα συμφωνούν απόλυτα με αυτά του πρωτοκόλλου των μετρήσεων των προβολών, γεγονός που σημαίνει ότι δεν αναμένονται διαφορές επιπεδομετρίας στο προφίλ του ψαριού. Η παρατηρούμενη μορφολογική διαφοροποίηση αποδίδεται κυρίως σε διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες (κυρίως θερμοκρασίας και διαθέσιμων θηραμάτων) κατά τη φάση της πρώτης διατροφής, αλλά και στη διαφορετική κολυμβητική δραστηριότητα και στην ποιότητα των θηραμάτων της φάσης ανάπτυξης των εκτρεφόμενων πληθυσμών.

COMPARATIVE MORPHOLOGICAL VARIABILITY OF THE WILD AND REARED SEA BASS *Dicentrarchus labrax* (L)

Vavarouta V., Rogdakis Y. & G. Katselis

Dept. of Aquaculture and Fisheries Technology, Technological Educational Institute of Messolonghi, 30200 MESSOLONGHI, GREECE
E-mail: yrogdak@teimes.gr

Morphological variation in 30 body distances of the sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) samples from wild and reared (hatchery fry in cages) populations were examined using multivariate analysis. The aim of this study was the comparison of results with those of previous study, which was based on the projections distance of the body characteristics. The morphological features obtained from 181 individual of wild (standard length SL=20.91±2.45cm) and from 189 individual of reared in cages sea bass (SL=20.85±2.43cm). In order to minimize any variation resulting from allometry growth, all morphometric measurements were standardized according the Reist's formula. *Principal Components (PCA)* and *Stepwise Discriminant Analysis* revealed a rather high morphological variability between the populations studied. The *PCA* showed that the most of morphological variability (73.7% of the total variability) associated with the height of fins, the body length and height as well as distances on the head. The *Discriminant analysis* revealed that about 99.7% of the examined fish could be correctly classified into the two populations. These findings are in agreement with those of projections protocol measurements and this means that are not expected differences of plane geometry of fishes. The morphological variations in sea bass could be explained in terms of environmental conditions during the postlarvae and larvae phases (mainly temperature and availability of the prey during the first feeding) and the differences in swimming activity and quality of diet during the adult phase.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟΥ ΤΟΥ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΟΥ ΣΤΗΝ
ΟΞΕΟΒΑΣΙΚΗ ΙΣΟΡΡΟΠΙΑ ΤΟΥ ΧΕΡΣΑΙΟΥ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΟΥ
Helix lucorum (L)****Βαβουλίδου Δ., Ανέστης Α. και Β. Μιχαηλίδης**Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών
Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.

Η συγκέντρωση του ατμοσφαιρικού CO₂ και των άλλων αερίων του θερμοκηπίου (GHGs) έχει αυξηθεί σημαντικά από τα μέσα της δεκαετίας του '80 και η αύξηση αυτή αναμένεται να επιταχυνθεί τα επόμενα χρόνια. Τέτοιες αυξήσεις μπορούν να προκαλέσουν πρωτοφανείς τοπικές και παγκόσμιες κλιματικές και συγγενείς περιβαλλοντικές αλλαγές που περιλαμβάνουν αύξηση της παγκόσμιας θερμο-κрасίας, αλλαγές στα μοτίβα καθίζησης και νεφικής κάλυψης, άνοδο της επιφάνειας της θάλασσας, και αυξημένη συχνότητα και δριμύτητα ακραίων καιρικών φαινομένων. Το ερώτημα που τίθεται είναι κατά πόσον οι αλλαγές αυτές είναι ικανές να επηρεάσουν τους οργανισμούς και κατά πόσον τα είδη είναι ικανά να αντιμετωπίσουν επιτυχώς υψηλότερες θερμοκρασίες και συγκεντρώσεις CO₂ από αυτές που βιώνουν σήμερα. Το CO₂ εισέρχεται στα σωματικά κύτταρα με διάχυση οδηγώντας σε μια μείωση του pH των φυσιολογικών τους υγρών. Ως αντίδραση στην αλλαγή αυτή τα χερσαία γαστερόποδα κινητοποιούν τα ιόντα [HCO₃⁻], που προέρχονται κυρίως από το κέλυφος, προκειμένου να εξισορροπήσουν το χαμηλό ενδο- και εξωκυτταρικό pH. Αυτό φαίνεται να επηρεάζει το μεταβολικό ρυθμό και πιστεύεται ότι σχετίζεται με το συνολικό ποσό της ενέργειας που παράγεται. Ωστόσο, οι μεταβολές στην οξεοβασική κατάσταση κατά την εφαρμογή υπερκαπνίας είναι πολύπλοκες και επιπλέον πληροφορίες απαιτούνται ώστε να κατανοήσουμε πώς μια αλλαγή στο pH μπορεί να επηρεάζει τις φυσιολογικές διεργασίες που συμβαίνουν στα χερσαία σαλιγκάρια. Η παρούσα εργασία εξετάζει την επίδραση της παρατεταμένης τεχνητής υπερκαπνίας στο ενδο- και εξωκυτταρικό pH, pCO₂ και [HCO₃⁻] του χερσαίου σαλιγκαριού *Helix lucorum*. Ενήλικα σαλιγκάρια χωρίστηκαν σε ομάδες και τοποθετήθηκαν σε ειδικό θάλαμο στον οποίο διοχετεύσαμε μίγμα αέρα / CO₂ με διαφορετική τη συγκέντρωση του CO₂ από πείραμα σε πείραμα (3,8 ή 7,5 ή 14,8 ή 29,6 ή 60mmHg pCO₂). Σε τακτά χρονικά διαστήματα άτομα απομακρύνονταν από το θάλαμο και προσδιορίζονταν οι οξεοβασικές παράμετροι στην αιμόλεμφο και στους ιστούς (καρδιά, γάγγλια, πόδι) με γνωστές μεθόδους. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα το ενδοκυτταρικό pH δεν επηρεάζεται από τα αυξημένα επίπεδα % CO₂ στον αέρα. Η κινητοποίηση των ιόντων [HCO₃⁻] δίνει μια εξήγηση για αυτήν την εξισορρόπηση. Τα διτανθρακικά προέρχονται κυρίως από το CaCO₃, που είναι μια από τις βασικές ουσίες του κελύφους των ζώων αυτών, με συνέπεια την επιβράδυνση του ρυθμού αύξησης της σάρκας τους. Πράγματι όπως παρατηρήθηκε τα [HCO₃⁻] αυξήθηκαν με την αύξηση του ποσοστού % CO₂ στον αέρα. Η εξισορρόπηση του ενδοκυτταρικού pH έγινε σε βάρος του εξωκυτταρικού pH το οποίο διατηρήθηκε χαμηλό. Οι αρνητικές επιπτώσεις του υψηλού % CO₂ στον αέρα εμφανίστηκαν σε 1,9% CO₂ ενώ σε μικρότερες συγκεντρώσεις το εξωκυτταρικό pH φαίνεται να εξισορροπείται. Η αυξημένη pCO₂ στην αιμόλεμφο είχε ως αποτέλεσμα μια πτώση στο pO₂ υποδηλώνοντας μια πτώση στην κατανάλωση οξυγόνου στα υπερκαπνικά σαλιγκάρια.

GREENHOUSE PHENOMENON AND ITS EFFECT IN THE ACID – BASE BALANCE OF LAND SNAIL *Helix lucorum* (L.).

Vavoulidou D., Anestis A. & B. Michaelidis

Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, Faculty of Biology, School of Science, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, GR – 54006, Greece.

It has become evident that much of the surface of the global has become human dominated. Atmospheric CO₂ concentrations and other so – called greenhouse gases (GHGs) have increased considerably since the early to mid 1800s and are projected to accelerate during the coming century. Such increases are believed to have the potential to cause unprecedented regional and global climatic and related environmental changes, including increase global temperatures, altered patterns of regional precipitation and cloud cover, rises in sea level, and increased frequency and severity of extreme weather events. It is already recognised that the global average temperature is estimated to have risen by up to 0,8 °C since this century began. The evidence for such global and local – scale changes raise the question whether these changes are sufficient to affect organisms and whether species are able to cope with higher temperatures and elevated atmospheric CO₂ concentrations than they currently experience. It is well known that the carbon dioxide (CO₂) can enter the body of the organism by diffusion resulting in a decrease of its pH. In feedback reaction, the terrestrial gastropodes mobilize bicarbonates [HCO₃⁻], derived mainly by the shell, in order to buffer low extracellular and intracellular pH. The latter are seen to affect metabolic processes and are also considered to be relevant to the overall rate of energy turnover. However, the changes in the intra- and extracellular acid – base parameters during environmental hypercapnia are complex, and further data must be obtained in order to provide evidence for the influence of an acid shift of pH on the physiological procedures of land snails. In the aim of this request the present study examines the effects of prolonged artificial hypercapnia on the intra- and extracellular pH, pCO₂ and [HCO₃⁻] of the land snail *Helix lucorum*. Adult snails were separated into groups and exposed to humidified CO₂ / air mixtures of 3,8 or 7,5 or 14,8 or 29,6 or 60mmHg pCO₂. The snails were continuously fed with lettuce leaves and water. In short periods of time snails were withdrawn out and acid –based parameters in the extra- and intracellular biological fluids were determined according to known methods. According to the obtained results the intracellular pH did not affected by the elevated % CO₂ in air and maintained in the tissues (heart, gaggia, foot). The mobilization of bicarbonates from the shell is an explanation of this equilibration. Bicarbonates are derived mainly from the CaCO₃, which is one of the basic constituents of the shells. Thus a prolonged exhibition of animals to hypercapnic conditions can cause a reduction of growth of snails. The latter is based on the [HCO₃⁻] augmentation with the elevation of the percentage % CO₂ in air. The equilibration of the intracellular pH was against the extracellular pH, which dropped under the hypercapnic conditions. The present data shown that the negative effects of hypercapnia in the pH of extracellular fluids appear in 1,9% CO₂ in air whilst before the organism manage to regulate its acid – base balance despite the developed hypercapnia. The increased level of pCO₂ in the hemolymph had as a result a decrease in the pO₂ indicating a drop of oxygen consumption for the hypercapnic snails.

**ΑΚΤΙΝΩΤΟΙ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΙ ΜΙΚΡΟΝΗΜΑΤΙΩΝ ΑΚΤΙΝΗΣ ΕΜΠΛΕ-
ΚΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΠΟΛΩΣΗ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΚΒΛΑΣΤΗΣΗ ΠΡΩΤΟΠΛΑ-
ΣΤΩΝ ΚΑΙ ΤΟ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ ΠΛΑΓΙΩΝ ΚΛΑΔΩΝ ΣΤΟ ΦΥΚΟΣ
Macrocystis pyrifera (ΡΗΑΕΟΡΗΥΣΕΑΕ, LAMINARIALES)**

Βαρβαρήγος Β., Κατσαρός Χ. και Β. Γαλάτης

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Πανεπιστημιόπολη, 15784 Αθήνα

Στην εργασία αυτή διερευνήθηκε η συμμετοχή των μικρονηματίων ακτίνης (MNA) στην πόλωση που προηγείται της ανάπτυξης τοπικών προεκβολών σε προερχόμενα από πρωτοπλάστες κύτταρα (ΠΠΚ) γαμοφυτών *Macrocystis pyrifera*, όπως επίσης και σε απαρχές πλάγιων κλάδων του θαλλού του ίδιου φύκου. Μετά από χρώση των MNA με Ροδαμίνη-Φαλλοϊδίνη αποκαλύφθηκε ένα καλά αναπτυγμένο δίκτυο τυχαία κατανομημένων MNA στο περιφερειακό κυτόπλασμα των πρωτοπλάστων και των κυττάρων του θαλλού. Σε μερικά κύτταρα του θαλλού, στις θέσεις όπου αναμένεται σχηματισμός προεκβολής τα περιφερειακά MNA επαναδιοργανώθηκαν ευρέως και εμφανίστηκαν ακτινωτοί σχηματισμοί MNA που συγκλίνουν σε καθορισμένα σημεία. Παρόμοιοι σχηματισμοί MNA εντοπίστηκαν σε ΠΠΚ στο στάδιο του σχηματισμού ομοιάζουσας με ριζοειδές προεκβολής (ΟΡΠ), όπως επίσης και σε κύτταρα νεαρών θαλλών που προέκυψαν από αναγέννηση πρωτοπλάστων. Οι συγκλίνοντες-ακτινωτοί σχηματισμοί MNA φαίνεται ότι αργότερα μετατρέπονται σε κυκλικές-ακτινωτές δομές που παρατηρήθηκαν στη βάση των προεκβολών που δίνουν πλάγιο κλάδο ή ΟΡΠ. Σε μεταγενέστερα στάδια, τα παραπάνω MNA εξαφανίστηκαν και αναπτύχθηκε ένα φυσιολογικό δίκτυο MNA. Παράλληλα, ένα «κάλυμμα» MNA εντοπίστηκε στην κορυφή των αναπτυσσόμενων ΟΡΠ ή νεαρών πλάγιων κλάδων. Οι θέσεις σύγκλισης των ακτινωτών σχηματισμών των MNA μπορούν να θεωρηθούν ως πιθανές θέσεις πυρήνωσης και/ή οργάνωσης MNA. Επίδραση με τους αναστολείς Latrunculin B (LATB) και Jasplakinolide (JAS), οδήγησε στην αναστολή του σχηματισμού νέων ΟΡΠ στους αναγεννώμενους πρωτοπλάστες, δείχνοντας ότι η δυναμική ακτίνη είναι απαραίτητη για την καθιέρωση πολικότητας και το σχηματισμό των ΟΡΠ.

RADIAL F-ACTIN CONFIGURATIONS ARE INVOLVED IN POLARIZATION DURING PROTOPLAST GERMINATION AND THALLUS BRANCHING OF *Macrocystis pyrifera* (PHAEOPHYCEAE, LAMINARIALES)

Varvarigos V., Katsaros C. & B. Galatis

Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 157 84, Hellas (Greece)

The involvement of actin filaments (AFs) in polarization preceding the development of local outgrowths in protoplast-derived cells (PDCs), as well as in branch initials of *Macrocystis pyrifera* gametophytes was investigated after AF staining with Rhodamine-Phalloidin (Rh-Ph). A well-developed network of randomly distributed AF arrays was found to traverse the cortical cytoplasm of protoplasts and thallus cells. In some thallus cells, the cortical AFs were largely reorganized and pointed-radial AF configurations were formed in the prospective sites of branch emergence. Similar AF configurations were found in PDCs at the stage of rhizoid-like protrusion (RLP) formation, as well as in young thalli regenerated from protoplasts. The pointed-radial AF formations seemed to change into circular-radial structures. These AF structures were observed at the base of the outgrowths resulting in branch or RLP formation. At later stages the above AFs disappeared and the normal AF network was developed. In parallel, AF caps were found at the tip of the developing RLPs or young branches. The sites of convergence of the radial AFs might be considered as putative AF nucleating and/or organizing sites. Treatment with Latrunculin B (LATB) and Jasplakinolide (JAS), resulted in the inhibition of new RLP formation in regenerating protoplasts, showing that dynamic actin is necessary for polarity establishment and the formation of RLP.

ΠΙΘΑΝΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ -174 G>C ΤΟΥ ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ IL-6 ΜΕ ΧΡΟΝΙΑ ΝΕΦΡΙΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ**Βασιλάκου Μ.¹, Χατζηπαναγή Δ.¹, Πέστε Κ.², Σταυροπούλου-Γκιόκα Αικ.², Σπυροπούλου- Βλάχου Μ.², Τσιρπανλής Γ.³, και Κλ. Λάμνισου¹**¹ Τομέας Γενετικής & Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784, Αθήνα² Ανοσολογικό Τμήμα, Π.Γ.Ν. Αθηνών «Γ. Γεννηματάς», ³ Νεφρολογική κλινική, Π.Γ.Ν. Αθηνών «Γ. Γεννηματάς»

Η ιντερλευκίνη-6 (IL-6) είναι μία πλειοτροπική κυτοκίνη η οποία παίρνει μέρος σε πολλές λειτουργίες του οργανισμού και έχει κεντρικό ρόλο στη φλεγμονή. Στην εργασία αυτή μελετήσαμε την πιθανή συσχέτιση πολυμορφισμού του υποκινητή του γονιδίου της IL-6 στη θέση -174G>C με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια. Χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη III ασθενείς οι οποίοι βρισκόνταν σε τελικό στάδιο νεφρικής ανεπάρκειας από διάφορες αιτιολογίες (νεφρο-σκλήρυνση, πολυκυστική νόσος των νεφρών, σακχαρώδης διαβήτης, διάφορες σπειραματονεφρίτιδες) και 120 υγιή άτομα του γενικού πληθυσμού. Για τη μελέτη του πολυμορφισμού χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης, επώαση με κατάλληλη ενδονουκλεάση περιορισμού, ηλεκτρο-φόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης και καταγραφή του γονοτύπου του κάθε ατόμου (ασθενείς-ομάδα ελέγχου). Οι συχνότητες των γονοτύπων GG, GC, CC που παρατηρήθηκαν για τον υπό μελέτη πολυμορφισμό ήταν: 0.49, 0.40, 0.11 αντίστοιχα, για τους ασθενείς και 0.62, 0.31, 0.07, για τα υγιή άτομα του γενικού πληθυσμού. Ο έλεγχος χ^2 έδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των συχνοτήτων των γονοτύπων αυτών στους ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια και των ατόμων του γενικού πληθυσμού. Επειδή η τιμή χ^2 βρίσκεται κοντά στα όρια αποδοχής, η μελέτη θα συνεχιστεί σε μεγαλύτερο αριθμό ασθενών ώστε να εξαχθούν πιο αξιόπιστα συμπεράσματα για την πιθανή συσχέτιση του πολυμορφισμού -174G>C του υποκινητή του γονιδίου της IL-6 με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια.

Η εργασία χρηματοδοτήθηκε από τον ΕΛΚΕ του Πανεπιστημίου Αθηνών

**STUDY FOR POSSIBLE ASSOCIATION OF THE INTERLEUKIN-6 -174
G/C PROMOTER POLYMORPHISM WITH END STAGE RENAL DISEASE
IN THE GREEK POPULATION**

**Vasilakou M.¹, Hadjipanagi D.¹, Peste K.², Staupoulou-Gkioka Aik.²,
Spyropoulou-Vlahou M.², Tspirpanlis G.³, & K. Lamnissou¹**

¹Dept of Genetics & Biotechnology, Faculty of Biology, University of Athens, Athens,
Greece

²Dept of Immunology and ³Dept of Nephrology, "G. Gennimatas" Hospital, Athens,
Greece

In the present study we investigated the possible association between the -174G/C polymorphism of the promoter of interleukin-6 (IL-6) on risk of end stage renal disease (ESRD), in the Greek population. In a prospective case-control study, 111 ESRD patients and 120 healthy controls were studied. We used the PCR-RFLPS method. The frequencies of GG, GC, CC genotypes were 0.49, 0.40, 0.11 in the patient group and 0.62, 0.31, 0.07 in the control group, respectively. The data between the two groups were analyzed by chi-square test. Our results suggest that there is no association of the IL-6 -174G/C promoter polymorphism with ESRD in the Greek population.

The Special Research Account of Athens University supported this work.

**ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ ΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΚΑΡΔΙΟΚΥΤΤΑΡΩΝ HL-I
ΑΠΟ ΤΗΝ ΥΠΟΞΙΑ, ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ****Βασιλόπουλος Α., Σπάθης Α. και Π. Παπαζαφείρη**Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 84 Αθήνα

Η κύρια στρατηγική που ακολουθείται σήμερα για την αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες είναι η ενίσχυση των αντιοξειδωτικών μηχανισμών που διαθέτει το κύτταρο με τη χορήγηση ενώσεων με αντιοξειδωτική δράση. Ωστόσο, ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο δρουν οι ενώσεις αυτές δεν έχει ακόμα πλήρως διαλευκανθεί.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να μελετήσουμε πώς η μείωση των παραγόμενων κατά την υποξία δραστικών μορφών οξυγόνου, μπορεί να εμποδίσει την απόπτωση των διαφοροποιημένων καρδιακών κυττάρων HL-I επάγοντας ταυτόχρονα προστατευτικούς μηχανισμούς. Η μείωση του οξειδωτικού στρες που επιτυγχάνεται παρουσία μιας υβριδικής ένωσης μεταξύ λιποϊκού οξέος και βιταμίνης E, αυξάνει τη βιωσιμότητα των κυττάρων HL-I, ενώ διατηρεί και τα συνολικά επίπεδα του ATP. Ταυτόχρονα, παρατηρείται μείωση του φαινομένου της διόγκωσης των μιτοχονδρίων, που αποτελεί δείκτη της λειτουργικότητας των συγκεκριμένων οργανιδίων, ενώ παράλληλα εμποδίζεται η απελευθέρωση του κυτοχρώματος c στο κυτταρόπλασμα. Αντιθέτως, δεν παρατηρείται αλλαγή στα επίπεδα της αντι-αποπτωτικής πρωτεΐνης Bcl-xl. Τέλος, τα επίπεδα των μεταγράφων του HIF-1a φαίνεται ότι μειώνονται μετά από επίδραση με CoCl_2 για 24h. Το αποτέλεσμα αυτό αναστρέφεται με την προσθήκη της αντιοξειδωτικής ένωσης η οποία αντίθετα δεν επηρεάζει τα επίπεδα των μεταγράφων του ANF. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν πως η μείωση του οξειδωτικού στρες σε κύτταρα που αντιμετωπίζουν υποξικές συνθήκες συμβάλλει στην ενεργοποίηση προστατευτικών μηχανισμών που σχετίζονται με τη διατήρηση της μιτοχονδριακής λειτουργίας και τη σταθεροποίηση του mRNA του Hif-1a.

Η εργασία χρηματοδοτήθηκε από τον ΕΛΚΕ του Πανεπιστημίου Αθηνών

ATTENUATION OF OXIDATIVE STRESS PROTECTS HL-I CARDIOMYOCYTES SUBJECTED TO HYPOXIA

Vassilopoulos A., Spathis A. & P. Papazafiri

Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, National and Kapodistrian
University of Athens, Panepistimiopolis 157 84 Athens - Greece

It is widely accepted that oxidative stress plays a crucial role in many pathophysiological conditions and overproduction of Reactive Oxygen Species (ROS) is implicated in many human diseases. The main strategy in protecting cells from such a situation is the amplification of the antioxidant defense of the cell by administering antioxidant compounds. However, the exact mechanism of antioxidant cytoprotection remains to be elucidated. The aim of our study is to investigate the mechanism by which reduction of produced ROS during hypoxia diminishes apoptosis of HL-I cardiomyocytes inducing at the same time protective mechanisms. Attenuation of oxidative stress was achieved by adding the antioxidant hybrid compound of lipoic acid and vitamin E. The presence of this compound in the culture medium during hypoxia increases cell viability and maintains total ATP levels. Furthermore, mitochondria integrity and function is improved, as indicated by the swelling effect in isolated mitochondria, and the release of cytochrome c in the cytoplasm is prevented. On the contrary, levels of the antiapoptotic protein Bcl-xl remain stable. RT-PCR was used to detect the levels of Hif-1 α and ANF mRNAs in HL-I cardiomyocytes subjected to hypoxia with CoCl₂ for 24h. Our results showed a decrease of Hif-1 α mRNA in the presence of CoCl₂ while addition of the antioxidant reverses this effect. However, it seems that hypoxic conditions do not affect the levels of ANF transcripts. The results of the present study suggest that reduction of oxidative stress in cells undergoing hypoxia, activates selective protective mechanisms related to mitochondrial function and Hif-1 α mRNA stabilization.

The Special Research Account of Athens University supported this work

**ΑΝΑΣΤΟΛΗ ΤΟΥ ΝΗΕ ΣΕ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΟΔΗΓΕΙ ΣΕ
ΑΥΞΗΜΕΝΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΡΙΖΩΝ****Βαφία Αικ.¹, Καλογιάννη Μ.¹, Κολιάκος Γ.²**¹Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Α.Π.Θ. Θεσσαλονίκη 54124²Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Α.Π.Θ. Θεσσαλονίκη, 54124

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη του σηματοδοτικού μονοπατιού που συμμετέχει στην παραγωγή οξειδωτικών ριζών (ROS) μετά από αναστολή του αντιμεταφορέα Na^+/H^+ (NHE) σε κυτταρική σειρά καρκινώματος του επιθηλίου του λάρυγγα ανθρώπου (Hep-2). Μετά από έκθεση σε αυξητικό παράγοντα παρατηρείται ενεργοποίηση του NHE-1 καθώς και ενίσχυση της ενσωμάτωσης της θυμιδίνης στο DNA. Παράλληλα παρατηρείται μείωση στην παραγωγή ελεύθερων οξειδωτικών ριζών (ROS) όπως μετράται με την φθορίζουσα ουσία DCFDA. Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός, ότι μετά την επώαση των κυττάρων παρουσία του αναστολέα του NHE cariporide, παρατηρείται αύξηση της παραγωγής των ROS και μείωση της ενσωμάτωσης της θυμιδίνης. Τα αποτελέσματα μας δείχνουν ότι η αναστολή του NHE μάλλον οδηγεί τα κύτταρα σε απόπτωση, μιας και η αυξημένη παραγωγή ROS και η μείωση της κυτταρικής διαίρεσης σχετίζονται με τη διαδικασία της απόπτωσης.

**INHIBITION OF NHE IN CANCER CELLS LEADS TO INCREASED ROS
PRODUCTION****Vafia A.¹, Kaloyianni M.¹, Koliakos G.²**¹Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki 54124.²Laboratory of Biological Chemistry, Medicine School, Aristotle University of Thessaloniki, 54124

The aim of the present study is to investigate the signal transduction pathway involved in the reactive oxygen species production (ROS) of Hep-2 cancer cell line, after the inhibition of the Na^+/H^+ antiporter (NHE). After growth-factor treatment of the cells, a significant increase of NHE activity and an increase in ^3H -thymidine DNA incorporation were observed. In parallel, a significant decrease of ROS production was observed as measured with the fluorescence agent DCFDA. It is noteworthy that after incubation of the cell with Cariporide, an inhibitor of NHE, ROS production was increased and ^3H -thymidine DNA incorporation was decreased. These results suggest that NHE inhibition may lead rather to apoptosis since the inhibition of cell cycle and increased ROS production have been associated with the apoptotic process.



Metrolab

οδός Σπυριδογιάννη 6-8, 11522, Athens

ΤΗΛ: +30 210 646 88 40, FAX: +30 210 646 37 40

Γενικού ενδιαφέροντος E-mail: info@metrolab.gr

E-mails:

Παντελής Καπέτης: Πωλήσεις – Μικροβιολογία

pkapetis@metrolab.gr

Ποπη Καπέτη: Πωλήσεις – Μικροβιολογία

popik@metrolab.gr

Θοδωρής Αντωνάκος: Πωλήσεις – Χημεία

antonakos@metrolab.gr

Αυλωνίτης Σταμάτης: Τεχνική Υποστήριξη

service@metrolab.gr

**ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΠΟΥ ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΟΥΝ ΤΙΣ
ΚΑΣΠΑΣΕΣ CDAMM ΚΑΙ CDECAY ΣΤΗ *C. capitata*****Βελέντζας Α.Δ., Στραβοπόδης Δ.Ι., Κωνσταντή Ο., Παπασιδέρη Ι.Σ.
και Λ.Χ. Μαργαρίτης**Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784, Αθήνα

Ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος, ή απόπτωση, συνιστά ένα φυσιολογικό μηχανισμό ανάπτυξης και μορφογένεσης πολλών διαφορετικών ιστών. Είναι πλέον ευρέως παραδεκτό, ότι η απόπτωση, αντίθετα με τη νέκρωση, αποτελεί μια γενετικά καθορισμένη και ενεργητική διαδικασία, που συμμετέχει καταλυτικά στην ομαλή ανάπτυξη και λειτουργία ενός μεγάλου αριθμού ιστών. Γενικότερα, οι κασπάσες συγκροτούν μια εξελικτικά συντηρημένη πρωτεϊνική οικογένεια κυτταροπλασματικών πρωτεασών, οι οποίες ανιχνεύονται σε ένα μεγάλο αριθμό διαφορετικών κυτταρικών τύπων με τη μορφή πρόδρομων ανενεργών προ-ενζύμων. Η μετατροπή του προ-ενζύμου της κασπάσης σε καταλυτικά ενεργό κασπάση, δια μέσου εκλεκτικής αυτο-πρωτεόλυσης, αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα γεγονότα έναρξης της απόπτωσης.

Με σκοπό την απομόνωση γονιδίων που κωδικοποιούν διαφορετικές αλλά και νέες μη χαρακτηρισμένες κασπάσες στο έντομο *C. capitata*, απομονώθηκε γονιδιωματικό DNA, το οποίο χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα-μήτρα σε αλυσιδωτή αντίδραση πολυμερασης (PCR). Οι εκκινητές σχεδιάστηκαν σύμφωνα με συντηρημένες περιοχές γονιδίων κασπασών ύστερα από στοίχιση των αντίστοιχων νουκλεοτιδικών αλληλουχιών των *D. melanogaster*, *C. Elegans*, *M. Musculus* και *H. sapiens*. Ύστερα από επεξεργασία των δεδομένων με το πρόγραμμα BlastN προέκυψε ομολογία 99% για τον cDNA κλώνο της cDAMM (*C. capitata* DAMM) κασπάσης με το γονίδιο της *D. melanogaster* πρωτεάσης κυστεΐνης, dDAMM και 99% ομολογία για τον cDNA κλώνο της cDECAY (*C. capitata* DECAY) κασπάσης με την γονιδιακή αλληλουχία της *D. melanogaster* πρωτεάσης κυστεΐνης, dDECAY. Ο υψηλός βαθμός ομολογίας των γονιδίων των κασπασών ανάμεσα σε διαφορετικά είδη, συμφωνεί απόλυτα με προηγούμενα εξελικτικά και ταξινομικά δεδομένα, αποδεικνύοντας συγχρόνως το θεμελιώδη ρόλο της πρωτεολυτικής τους ενεργότητας σε μια πληθώρα διαφορετικών κυτταρικών λειτουργιών.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από το ερευνητικό πρόγραμμα “Ηράκλειτος” του Καθηγητή Λ.Χ. Μαργαρίτη.

ISOLATION OF GENES CODING THE DAMM AND DECAY CASPASES IN THE *C. capitata*

Velentzas A.D., Stravopodis D.J., Konstanti O., Papisideri I.S. & L.H. Margaritis

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, National & Kapodistrian
University of Athens, Panepistimiopolis, 15784, Athens - Greece

The programmed cell death, or apoptosis, consists a physiological mechanism of morphogenesis and growth in many different tissues. It is widely acceptable that apoptosis, in contrast to necrosis, represents a genetically defined and an actively energetic cellular process, which is essentially involved in various steps of embryonic development and growth. In general, caspases are considered as an evolutionary conserved protein family of cytoplasmic proteases that are detected in a large number of different cellular types with the form of precursor inactive zymogens (pro-caspases). The conversion of a pro-caspase family member into a catalytic active enzyme, via selective auto-proteolysis, represents one of the most characteristic events in the initiation of apoptosis.

In order to characterize the genes coding for different and novel caspase family members in the insect *C. capitata*, we isolated genomic DNA and used it as a template in a polymerase chain reaction (PCR) approach. Primers were designed according to conserved coding regions of various caspase genes, through the appropriate alignment of the corresponding nucleotide sequences of *D. melanogaster*, *C. elegans*, *M. musculus* and *H. sapiens*. The obtained data of the BlastN program resulted in 99% homology of the cDAMM (*C. capitata* DAMM) cDNA fragment with the dDAMM cysteine protease gene of *D. melanogaster* and in 99% homology of the cDECAY (*C. capitata* DECAY) cDNA partial clone with the dDECAY sequence of *D. melanogaster* cysteine protease gene. The strong homology between caspase genes from different species is in absolute concordance with previous evolutionary and taxonomic data, also suggesting the essential role of caspase activity in distinct cellular functions.

This research was supported by "HRAKLEITOS" Research Grant to L. H. Margaritis.

**ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΤΩΝ ΔΥΟ ΤΥΠΩΝ
ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΩΝ ΤΟΥ *Mytilus*
galloprovincialis ΜΕ *IN SITU* ΥΒΡΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ****Βενέτης Κ.¹, Ζούρος Ε.² και Γ.Κ. Ροδάκης¹**¹Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784, Αθήνα²Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, 71409 Ηράκλειο, Κρήτη

Μία σημαντική πτυχή της μελέτης του φαινομένου της Διπλής Μονογονικής Κληρονομικότητας (Δ.Μ.Κ.) σε δίθυρα μαλάκια είναι η διαλεύκανση της κατανομής των mtDNA πατρικής (τύπος Μ) και μητρικής (τύπος F) προέλευσης στους ιστούς αρσενικών και θηλυκών ατόμων. Τα μέχρι σήμερα ηλεκτροφορη-τικά δεδομένα προϊόντων PCR υποδεικνύουν μια κατ' εξαίρεση παρουσία των δύο τύπων mtDNA στους ιστούς των δύο φύλων, αλλά δεν έχουν δώσει οριστικές απαντήσεις. Στην παρούσα εργασία επιδιώκεται η προσέγγιση του προβλήματος με *in situ* υβριδοποιήσεις και ειδικούς ανιχνευτές για τους δύο τύπους mtDNA. Τα αποτελέσματα εδραιώνουν την άποψη ότι ο τύπος F δεν περιέχεται σε σπερματοζώαρια και ο τύπος Μ σε ωάρια, γεγονός που υποδεικνύει την ύπαρξη ενός αυστηρού μηχανισμού στις γονάδες, ο οποίος και καθορίζει την παρουσία του αντίστοιχου τύπου mtDNA στα γενετικά κύτταρα. Παράλληλα, οι *in situ* υβριδοποιήσεις προσφέρουν ισχυρές ενδείξεις για τον περιορισμό της μη αναμενόμενης παρουσίας του τύπου Μ σε συγκεκριμένους σωματικούς ιστούς θηλυκών και αρσενικών ατόμων. Το θέμα αυτό εξακολουθεί να βρίσκεται υπό διερεύνηση.

Το βιολογικό υλικό παρέιχε η εταιρία «Ποσειδών Ο.Ε. – Μύδια Νέας Περάμου». Η έρευνα αυτή χρηματοδοτείται από τη Γ.Γ.Ε.Τ. (ΠΕΝΕΔ 01ΕΔ42).

DETECTION OF THE TWO MITOCHONDRIAL GENOME TYPES OF *Mytilus galloprovincialis* BASED ON IN SITU HYBRIDIZATION

Venetis C.¹, Zouros E.² & G.C. Rodakis¹

¹Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Biology,
National & Kapodistrian University of Athens, 157 84 Athens - Greece

²Department of Biology, University of Crete, 714 09, Heraklion - Crete

The basic tenant of DUI (doubly uniparental inheritance of mtDNA) is that the fathers transmit only the M (male-transmitted) genome to their sons and mothers transmit only the F (female-transmitted) genome to both sons and daughters. Another feature of DUI is that somatic tissues of both female and male individuals contain the F genome. The evidence for this expected distribution of the two genomes is contradictory, as several studies have reported low levels of M genomes in somatic tissues of both males and females and presence of the F genome in male gonads. With the help of F-specific and M-specific primers and *in situ* hybridization, we were able to show that the M type cannot be detected in eggs and, conversely, the F type cannot be detected in sperm. Our approach also indicates a limited presence of the M type in certain female or male somatic tissues, but this specific topic requires further examination.

The biological material has been provided by «Poseidon co. – Mussels of New Peramos.» This research is funded by G.S.R.T. (PENED 01ED42).

**ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ
ΑΠΟ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΕΣ ΜΟΝΑΔΕΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΧΑΡΤΙΟΥ ΚΑΙ
ΧΑΡΤΟΜΑΖΑΣ****Βενετσανέας Ν., Σπηλιόπουλος Γ. και Ι. Ηλιοπούλου-Γεωργουδάκη**Εργαστήριο Ρύπανσης και Οικοτοξικολογίας, Τομέας Βιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Πατρών, Ρίο 26500, Πάτρα

Η βιομηχανία χαρτιού ολοένα και αυξάνεται λόγω των σύγχρονων κοινωνικών απαιτήσεων. Παράλληλα όμως, αυξάνεται και η περιβαλλοντική ρύπανση λόγω των στερεών, υγρών και αέριων ρύπων που αποβάλλονται από τις μονάδες παραγωγής χαρτιού και χαρτομάζας (pulp). Στην Ελλάδα και ειδικότερα στο νομό Αχαΐας, δραστηριοποιούνται αρκετές μονάδες τέτοιου είδους, οι οποίες συμβάλλουν σημαντικά στην υδάτινη ρύπανση.

Η απόρριψη στους υδάτινους αποδέκτες μεγάλων ποσοτήτων ακατέργαστων υγρών αποβλήτων από τις συγκεκριμένες δραστηριότητες, αποτελεί μείζον περιβαλλοντικό πρόβλημα. Από βιβλιογραφικές αναφορές, τα απόβλητα αυτών περιέχουν υψηλά επίπεδα οργανικού φορτίου, χλωριωμένες ενώσεις, λιπαρά οξέα, ταννίνες, λιγνίνες και ενώσεις του θείου, που επιδρούν άμεσα και δυσμενώς στο βιοτικό και αβιοτικό περιβάλλον του αποδέκτη.

Στην παρούσα εργασία εκτιμάται η τοξικότητα αποβλήτων αφ' ενός μιας μονάδας παραγωγής χαρτιού και αφ' ετέρου μιας μονάδας ανακύκλωσης χαρτιού και παραγωγής χαρτομάζας. Ο έλεγχος τοξικότητας έγινε με την χρήση του μικροβιοτέστ *Thamnotoxkit F* και πεστροφών (*Oncorhynchus mykiss*). Από την κάθε παραγωγική μονάδα ελήφθησαν τρία διπλά δείγματα αποβλήτου και οι έλεγχοι έγιναν με διπλές επαναλήψεις για μεγαλύτερη αξιοπιστία των αποτελεσμάτων.

Για την εκτίμηση της τοξικότητας υπολογίσθηκε για το μεν *Thamnotoxkit F* το LC_{50} των 24 ωρών, ενώ για τις πέστροφες το LC_{50} των 96 ωρών. Μετά την μετατροπή των αποτελεσμάτων σε τοξικές μονάδες και την εφαρμογή της κλίμακας τοξικότητας, τα απόβλητα των δυο μονάδων σύμφωνα με το μικροβιοτέστ *Thamnotoxkit F* εκτιμώνται ως μη τοξικά. Σύμφωνα με τις πέστροφες, τα απόβλητα από την μονάδα παραγωγής χαρτιού δεν είναι τοξικά, ενώ τα απόβλητα από τη μονάδα ανακύκλωσης χαρτιού και παραγωγής χαρτομάζας, με τιμές τοξικών μονάδων από 2,92 έως 4,85, χαρακτηρίζονται ως «τοξικά».

BIOLOGICAL CONTROL OF TOXICITY OF WASTES FROM INDUSTRIAL UNITS OF PULP AND PAPER PRODUCTION

Venetsaneas N., Spiliopoulos G. & J. Iliopoulou-Georgudaki

Unit of Pollution and Ecotoxicology, Department of Biology, Section of Animal Biology,
University of Patras, Rio 26500, Patras

The paper industry is continuously increasing because of the present social requirements. At the same time however, the environmental pollution also increases because of the solid, liquid and gas pollutants that are produced by the paper and pulp industries. In Greece and more specifically in the Achaia prefecture, numerous units of such type are present, which contribute considerably to the aquatic pollution.

The rejection of large quantities of crude liquid waste from the particular activities, in the aquatic recipients, constitutes a major environmental problem. From bibliographic reports, the wastes of these industries contain high levels of organic load, chlorinated compounds, fatty acids, tannins, lignins and sulphur compounds that have direct and negative effect to the biotic and abiotic environment of the recipient.

In the present work, the toxicity of liquid wastes primarily from a unit of production of paper and secondary from a paper recycling and pulp-producing unit, is estimated. The toxicity evaluation was conducted with the use of the microbiotest Thamnotoxkit F and also with trouts (*Oncorhynchus mykiss*).

From each productive unit three duplicate samples were collected and the toxicity tests were conducted in repetitions for higher credibility of results. For the estimation of the toxicity, the 24-h LC₅₀ and the 96-h LC₅₀ was calculated for the Thamnotoxkit F and for the trouts respectively. After the conversion of the results in toxic units and the application of the toxicity scale, the wastewaters from the two units according to microbiotest Thamnotoxkit F were appreciated as "non toxic". According to the trout toxicity tests, the wastes from the unit of paper production are characterized as "non toxic", while those from the paper recycling unit and pulp production, with values that oscillated from 2,92 to 4,85, were characterized as "toxic".

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ BRI ΜΕ ΤΗ BACE2**Βλαβάκη Μ., Φωτεινοπούλου Α., Ghiso J¹., Ευθυμιόπουλος Σ.**

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784, Αθήνα
¹Department of Psychiatry, School of Medicine, Univ. of New York

Η νευροεκφυλιστική νόσος Alzheimer χαρακτηρίζεται και από τη συσσώρευση πλακών αμυλοειδούς στον εγκέφαλο, κύριο συστατικό των οποίων είναι το πεπτίδιο β-αμυλοειδές (Αβ). Το πεπτίδιο αυτό προκύπτει από πρωτεολυτική επεξεργασία της πρόδρομης πρωτεΐνης του αμυλοειδούς από πρωτεάσες, μία εκ των οποίων είναι η BACE 2. Αντίστοιχα, οι άνοιες Βρετανικού και Δανέζικου τύπου χαρακτηρίζονται από τη συσσώρευση πλακών των πεπτιδίων ABri και ADan. Τα ABri και ADan προκύπτουν μετά από πρωτεόλυση δύο μεταλλαγμένων μορφών της πρωτεΐνης BRI. Στις πλάκες Δανέζικης άνοιας έχει βρεθεί και Αβ, η ύπαρξη του οποίου υποδεικνύει κοινό μηχανισμό στις δύο πορείες νευροεκφυλισμού. Για τη διερεύνηση της παραπάνω υπόθεσης εξετάσθηκε η αλληλεπίδραση πρωτεϊνών που συμμετέχουν στα μονοπάτια πρωτεόλυσης της APP και της BRI. Προς αυτήν την κατεύθυνση πραγματοποιήθηκαν πειράματα ανοσοκατακρήμνισης των BRI και BACE2, οι οποίες βρέθηκαν να αλληλεπιδρούν. Επιπλέον, βρέθηκε ότι η αλληλεπίδραση αυτή δεν επηρεάζεται από τις μεταλλάξεις που είναι υπεύθυνες για την ανάπτυξη των Βρετανικού και Δανέζικου τύπου ανοιών. Για να καθοριστεί η ακολουθία της BRI που αλληλεπιδρά με τη BACE2 κατασκευάστηκαν ελλείψεις της BRI. Πειράματα ανοσοκατακρήμνισης έδειξαν ότι η ακολουθία I-106 εμπλέκεται στην αλληλεπίδραση. Περαιτέρω πειράματα για να καθοριστεί με ακρίβεια η ακολουθία αλληλεπίδρασης βρίσκονται σε εξέλιξη. Επίσης, εξετάζεται ο ρόλος της παραπάνω αλληλεπίδρασης στην ενζυμική ενεργότητα της BACE2.

Αυτή η εργασία χρηματοδοτήθηκε από την American Health Assistance Foundation, τα Ευρωπαϊκά προγράμματα GLK3-CT-2001-02362 και LSHM-CT-2003-503330, τη Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας (ΠΕΝΕΔ), το Πανεπιστήμιο Αθηνών (Καποδίστριας) και το Υπουργείο Παιδείας (Πυθαγόρας).

CHARACTERIZATION OF THE INTERACTION BETWEEN BRI AND BACE2

Vlavaki M., Fotinopoulou A., Ghiso J¹., Efthimiopoulos S.*

Dept of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis 15784 Athens *E-mail: efthis@biol.uoa.gr
¹Department of Psychiatry, School of Medicine, Univ. of New York

Alzheimer's disease is characterized by the accumulation of amyloid plaques in the brain, the main constituent of which is the amyloid beta peptide (A β). This peptide derives from the proteolytic processing of the amyloid precursor protein by secretases, one of which is BACE 2. The British and Danish dementias are characterized by accumulation of plaques the main constituent of which is the ABri peptide and the ADan peptide, respectively. ABri and ADan derive by proteolysis of two mutant forms of the BRI protein. The fact that A β is detected in the plaques of Danish dementia patients may indicate the existence of common neurodegenerative mechanisms in both diseases. In order to examine this hypothesis we studied the interaction of BRI with proteins involved in the proteolysis of APP. To this direction, using co-immunoprecipitation experiments, we found that BRI and BACE2 interact. In addition, we found that this interaction is not significantly affected by the mutations responsible for the development of the British and Danish dementias. In order to determine the BRI sequence that interacts with BACE2 we prepared BRI deletion mutants. Co-immunoprecipitation experiments showed that the BRI sequence I-I06aa is involved in the interaction. Additional experiments are in progress to more accurately determine the sequence of interaction. In addition, we are studying the role of the interaction on the enzyme activity of BACE2.

This work was funded by the American Health Assistance Foundation, European grants GLK3-CT-2001-02362 and LSHM-CT-2003-503330, the General Secretariat for Research and Technology (PENED), the University of Athens (Kapodistrias) and the Ministry of Education (Pythagoras)

**ΣΥΝΔΕΣΗ ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΟΥ ΜΑΤΙΣΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΠΟΛΥΑΔΕΝΥΛΙΩΣΗΣ
ΣΤΟΥΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ COUP-TF****Βουκελάτου Β. Κοζάου Ζ., Δερμενούδης Στ. και Κ.Ν. Φλυτζάνης**

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πανεπιστημιόπολη, 26500 Ρίο

Οι COUP-TFs είναι μεταγραφικοί παράγοντες που ανήκουν στην υπο-οικογένεια των ορφανών πυρηνικών υποδοχέων. Πρόκειται για πολύ συντηρημένα πρωτεϊνικά μόρια που εμφανίζονται σε όλα τα μετάζωα στα οποία εκφράζονται κατά προτίμηση στο νευρικό σύστημα. Εκτός της συντηρημένης αλληλουχίας τους επίσης συντηρημένες είναι οι θέσεις των δύο εσώνιων στα γονίδια του COUP-TF στους διάφορους οργανισμούς. Εφαρμόσαμε τη μέθοδο της RT-PCR σε ολικά RNAs απομονωμένα από διαφορετικά αναπτυξιακά στάδια προκειμένου να παρακολουθήσουμε την εμβρυονική έκφραση του COUP-TF στον αχινό *Paracentrotus lividus*. Επιλέξαμε ένα συνδυασμό εκκινητών που βρίσκονται αριστερά και δεξιά από το πρώτο εσώνιο, το οποίο έχει μέγεθος περίπου 12kb, προκειμένου να αποφευχθεί σύνθεση από πιθανή ανάμιξη γενομικού DNA. Το αναμενόμενο προϊόν της PCR, από τη γνωστή αλληλουχία των COUP-TFs τόσο του αχινού όσο και των θηλαστικών είναι 480bp. Προς έκπληξή μας παραλάβαμε δύο προϊόντα PCR, το αναμενόμενο των 480bp και ένα λίγο μεγαλύτερο προϊόν 540bp. Και οι δύο ζώνες DNA παράγονται από RNAs όλων των αναπτυξιακών σταδίων, από το αγωνιμοποίητο αυγό μέχρι το εμβρυονικό στάδιο του πλουτέα. Τα δύο προϊόντα της PCR κλωνοποιήθηκαν και υπέστησαν αλληλούχιση. Η αλληλουχία αποκάλυψε ότι τα δύο προϊόντα ήταν πανομοιότυπα εκτός από μία παρεμβολή 63bp στο μεγαλύτερο προϊόν. Αυτή η παρεμβολή είναι το αποτέλεσμα του εναλλακτικού ματίσματος ενός μικρού εξωνίου, που βρίσκεται μέσα στο πρώτο εσώνιο, το οποίο κωδικοποιεί ένα πολυπεπτίδιο 21 αμινοξέων, στο ίδιο αναγνωστικό πλαίσιο με την πρωτεΐνη του COUP-TF. Το πολυπεπτίδιο που κωδικοποιείται από το μικρό εξώνιο τοποθετείται στη συνδετική περιοχή του υποδοχέα (hinge region). Είναι πρώτη φορά που εναλλακτικό μάτισμα εντοπίζεται σε μετάγραφο του COUP-TF σε οποιοδήποτε οργανισμό. Προκειμένου να διερευνήσουμε την καθολικότητα αυτής της εύρεσης, οι ίδιοι εκκινητές χρησιμοποιήθηκαν σε νέα εφαρμογή RT-PCR με ολικό RNA απομονωμένο από εγκέφαλο ποντικού, εγκέφαλο zebra fish και από αυγά δύο άλλων ειδών αχινών. Και πάλι προέκυψαν τα δύο προϊόντα DNA, υποδεικνύοντας ότι το εναλλακτικό μάτισμα μπορεί επίσης να είναι εξελικτικά συντηρημένο. Επιπρόσθετα, RT-PCR εφαρμόστηκε σε ξεχωριστά polyA⁺ και polyA⁻ κλάσματα από RNA αυγών αχινού. Τα αποτελέσματά μας υποδηλώνουν ότι το μικρότερο μετάγραφο, αυτό χωρίς το μικρό εξώνιο, είναι πολυαδενυλιωμένο, ενώ το μεγαλύτερο δεν είναι. Είναι πιθανό το εναλλακτικό μάτισμα των COUP-TFs να συνδυάζεται με το μηχανισμό πολυαδενυλίωσης αυτών των μεταγράφων. Θα συζητήσουμε τον πιθανό ρόλο του πρόσθετου πολυπεπτιδίου στη συνδετική περιοχή των COUP-TFs καθώς και την παρατηρούμενη σχέση του εναλλακτικού ματίσματος και της πολυαδενυλίωσης των μεταγράφων.

LINKED ALTERNATIVE SPLICING AND POLYADENYLATION IN COUP-TFS

Voukelatou D., Kozaou Z., Dermenoudis St. & C.N. Flytzanis

Department of Biology, University of Patras, Rio 26500, Greece

COUP-TFs are transcription factors belonging to the sub-family of orphan nuclear receptors. COUP-TFs are very conserved proteins found in all metazoa preferentially expressed in the nervous system. In addition to the extensive sequence conservation, the positions of the two introns in COUP-TF genes from various animals are also conserved. We have used RT-PCR with total RNAs isolated from different developmental stages to follow the embryonic expression of COUP-TF in the sea urchin *Paracentrotus lividus*. We chose a set of primers that span the first intron, which is about 12kb in size, to avoid possible interference from contaminating DNA. The expected PCR product from sequence information of sea urchin as well as mammalian COUP-TFs is 480bp. To our surprise we obtained two PCR products, the expected 480bp and a slightly larger of 540bp. Both DNA bands are obtained from RNAs of all developmental stages from the unfertilized egg to the pluteus embryonic stage. The two PCR products were cloned and sequenced. The sequencing information revealed that the two products were identical except for a 63bp insertion in the larger one. This insertion is the result of alternative splicing of a small exon, within the first intron encoding a polypeptide of 21 amino acids in frame with the rest of the COUP-TF protein. The polypeptide encoded by the small exon is positioned in the hinge region of the receptor. It is the first time that alternative splicing is encountered in COUP-TF transcripts in any organism. To investigate the generality of this finding, the same PCR primers were used in RT-PCR with total RNA isolated from the brain of mice and eggs of two other sea urchin species. The same two bands were obtained with the mammalian RNA sample and the RNAs from the other sea urchin species, indicating that the alternative splicing event might also be evolutionarily conserved. Furthermore, RT-PCR was performed with separated polyA⁺ and polyA⁻ fractions of sea urchin egg RNA. Our results indicate that the smaller transcript, i.e. the one without the small exon, is polyadenylated whereas the larger transcript is not. It is possible that the alternative splicing of COUP-TFs is coupled to the polyadenylation mechanism of these transcripts. We will discuss the possible role of the additional polypeptide in the hinge region of COUP-TFs as well as the observed coupling of alternative splicing and polyadenylation of transcripts.

**ΓΟΝΑΔΟΣΩΜΑΤΙΚΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ ΚΑΙ ΩΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΜΟΡΦΟΜΕΤΡΙΑ
ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *Sarda sarda* ΣΤΟ ΑΙΓΑΙΟ****Βούρτση Αθ., Βεϊνή Μ., Μεγαλοφώνου Π.**

Τομέας Ζωολογίας – Θαλάσσιας Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784, Αθήνα
E-mail: P.megalo@biol.uoa.gr

Η παλαμίδα, *Sarda sarda* (Bloch, 1793), της οικογένειας Scombridae είναι είδος πελαγικό, μεταναστευτικό και απαντάται στις εύκρατες και τροπικές περιοχές του Ατλαντικού ωκεανού, στη Μεσόγειο και τη Μαύρη θάλασσα. Στην παρούσα εργασία εξετάσθηκαν ο γοναδοσωματικός δείκτης και η γεννητική ωριμότητα των ωοθηκών με ιστολογικά κριτήρια, σε 40 άτομα, βάρους από 302 έως 2015g και μήκους από 29 έως 54 cm, που αλιεύθηκαν στο Αιγαίο την περίοδο Ιούλιος 2001 – Σεπτέμβριος 2002.

Η ιστολογική μελέτη των δειγμάτων βασίστηκε στην μορφολογική εξέταση, στη χρώση και στη μέτρηση της διαμέτρου των ωοκυττάρων. Με τον τρόπο αυτό πιστοποιήθηκε η ύπαρξη των εξής σταδίων: περιπυρηνισκικό, λιπιδικό, πρώιμο λεκιθογενετικό, ώριμο λεκιθογενετικό, μεταναστευτικό, ενυδατωμένο και ατρησιακό. Η διάμετρος των ωοκυττάρων κυμάνθηκε από 30μm έως 450μm.

Χαρακτηριστική ήταν η ταυτόχρονη ύπαρξη ωοκυττάρων διαφόρων μεγεθών και διαδοχικών σταδίων ανάπτυξης σε ώριμα άτομα, κάτι που αποδεικνύει πως οι παλαμίδες έχουν ασύγχρονη ωοκυτταρική ανάπτυξη και επομένως μπορούν να θεωρηθούν πολλαπλοί ωοαποθέτες. Οι ωοθήκες των ώριμων ατόμων ήταν ανενεργές από τον Αύγουστο έως τις αρχές Μαρτίου αφού περιείχαν μόνο περιπυρηνισκικά ωοκύτταρα. Η ύπαρξη λιπιδικών ωοκυττάρων, που σηματοδοτεί την έναρξη της ανάπτυξης της ωοθήκης παρατηρήθηκε στις αρχές Απριλίου. Πρώιμα λεκιθογενετικά ωοκύτταρα παρατηρήθηκαν στα τέλη Απριλίου ενώ ώριμα λεκιθογενετικά κατά τους μήνες Μάιο, Ιούνιο και Ιούλιο. Τα ατρησιακά ωοκύτταρα, που σηματοδοτούν την λήξη της ωοτοκίας, παρατηρήθηκαν στα τέλη Ιουλίου. Ο γοναδοσωματικός δείκτης κυμάνθηκε από 0,04 έως 4 με μέγιστη τιμή στα τέλη Ιουνίου.

GONADOSOMATIC INDEX AND OOCYTE MORPHOLOGY OF ATLANTIC BONITO, *Sarda sarda*, IN THE AEGEAN SEA

Vourtsi A., Veini M., Megalofonou P.

Department of Biology, Section of Zoology-Marine Biology, University of Athens-Panepistimiopolis, 15784, Athens – Greece. E-mail: P.megalo@biol.uoa.gr

Atlantic bonito, *Sarda sarda*, (Bloch, 1793), is an epipelagic, emigrational species (Scombridae) that is distributed in temperate and tropical areas of the Atlantic Ocean, the Mediterranean and the Black sea. The present study examines the gonadosomatic index and the ovarian cycle using histological methods. The 40 specimens that were collected during the period July 2001-September 2002, ranged from 29 to 54 cm in fork length and from 302 to 2015g in weight.

Ovarian histological examination, on the basis of oocyte morphology, staining affinity and diameter, made possible a detailed histological identification of seven oocyte developmental stages: perinucleolar, lipid, early vitellogenic, late vitellogenic, migratory nucleus, hydrated and atretic. The diameter of the oocytes ranged from 30 to 450µm.

The simultaneous presence of all the oocyte developmental stages in the spawning specimens indicated that bonito has an asynchronous oocyte development and therefore they are thought to be multiple spawners.

The ovaries of mature bonito were non-active from August to early March, since they contained only perinucleolar-stage oocytes. Lipid oocytes, that indicate the ovary development, appeared in April. Vitellogenic oocytes were observed in late April while post vitellogenic oocytes in May, June and July. Atretic oocytes, that indicate the end of the spawning period, were observed in late July. Gonado-somatic index varied from 0.04 to 4, reaching its highest value in late June.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΣΤΗ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ ΤΩΝ
MAPKs ΣΤΟ *Mytilus galloprovincialis*****Γαϊτανάκη Κ., Κεφαλογιάννη Ε., Κωτσάκης Σ., Φερλέ Β., Γουργού Ε., Μπέης Ι.**Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784, Αθήνα

Μελετήθηκε η επίδραση βαρέων μετάλλων στη σηματοδότηση των ενεργο-ποιούμενων από μιτογόνα πρωτεϊνικών κινασών (MAPKs) σε ιστούς του θαλάσσιου ασπονδύλου *Mytilus galloprovincialis*. Επίδραση με 1 μM CuCl_2 είχε ως αποτέλεσμα την άμεση (από το 15^ο λεπτό) φωσφορυλίωση της p38-MAPK στα βράγχια του ζώου. Η ενεργοποίηση αυτή (~ 10,5 φορές σε σχέση με το μάρτυρα) παρέμεινε σε υψηλά επίπεδα ακόμη και μετά από 2 ώρες επίδρασης. Παρουσία 50 μM ZnCl_2 παρατηρήθηκε, επίσης, σημαντική ενεργοποίηση της p38-MAPK, με μέγιστο περίπου 13,2 φορές σε σχέση με το μάρτυρα, μετά από 30 λεπτά επίδρασης. Ακολούθησε μικρή, σταδιακή μείωση της ενεργοποίησης αυτής. Επίδραση με 50 μM CdCl_2 οδήγησε σε φωσφορυλίωση της p38-MAPK από το 15^ο λεπτό, η οποία παρουσίασε μέγιστη τιμή (περίπου 8,7 φορές σε σχέση με το μάρτυρα) μετά από μία ώρα εφαρμογής της συγκεκριμένης συνθήκης. Παράλληλα, εξετάστηκε το χρονικό πρότυπο ενεργοποίησης των ERKs από τα παραπάνω βαρέα μέταλλα. Παρατηρήθηκε μικρή (έως 3 περίπου φορές) και παρατεταμένη ενεργοποίηση. Επειδή δεν έχει εξακριβωθεί αν η ενεργοποίηση των MAPKs σε αντίστοιχες συνθήκες οδηγεί σε προστασία των κυττάρων ή σε απόπτωση, εφαρμόστηκε η τεχνική θραύσης του DNA σε επιλεγμένα δείγματα. Σε συνθήκες που σημειώνεται μέγιστη ενεργοποίηση της p38-MAPK, παρατηρήθηκε η χαρακτηριστική εικόνα θραύσης του DNA, ενδεικτική της απόπτωσης.

Η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Ε.Κ.Π.Α. και το Εμπειρικό Ίδρυμα Αθηνών

EFFECT OF VARIOUS HEAVY METALS ON THE MAPK SIGNALLING PATHWAYS IN *Mytilus galloprovincialis*

Gaitanaki C., Kefaloyianni E., Kotsakis S., Ferle V., Gourgou E., Beis I.

Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, 157 84, Athens - Greece

We have studied the effect of heavy metals in the MAPKs signal transduction pathways in the marine invertebrate *Mytilus galloprovincialis*. 1 μ M CuCl₂ rapidly activated the p38-MAPK by ~10.5-fold, relative to control, in the mussel's gills. This activation remained elevated even after 2 hours of treatment. In the presence of 50 μ M ZnCl₂ the p38-MAPK was maximally activated by 13.2-fold within 30min of treatment. After this time point, a gradual but limited decline of the p38-MAPK activation was observed. Treatment with 50 μ M CdCl₂ induced the phosphorylation of the above kinase from the 15th min, reaching its maximum value (~ 8.7-fold) at the 1-hour time point. Furthermore, the effects of the above-mentioned heavy metals on the ERKs phosphorylation were examined. A modest (~3-fold) and prolonged activation of these kinases was observed. As it is not clear whether the activation of MAPKs in similar conditions protects cells or induces apoptosis, the DNA laddering method was used to assess if there is apoptotic death in our samples. Under the conditions that maximal p38-MAPK activation was induced, the characteristic DNA fragmentation was observed.

This work was supported by a grant from the Special Research Account of the University of Athens and the Empeirikeio Foundation of Athens

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΚΑΙ ΤΟΥ ΟΞΕΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΑΖΩΤΟΥ (NO) ΣΤΑ ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ ΤΩΝ MAPKs ΤΗΣ ΚΑΡΔΙΑΣ ΤΟΥ ΑΜΦΙΒΙΟΥ *Rana ridibunda*

Γαϊτανάκη Κ., Παπατριανταφύλλου Μ., Σαϊτάκης Μ.,
Σταθοπούλου Δ., Μπέης Ι.

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784, Αθήνα

Η οικογένεια των MAPKs συμμετέχει ευρέως στη μεταγωγή σήματος από την επιφάνεια του κυττάρου στον πυρήνα. Συσσωρευμένα στοιχεία που προκύπτουν από τη μελέτη των MAPKs σε διαφορετικούς οργανισμούς υποδηλώνουν ότι η συγκεκριμένη οικογένεια πρωτεϊνικών κινασών μεσολαβεί στη μετάδοση σήματος κάτω από στρεσογόνες συνθήκες. Προηγούμενες μελέτες μας έχουν δείξει ότι οι MAPKs ενεργοποιούνται ισχυρά από το οξειδωτικό στρες (επίδραση H_2O_2) στην απομονωμένη εμποτιζόμενη καρδιά του αμφιβίου *Rana ridibunda*. Διερευνήσαμε την απόκριση των MAPK μονοπατιών σε οξειδωτικό στρες επαγόμενο από $CoCl_2$ και το σύστημα ξανθίνης/οξειδάσης της ξανθίνης (X/XO) και στο οξείδιο του αζώτου (NO), εμποτίζοντας απομονωμένες καρδιές σε συσκευή Langendorf και εφαρμόζοντας μεθόδους Western Blot και Ανοσοϊστοχημείας. Το $CoCl_2$, που παράγει OH και O_2^- , σε συγκέντρωση 0,5 mM και σε χρόνο 10min επάγει έντονη ενεργοποίηση της p38-MAPK συγκρίσιμη με την επίδραση 30μM H_2O_2 για 2min. Παράλληλα, ενεργοποιεί και τις p46, p52 ισομορφές των JNKs. Παρόμοια, το σύστημα X (200μM)/XO(10mU/ml), που είναι πηγή O_2^- , H_2O_2 , OH , για 10min, ενεργοποιεί τα μονοπάτια της p38 και των JNKs. Η ενεργοποίηση της p38 από τους οξειδωτικούς παράγοντες, αντίθετα, αναστρέφεται όταν κατά τον εμποτισμό χορηγείται παράλληλα ασκορβικό οξύ (100 μM) ή το ένζυμο εξουδετέρωσης του H_2O_2 , καταλάση (150 U/ml). Η αναστολή που παρατηρείται είναι ανάλογη με αυτήν του ειδικού αναστολέα της p38-MAPK, SB203580 (1 μM). Επιπλέον, το H_2O_2 προκαλεί μειωμένη ενεργοποίηση της p38-MAPK αν στην εξισορρόπηση έχει προστεθεί L-αργινίνης (3mM). Για τη μελέτη της επίδρασης του NO χρησιμοποιήθηκε η ουσία SNAP ως αυθόρμητος δότης NO και η L-αργινίνη που αποτελεί το υπόστρωμα των συνθετασών του NO. Παρατηρήσαμε μέγιστη ενεργοποίηση της p38-MAPK και των JNKs μετά από χορήγηση SNAP σε συγκέντρωση 100 μM για 5min. Συμπερασματικά, τα μονοπάτια των MAPKs ενεργοποιούνται από πολλαπλές πηγές οξειδωτικού στρες και το NO στην καρδιά των αμφιβίων.

Η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από τον ΕΛΚΕ του ΕΚΠΑ

THE EFFECT OF OXIDATIVE FACTORS AND NITRIC OXIDE (NO) ON THE MAPK SIGNALLING PATHWAYS IN THE *Rana ridibunda* HEART

Gaitanaki C., Papatriantafyllou M., Saitakis M., Stathopoulou D., Beis I.

Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis 157 84 Zografou Athens - Greece

The MAPK family is widely involved in the signal transduction from the cell surface to the nucleus. Accumulating data from studies on the MAPKs in diverse organisms suggest that these protein kinases mediate the signal transduction under stressful conditions. In our previous studies we have shown that MAPKs are strongly activated by oxidative stress (H_2O_2) in the isolated perfused *Rana ridibunda* heart. We have investigated the response of the MAPK signalling pathways to oxidative stress - generated by either $CoCl_2$ or the xanthine/xanthine oxidase system (X/XO) - and to nitric oxide (NO), by perfusing the isolated amphibian hearts in the Langendorff apparatus and by using the methods of Western Blotting and Immunohistochemistry. $CoCl_2$, which produces $\cdot OH$ and O_2^- , activates the p38-MAPK when used in a concentration of 0.5 mM for 10min. This activation is comparable to that caused by 30 μM H_2O_2 for 2 min. In addition, $CoCl_2$ induces a strong phosphorylation of both JNK isoforms (p46 and p52, respectively). Similarly, the effect of the X/XO system (200 μM , 10mU/ml respectively, for 10min), which represents a O_2^- , H_2O_2 , $\cdot OH$ source, activates the p38 and JNK pathways. The p38-MAPK activation induced by the oxidative factors studied is abolished by either 100 μM ascorbic acid or the H_2O_2 scavenging catalase (150 U/ml). This effect is similar to the one induced by the p38-MAPK specific inhibitor SB203580 (1 μM). Furthermore, preconditioning with 3 mM L-arginine results in the reduced p38-MAPK phosphorylation by H_2O_2 . In order to study the effect of NO, we have used SNAP, a spontaneous NO donor, and L-arginine, which is a NO synthase substrate. Maximal p38-MAPK and JNK activation was induced by 100 μM SNAP for 5 min. As a conclusion, the MAPK signalling pathways are activated by multiple sources of oxidative stress and by NO in the amphibian heart.

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

Η ΠΟΛΥΠΛΟΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΣΠΕΡΜΑΤΟΘΗΚΗΣ ΣΕ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ *Helix aspersa* ΑΠΟ ΕΝΔΙΑΙΤΗΜΑΤΑ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΜΙΚΡΟΚΛΙΜΑΤΙΚΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ

Γαρεφαλάκη Μ.-Ε. και Α. Στάικου

Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54124 Θεσσαλονίκη

Δύο από τις συνιστώσες της φυλετικής επιλογής οι οποίες λειτουργούν στα ερμαφρόδιτα ζώα, ο σπερματικός ανταγωνισμός και η κρυπτική επιλογή του θηλυκού είναι δυνατόν να μελετηθούν στο χερσαίο γαστερόποδο *Helix aspersa* λόγω της συμπεριφοράς πολλαπλών ζευγαρωμάτων, καθώς και της ύπαρξης στο αναπαραγωγικό του σύστημα χώρων αποθήκευσης και καταστροφής σπερματοζωαρίων. Στην εργασία αυτή διερευνήθηκε η συσχέτιση της έντασης του σπερματικού ανταγωνισμού με την πολυπλοκότητα της δομής του οργάνου αποθήκευσης σπέρματος, δηλαδή της σπερματοθήκης. Ως μέτρο έκφρασης της έντασης του σπερματικού ανταγωνισμού λήφθηκε το μικροκλίμα του ενδιαιτήματος, και πιο συγκεκριμένα ο παράγοντας της υγρασίας.

Εξετάσθηκαν οι σπερματοθήκες ατόμων του είδους *Helix aspersa*, από πληθυσμούς που προέρχονταν από καλλιεργούμενα κτήματα με συνεχές πότισμα και από άλλους που προέρχονταν από ακαλλιεργήτους αγρούς. Σε κάθε ζώο μετρήθηκε η μεγάλη διάμετρος (D) και το ύψος (H) του κελύφους, καθώς και ο αριθμός των σπειρών του κελύφους (W). Έγινε απομόνωση των ιστών (σπερματοθήκες) από το υπόλοιπο αναπαραγωγικό σύστημα, αφυδάτωσή τους, έγκλεισή τους σε παραφίνη και κοπή τους με μικροτόμο. Δημιουργήθηκαν σειρές διαδοχικών τομών πάχους 10 μm, οι οποίες βάφθηκαν με τις χρωστικές Nuclear Fast Red και Light Green Orange G. Έγινε παρατήρηση των τομών σε οπτικό μικροσκόπιο και καταγραφή του μορφολογικού προτύπου της σπερματοθήκης.

Η σπερματοθήκη του *Helix aspersa* αποτελείται από απλό χώρο γονιμοποίησης και πολλαπλό αριθμό τυφλών σωληναρίων, τα οποία δημιουργούνται από τη διακλάδωση ενός κύριου σωληναρίου. Ο αριθμός των τυφλών σωληναρίων στα άτομα των πληθυσμών που εξετάσθηκαν κυμαίνονταν από 2 έως 10. Ο ελάχιστος αριθμός σωληναρίων δεν διέφερε μεταξύ των πληθυσμών και ήταν από 2 έως 3 σωληνάκια ενώ ο μέγιστος αριθμός διέφερε και κυμάνθηκε από 6 έως 10 σωληνάκια στα άτομα των διαφόρων πληθυσμών.

SPERMATHECAL COMPLEXITY IN POPULATIONS OF *Helix aspersa* FROM DIFFERENT MICROCLIMATIC HABITATS

Garefalaki M.-H. & A. Staikou

Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University, 54124 Thessaloniki

Two of the components of sexual selection operating in hermaphroditic animals, sperm competition and cryptic female choice, can be studied in the terrestrial gastropod *Helix aspersa*, due to its multiple mating behavior and the existence of a sperm storage organ and a gametolytic gland in its genital system. In this study we examined the relationship between spermatheca complexity and sperm competition intensity. Habitat microclimate and more specifically humidity conditions were used as a measure of sperm competition intensity.

Spermathecae of *Helix aspersa* individuals were examined in populations coming from both constantly watered cultivated fields and uncultivated ones. Great diameter (D), height (H) and number of shell whorls (W) were measured in each shell. Tissues were isolated, dehydrated, enclosed in paraffin, serially cut in 10 μ m slices and stained using Nuclear fast red and Light Green Orange G. Spermathecae were observed under a microscope and their morphological pattern was determined.

Our results showed that the spermatheca of *Helix aspersa* consists of a simple fertilization chamber and multiple blind tubules branching from a main tubule. The number of blind tubules in the individuals of the examined populations varied from 2 to 10. The minimum number of blind tubules did not differ among populations and varied from 2 to 3 while the maximum number was found to vary from 6 to 10.

ΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΗ ΠΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΛΑΒΡΑΚΙΟΥ (*Dicentrarchus labrax*)**Γεωργακοπούλου Ε.¹, Κουττούκη Σ.¹, Σφακιανάκης Δ.Γ.², Divanach P.³,
Κεντούρη Μ.², Κουμουνδούρος Γ.¹**¹Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26110 Πάτρα, Ρίο, E-mail: koumound@upatras.gr²Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, 71409 Ηράκλειο, Κρήτη. ³ΕΛΚΕΘΕ, Ινστιτούτο Υδατοκαλλιεργειών, Λιμάνι Ηρακλείου, Τ.Θ. 2214, 71003 Ηράκλειο Κρήτη

Δεδομένης της σημασίας της θερμοκρασίας στην οντογένεση καθώς και στον καθορισμό του φύλου των ψαριών, μελετήθηκε η επίδραση αυτής στη φαινοτυπική πλαστικότητα του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*). Η μελέτη αυτή βασίσθηκε σε δείγματα που προέρχονταν από κοινό απόθεμα αυγών. Τέσσερις πληθυσμοί λαβρακιού υποβλήθηκαν ανά ζεύγη σε δυο διαφορετικές θερμοκρασιακές συνθήκες (15 και 20° C) από το στάδιο της επιβολής μέχρι το μέσο της μεταμόρφωσης. Από το στάδιο της μεταμόρφωσης και μετά υποβλήθηκαν σε κοινές συνθήκες. Η επιλογή των συγκεκριμένων θερμοκρασιακών συνθηκών έγινε με βάση το ότι αποτελούν τα όρια της μέγιστης οντογενετικής πλαστικότητας. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν η γεωμετρική μορφομετρία, βάσει της οποίας εξετάστηκαν οι διαφορές σχήματος μεταξύ τριών διαφορετικών σταδίων (15.0-17.0 mm, 24.0-26.0 mm, 190-200 mm ολικού μήκους, TL) σε ένδο- και διαπληθυσμιακό επίπεδο. Επιπρόσθετα μελετήθηκαν οι διαφορές σχήματος μεταξύ των δύο φύλων. Η δυναμικότητα της τεχνικής αυτής βασίζεται στην οπτική απεικόνιση των διαφορών σχήματος που διαφαίνονται ως πλέγματα παραμορφώσεων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η θερμοκρασία ανάπτυξης επιδρά σημαντικά στο σχήμα των νυμφών κατά τη μεταμόρφωση (15.0-17.0 mm TL), στα ιχθύδια μεγέθους 24.0-26.0 mm TL, καθώς και στα μεγαλύτερα άτομα (190-200 mm TL). Τέλος σημαντικές διαφορές σχήματος βρέθηκαν και μεταξύ των αρσενικών και θηλυκών ατόμων, ανεξαρτήτως της θερμοκρασίας ανάπτυξης.

PHENOTYPIC PLASTICITY IN SEA BASS (*Dicentrarchus labrax*)

Georgakopoulou E.¹, Kouttouki S.¹, Sfakianakis D.G.², Divanach P.³,
Kentouri M.², Koumoundouros G.¹

¹Lab. of Zoology, Biology Dept, University of Patras, 26110, Patras E-mail:
koumound@upatras.gr

²Biology Department, University of Crete, 71409 Heraklio, Crete

³HCMR, Institute of Aquaculture, Port of Heraklio, P.O. Box 71003
Heraklion, Crete

Among the environmental factors studied so far, temperature appears to be the most important factor affecting the ontogeny and sex determination. We studied the temperature-induced phenotypic plasticity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Eggs were obtained from a broodstock of the same genetic origin. Four experimental groups were subjected in duplicate to two different water temperatures (15 and 20° C). Temperature treatment lasted from the stage of epiboly until the middle of metamorphosis (15.0-17.0 mm TL), while during the following growing phase all groups were subjected to common rearing conditions. The two temperature regimes were selected because they constitute the limits of maximum ontogenetic plasticity. In this study, geometric morphometrics have been used to characterize shape changes between three different stages (15.0-17.0 mm, 24.0-26.0 mm 190-200 mm TL) at intra- and inter-population level. Shape differences between males and females were additionally examined. The major advantage of geometric morphometrics method is that it provides a way of visualizing changes in shape. The results showed that temperature significantly affected the body shape of larvae during metamorphosis (15.0-17.0 mm TL) at the juvenile stage (24.0-26.0 mm TL) and in specimens of 190-200 mm TL. Finally significant differences in shape were found between males and females.

**ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΗΣ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗΣ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΟΙ
ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΚΙΝΑΣΗΣ ΤΥΡΟΣΙΝΗΣ****Γιάννης Α.***

Institut fuer Organische Chemie, Universitaet Leipzig, Johannisallee 29, D-04103 Leipzig, Germany, E-mail: giannis@chemie.uni-leipzig.de Tel: +49 3419736581, Fax: + 49 3419736599

Σήμερα, στη χημειοθεραπεία του καρκίνου χρησιμοποιούνται συνήθως ως φάρμακα παράγοντες που προκαλούν θραύσεις στο DNA, αντιμιτωτικά, αντιμεταβολίτες, αναστολείς τοποϊσομερασών και αναστολείς μεταγωγής σημάτων (STI). Η χημειοθεραπεία του καρκίνου βασίζεται στην προοπτική ότι, τα αντινεοπλασιακά φάρμακα θα θανατώνουν ταχέως και επιλεκτικά τα καρκινικά κύτταρα. Ωστόσο, η εφαρμογή τέτοιων στρατηγικών είναι δύσκολη επειδή τα φάρμακα δεν έχουν ικανοποιητική πρόσβαση σε καρκινικά κύτταρα που ευρίσκονται μακριά. Στην πραγματικότητα, η πλειονότητα των χημειο-θεραπευτικών παραγόντων δεν συναθροίζεται κατά προτίμηση σε νεοπλασιακές μάζες. Η ποσότητα του φαρμάκου που φθάνει σε κάποιον όγκο μόλις φθάνει το 5-10% εκείνης που συγκεντρώνεται σε υγιείς ιστούς. Επιπλέον, ένα σημαντικό πρόβλημα της θεραπείας του καρκίνου είναι η ανάπτυξη αντίστασης από τα καρκινικά κύτταρα.

Στους παραπάνω αναφερόμενους αντικαρκινικούς παράγοντες έχει προστεθεί τα τελευταία 40 χρόνια και η αντι-αγγειογενετική προσέγγιση. Το 1971 ανακοίνωσε ο Folkman ότι η αναστολή της αγγειογένεσης – αγγειογένεση είναι ο σχηματισμός νέων αιμοφόρων αγγείων από προϋπάρχοντα – μπορεί να παρεμποδίσει την ανάπτυξη του όγκου. Στη συνέχεια διαπιστώθηκε ότι και η μετάσταση επηρεάζεται από την αναστολή της αγγειογένεσης. Συνεπώς, αναμένεται ότι αναστολείς της αγγειογένεσης θα αποδειχθούν πολύτιμα όπλα εναντίον της καρκινογένεσης. Επειδή δε το γονιδίωμα των ενδοθηλιακών κυττάρων είναι σταθερό, δεν αναμένεται απόκτηση αντίστασης σε φάρμακα. Η αγγειογένεση λαμβάνει χώρα κυρίως κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης. Σε ενήλικα άτομα παρατηρείται σχεδόν αποκλειστικά κατά την ιστική ανάπλαση, επούλωση πληγής, χρόνιες καταστάσεις φλεγμονής και κατά τη διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια. Συνεπώς, οι πιθανότητες για παρενέργειες κατά την αντι-αγγειογενετική θεραπεία είναι περιορισμένες. Οι αναστολείς της αγγειογένεσης δεν περιορίζονται μόνον για αντινεοπλασιακή θεραπεία, αλλά μπορεί να βρουν εφαρμογή και σε ρευματικά νοσήματα, ενδομητρίωση, ψωρίαση και διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια.

* Προσκεκλημένος ομιλητής

Τα νεοπλασιακά κύτταρα αρχίζουν να επάγουν αγγειογένεση ενωρίς, κατά τα πρώτα στάδια της δημιουργίας ενός όγκου. Αυτή, η επωνομαζόμενη «αγγειογενετική εκκίνηση» αποτελεί ένα σημαντικό βήμα στην ανάπτυξη του όγκου και αναφέρεται στη χρονική στιγμή κατά την οποία το μικροπεριβάλλον του όγκου εκτίθεται σε αυξημένη ποσότητα των προ- σε σχέση με τους αντι-αγγειογενετικούς παράγοντες. Χαρακτηρίζεται από ογκογονο-κατευθυνόμενη έκφραση προ-αγγειογενετικών πρωτεϊνών, όπως είναι ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγων (VEGF), ο πλακουντοειδής αυξητικός παράγων (PLGF), ο βασικός αυξητικός παράγων ινοβλαστών (bFGF), ο αιμοπεταλιακής προέλευσης αυξητικός παράγων ενδοθηλίου (PDGF), η αγγειοποιητίνη-2 (Ang-2), ο αυξητικός παράγων ηπατοκυττάρων (HGF), ο ινσουλινοειδής αυξητικός παράγων (IGF) και άλλες. Ωστόσο, όχι μόνον τα καρκινικά κύτταρα, αλλά και το στρώμα, καθώς και τα περικύτταρα, τα οποία διεγείρονται από τον PDGF, συνθέτουν αγγειογενετικούς παράγοντες, όπως είναι η αγγειοποιητίνη-1 (Ang-1). Κατά τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί πολυάριθμοι αναστολείς των παραπάνω αναφερομένων κινασών αγγειογένεσης, ορισμένοι δε από αυτούς έχουν ήδη εμπλακεί σε κλινικές δοκιμές ως καινούργια αντικαρκινική θεραπεία. Για ορισμένα από αυτά τα συστατικά έχει ήδη περατωθεί το στάδιο των δοκιμών και εξετάζεται η καταλληλότητά τους ως αντικαρκινικά φάρμακα.

Στην ομιλία μου θα αναφερθώ στην ανάπτυξη αναστολέων RTKs και ενζύμων που εμπλέκονται στην αγγειογένεση καθώς και στον σχεδιασμό βιολογικών ερευνών για τροποποιητές της παλμιτοϋλίωσης του Ras. Τέλος, θα παρουσιασθούν κυτταροβιολογικές έρευνες περί αναστολέων μιτωτικών κινεσινών.

**INHIBITORS OF ANGIOGENESIS AND CANCER-RELATED RECEPTOR
TYROSINE KINASES****Giannis A.***

Institut fuer Organische Chemie, Universitaet Leipzig, Johannisallee 29, D-04103 Leipzig, Germany, E-mail: giannis@chemie.uni-leipzig.de Tel: +49341 9736581, Fax: +49341 9736599

In current cancer chemotherapy several agents with DNA-cleavage properties, antimetabolites, antimitotics, inhibitors of topoisomerases and most recently signal transduction inhibitors (STI) are used as drugs. Cancer chemotherapy relies on the expectation that antineoplastic drugs will rapidly and selectively kill tumor cells. However, such strategies are difficult to realize since distant tumor cells are hardly accessible to drugs. In fact, most chemotherapeutic agents do not preferentially accumulate in the tumor tissue. The actual portion of drug that reaches the tumor is often only 5-10% of the amount that accumulates in healthy tissue and organs. Furthermore, the development of tumor cell resistance is an unsolved and serious problem in tumor therapy. The concept of the anti-angiogenic therapy of cancer is based on important insights in tumor biology gained during the last 3-4 decades. In 1971 Folkman proposed that inhibition of angiogenesis, i.e. the formation of new blood vessels from preexisting ones, can prevent tumor growth. Subsequently it was also recognized, that metastasis can be affected by angiogenesis. For these reasons, inhibitors of angiogenesis are expected to be valuable drugs for cancer therapy. Importantly, due to the fact that endothelial cells have a stable genome, acquired drug resistance is not expected. Angiogenesis usually occurs during development. In adults, it is involved in tissue regeneration, wound healing, chronic inflammatory conditions and in diabetic retinopathy. Therefore, the possible side effects of an anti-angiogenic therapy should be limited. Inhibitors of angiogenesis may represent not only new anticancer agents but also may offer the possibility for therapeutic intervention in rheumatic diseases, endometriosis, psoriasis, and diabetic retinopathy.

Cancer cells begin to promote angiogenesis at an early stage in tumorigenesis. This so called 'angiogenic switch', is a discrete step in tumor development and refers to the time point at which a tumor microenvironment is exposed to an increased ratio of pro versus anti-angiogenic factors. It is characterized by oncogene-driven tumor expression of pro-angiogenic proteins, such as vascular endothelial growth factor (VEGF), placenta-like growth factor (PLGF), basic fibroblast growth factor (bFGF), platelet-derived endothelial growth factor (PDGF), angiopoietin-2 (Ang-2), hepatocyte growth factor (HGF), insulin-like growth factor (IGF) and others. However, not only the tumor cells but also the tumor stroma,

* Invited speaker

as well as pericytes, which can be stimulated by PDGF, produce angiogenic factors like angiopoietin-1 (Ang-1). Over the past years, numerous inhibitors of the above-mentioned angiogenesis-relevant kinases have been developed and some of them have been enrolled in several clinical trials as novel anti-cancer therapeutics. Some of these compounds have already passed or are currently in clinical trials in order to investigate their suitability as anti-cancer drugs.

In my talk I will discuss the development of inhibitors of RTK's and enzymes involved in angiogenesis as well as design and biological investigations of modulators of Ras palmitoylation. Finally design, development and cell-biological investigations of inhibitors of mitotic kinesins will be presented.

Lit.

R. Mazitschek, A. Giannis, Inhibitors of Angiogenesis and Cancer-related Receptor Tyrosine Kinases, **Curr Opin Chem Biol** 2004, in press.

**ΑΠΟΤΙΜΗΣΗ ΚΑΙ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΩΝ “*IN SILICO*”
ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΥ ΣΕ ΠΛΗΡΗ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΑ: ΕΠΑΝΕΞΕΤΑΣΗ
ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ ΤΟΥ *Chlamydia trachomatis*****Γκόγκας Χ.Γ., Τζαβάρas Ν., Προμπονάς Β.Ι. και Χαμόδρακας Σ.Ι.**Τομέας Βιολ. Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784, Αθήνα

Τα τελευταία χρόνια έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος των αυτοματοποιημένων μοριακών τεχνικών για τον προσδιορισμό αλληλουχιών νουκλεοτιδικών ακολουθιών. Σε συνδυασμό με την ταυτόχρονη ανάπτυξη αποδοτικών αλγορίθμων για τη συναρμολόγηση (assembly) των προσδιορισμένων αλληλουχιών, έχει καταστεί εφικτός ο προσδιορισμός των ακολουθιών μεγάλου αριθμού γονιδιωμάτων. Οι ακολουθίες αυτών των γονιδιωμάτων, καθώς και των αντίστοιχων Ανοικτών Πλαισίων Ανάγνωσης (ORFs), κατατίθενται σε δημόσιες βάσεις δεδομένων. Σημαντικό ποσοστό του χαρακτηρισμού που αφορά τα πιθανά πρωτεϊνικά προϊόντα πραγματοποιείται με τη βοήθεια υπολογιστικών μεθόδων που βασίζονται στον εντοπισμό στατιστικά σημαντικών ομοιοτήτων σε επίπεδο ακολουθίας, με την εμπλοκή (σε μικρότερο ή μεγαλύτερο βαθμό) του ανθρώπινου παράγοντα. Είναι συχνή δε η περίπτωση εκείνη κατά την οποία ο χαρακτηρισμός μιας πρωτεΐνης περιέχει όρους που υποδεικνύουν ασάφεια (“HYPOTHETICAL”, “PUTATIVE” ή “UNKNOWN”). Με δεδομένη την αδυναμία πειραματικής ταυτοποίησης της λειτουργίας-δομής αυτού του μεγάλου πλήθους βιομορίων, αποκτά μεγάλο ενδιαφέρον η αποτίμηση του υπάρχοντος σχολιασμού αλλά και η δυνατότητα παροχής συμπληρωματικών πληροφοριών από άλλες υπολογιστικές μεθόδους.

Στην εργασία αυτή, συγκρίνουμε τρεις διαφορετικές προσεγγίσεις σχολιασμού και αντιπαραβάλλουμε τα αποτελέσματά τους με μια σειρά συμπληρωματικών προγνωστικών μεθόδων που έχουν αναπτυχθεί από την ομάδα μας (PRED-TMR2, PRED-CLASS, PRED-TMBB) αλλά και άλλους (SIGNAL-P, TMHMM). Χρησιμοποιήσαμε ως σύνολο αναφοράς τα 895 ORFs του γονιδιώματος του αρνητικού κατά gram βακτηρίου *Chlamydia trachomatis*. Στη μελέτη μας αντιπαραβάλλαμε τα αποτελέσματα των μεθόδων πρόγνωσης με: α) τον αρχικά δημοσιευμένο σχολιασμό, β) το σχολιασμό με την αυτοματοποιημένη μέθοδο GENEQUIZ και γ) μια ημι-αυτοματοποιημένη προσέγγιση από πολλές Ευρωπαϊκές ερευνητικές ομάδες (μεταξύ των οποίων και η δική μας ομάδα). Από τα 895 ORFs υπάρχουν 325 περιπτώσεις ασαφούς χαρακτηρισμού. Με την ανάλυσή μας επιτυγχάνουμε την εκτίμηση της αξιοπιστίας των μεθόδων πρόγνωσης, με βάση τα ORFs γνωστής λειτουργίας, και την παροχή συμπληρωματικού σχολιασμού στις περιπτώσεις ORFs άγνωστης λειτουργίας ή ασαφούς χαρακτηρισμού.

ASSESSMENT AND REFINEMENT OF “*IN SILICO*” ANNOTATION STRATEGIES IN COMPLETE GENOMES: THE *Chlamydia trachomatis* GENOME REVISITED

Gkogkas C.G., Tzavaras N., Promponas V.J. & Hamodrakas S.J.

Dept of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, 15784, Athens - Greece

Recent advances in automated sequencing technologies, along with the development of efficient algorithms for sequence assembly, are clearly reflected in the increasing number of completely sequenced genomes. Complete Genome sequences, and corresponding Open Reading Frames (ORFs), are deposited in large public databases. A considerable proportion of provided annotations that characterize available ORFs is obtained by the use of computational methods, mainly based on the detection of significant sequence similarities. This process is generally performed in a semi-automated manner, with expert scientists inspecting computational results before annotation is assigned to a sequence entry. However, due to lack of significant sequence similarities it is often the case that sequence annotation is somewhat fuzzy, containing terms such as “HYPOTHETICAL”, “PUTATIVE” or “UNKNOWN”. Knowing that a great deal of experimental work is necessary to fully annotate a genome and to assign functional and structural features to all ORFs, it is very important to assess existing annotations and provide additional information derived from complementary computational methods.

In this work, we systematically compared three different annotation strategies and matched their results against a collection of sequence-based prediction methods, developed by our group (PRED-TMR2, PRED-CLASS, PRED-TMBB) or others (SIGNAL-P, TMHMM). The 895 ORFs encoded in the complete genome of the obligate intracellular parasite *Chlamydia trachomatis* served as a test case for our study. We have matched the prediction results against three independent annotations, namely: a) the originally published annotation, b) fully-automated GENEQUIZ annotations and c) a semi-automated approach carried out by a consortium of European research groups (our group participated in this study). 325 out of the total 895 available ORFs had present one of the aforementioned “fuzzy” terms in their annotations. Our analysis based on the assessment of the accuracy of prediction methods compared to reliable annotations, aims to provide complementary information to those ORFs with fuzzy or incomplete annotation.

**ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΕΣ ΣΥΝΗΘΕΙΕΣ, ΓΝΩΣΕΙΣ & ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΕΛΛΗΝΩΝ
ΕΦΗΒΩΝ****Γραικίνης Δ. και Χρ. Βουλγαρέλη**Αμερικανικό Κολλέγιο Θεσσαλονίκης, Εργαστήριο Βιολογίας και Πρόγραμμα International
Baccalaureate Τ.Θ 21021, Πυλαία 55510 Θεσσαλονίκη

Ο σκοπός αυτής της εργασίας ήταν η εκτίμηση των διαιτητικών συνηθειών, της συμπεριφοράς λήψης τροφής και των διαιτητικών γνώσεων των Ελλήνων εφήβων. Τα εφηβικά χρόνια θεωρούνται κρίσιμα στο καθορισμό της ατομικής συμπεριφοράς λήψης της τροφής και γνώσης σχετικά με αυτήν. Αυτές οι συμπεριφορές βρίσκονται κάτω από την επίδραση πολλών παραγόντων τόσο γενετικών όσο και κοινωνικών (οικογενειακών και ομαδικών). Υπάρχουν σημαντικές ενδείξεις στη βιβλιογραφία ότι η μη ορθή διαιτητική γνώση και συμπεριφορά των εφήβων απέναντι στη δίαιτα τους οδηγεί στον ανθυγιεινή συμπεριφορά λήψης τροφής αργότερα στην ενηλικίωσή τους. Στην εργασία αυτή 117 Έλληνες έφηβοι (16-18 ετών ΜΟ ± ΣΑ 16.9 ± 0.58), από την μητροπολιτική Θεσσαλονίκη απάντησαν σε ερωτηματολόγιο (Turconi *et al*, 2003), σχετικά με την διαιτητική τους συμπεριφορά, στάση και γνώση απέναντι στη λήψη τροφής. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι Έλληνες έφηβοι φαίνεται ότι δεν έχουν κατάλληλη διαιτητικές συνήθειες που θα τους οδηγήσουν αργότερα σε υγιή τρόπο ζωής (σημαντική έλλειψη λήψης βασικών τροφίμων π.χ. γαλακτερών, εναλλακτικών τροφών κρέατος, φρούτων και λαχανικών, παραγόντων ψωμιού και δημητριακών και υπερβολική κατανάλωση τροφών που θεωρούνται μη υγιείς π.χ. αλλαντικών, γλυκισμάτων και γρήγορου φαγητού). Η δίαιτά τους κατακλύζεται από πρωτεϊνούχες τροφές και μόνο ένα μικρό ποσοστό βασίζει την δίαιτά του σε δημητριακά. Το πρωινό φαίνεται να μην παίζει βασικό ρόλο στη καθημερινή τους διατροφή αφού ένα μεγάλο ποσοστό το αποφεύγει. Οι έφηβοι δείχνουν να μην έχουν καμία γνώση σχετικά με τη σωστή λήψη τροφής (π.χ. προπαρασκευή τροφής, αιτίες μόλυνσης τροφών). Δεν γνωρίζουν για την σημασία και τις λειτουργίες των βασικών ιχνοστοιχείων και βιταμινών. Παρατηρήθηκε ότι έχουν έλλειψη γνώσης σχετικά με την ασφάλεια των τροφών. Η έλλειψη κατάλληλης σχετικής διατροφικής γνώσης αναστέλλει την ανάπτυξη κατάλληλης διατροφικής συμπεριφοράς. Πιστεύουν ότι γνωρίζουν τους κανόνες των σωστών διατροφικών συνηθειών όταν στη πραγματικότητα δεν τους γνωρίζουν. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης συζητούνται.

DIETARY HABITS, NUTRITIONAL KNOWLEDGE & BEHAVIOR OF GREEK TEENAGERS

Grekinis D. & Chr. Voulgareli

American College of Thessaloniki, Biology Lab and International Baccalaureate Program
P.O. Box 21021, Pylea 55510 Thessaloniki

This research evaluates the dietary habits, eating behavior and nutritional knowledge of Greek teenagers, 16 to 18 years of age (mean age \pm SD 16.9 ± 0.58 years). During the adolescent years nutritional habits, knowledge and behavior are formed which are influenced by many different factors, such as inborn, social (peer-pressure, family). There is substantial evidence that an unhealthy way of living and a non-appropriate nutritional knowledge and behavior during the teenage years, can lead to long-term consequences on health. In this investigation 117 Greek teenagers 16-18 ετών (mean age \pm -SD 16.9 ± 0.58 years), responded to a questionnaire (Turconi *et al*, 2003), in order to test whether or not they have appropriate nutritional habits, behavior and knowledge. The results show that Greek teenagers do not appear to have the appropriate dietary habits that will lead them to live a healthy lifestyle. They either show significant lack of intake of major food groups (milk and milk products, meat alternatives, fruit and vegetables and breads and cereals), or they over-consume unhealthy foods (fast-food, ham, sausages and sweets). Their diet is dominated by protein and a small percentage only bases their diet on cereals. Breakfast appears to be of minor significance since they skip frequently daily sessions. They also show a complete lack of nutritional knowledge. For example, the majority responded using the wrong answer about food intoxication and cross-contamination of foods. In addition, they show absence of knowledge concerning the importance and functions of minerals, vitamins and foods that contain carbohydrates. Also they showed lack of knowledge concerning food safety. Lack of significant nutritional knowledge prevents them from having appropriate nutritional behavior. They know what is good for them, when in fact they do not. For example, most teenagers know how to reduce the dietary intake of fats and cholesterol but in reality they do not practice this in their everyday life. Potential consequences of these observations are discussed.

**ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΜΟΝΤΕΛΩΝ ΔΕΝΤΡΩΝ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗΣ
ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΤΩΝ ΝΕΥΡΩΝΙΚΩΝ ΔΙΚΤΥΩΝ ΠΟΥ ΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗΚΑΝ
ΓΙΑ ΤΗ ΠΡΟΒΛΕΨΗ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ-ΑΠΟΥΣΙΑΣ ΒΕΝΘΙΚΩΝ
ΜΑΚΡΟΑΣΠΟΝΔΥΛΩΝ ΣΤΟΝ ΠΟΤΑΜΟ ΑΞΙΟ****Δάκου Ε.^{*}, D'heygere T.², Goethals P.L.M.^{2***}, De Pauw N.² & Μ. Λαζαρίδου-
Δημητριάδου¹**

¹Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, ΤΘ. 134, ΤΤ 54124,
Θεσσαλονίκη
dakou@bio.auth.gr^{*}, mlazarid@bio.auth.gr^{**}, peter.goethals@UGent.be^{***}

Στην παρούσα μελέτη, κατασκευάστηκαν Δέντρα Ταξινόμησης και Τεχνητά Νευρωνικά Δίκτυα για την πρόβλεψη παρουσίας-απουσίας βενθικών μακρο-ασπονδύλων στον ποταμό Αξιό. Η βάση δεδομένων που χρησιμο-ποιήθηκε για την κατασκευή των μοντέλων αποτελείται από 102 μετρήσεις σε 20 σταθμούς δειγματοληψίας στο Ελληνικό τμήμα του ποταμού Αξιού. Για την κατασκευή των μοντέλων πρόβλεψης χρησιμοποιήθηκαν 15 φυσικοχημικές παράμετροι (θερμοκρασία, pH, BOD, ταχύτητα ροής, σύσταση υποστρώματος...), καθώς και μία εποχική (input variables). Τα Δέντρα Ταξινόμησης κατασκευάστηκαν με βάση τον αλγόριθμο J48 και τα Τεχνητά Νευρωνικά Δίκτυα με βάση τον αλγόριθμο back-propagation. Για την εκτίμηση της ικανότητας πρόβλεψης των μοντέλων χρησιμοποιήθηκε το ποσοστό σωστά ταξινομημένων περιπτώσεων (CCI %) και το στατιστικό μέτρο κ (Cohen's kappa statistic). Στις περισσότερες περιπτώσεις και οι δύο τεχνικές κατέληξαν σε μοντέλα με υψηλή ικανότητα πρόβλεψης. Για την εκτίμηση της απόδοσης των οικολογικών μοντέλων ο συνδυασμός χρήσης του CCI% και του στατιστικού μέτρου κ κρίνεται απαραίτητος. Τα Τεχνητά Νευρωνικά Δίκτυα έχουν υψηλότερη απόδοση από τα Δέντρα Ταξινόμησης στην περίπτωση οργανισμών με ιδιαίτερα συχνή ή σπάνια συχνότητα εμφάνισης στη βάση δεδομένων. Τα Δέντρα Ταξινόμησης καταλήγουν σε μοντέλα με οικολογική σημασία, ενώ τα Τεχνητά Νευρωνικά Δίκτυα λειτουργούν σαν «μαύρα κουτιά». Η παρούσα μελέτη καταδεικνύει ότι και οι δύο τεχνικές κατασκευής οικολογικών μοντέλων πρόβλεψης έχουν υψηλές δυνατότητες σε ό,τι αφορά στην προστασία και διαχείριση ποτάμιων οικοσυστημάτων.

COMPARISON OF THE PREDICTING PERFORMANCE OF CLASSIFICATION TREES AND ARTIFICIAL NEURAL NETWORK MODELS CONSTRUCTED FOR THE PREDICTION OF THE PRESENCE-ABSENCE OF BENTHIC MACROINVERTEBRATES IN AXIOS RIVER

Dakou E¹, D'heygere T.², Goethals P.L.M.², De Pauw N.² & M. Lazaridou-Dimitriadou¹

¹Dept of Zoology, Faculty of Biology, Aristotle University, Thessaloniki, GR- 54124
dakou@bio.auth.gr^{*}, mlazarid@bio.auth.gr^{**}, peter.goethals@UGent.be^{***}

In the present study, Classification Trees and Artificial Neural Networks were constructed for the prediction of the presence-absence of benthic macro-invertebrates in Axios River. The database used for the construction of the models consists of 102 measurements collected in 20 sampling sites in the Greek part of Axios River. For the induction of the predictive models 15 physical-chemical (water temperature, BOD, pH...), as well as one seasonal input variable were used. Classification Trees were based on the J48 algorithm and Artificial Neural Networks on the back-propagation algorithm. For the assessment of the ecological models the percentage of Correctly Classified Instances (CCI %) and Cohen's kappa statistic were used. In most cases, both techniques resulted in models of high predictive performance. A combination of CCI (%) and Cohen's kappa was necessary for an efficient assessment of the induced models. Artificial Neural Networks seem to be more capable of making reliable predictions of organisms that occur very frequently or rarely in the database, comparing to Classification trees. Classification trees result in models that can be ecologically interpreted, while Artificial Neural Networks function as a "black-box" technique. The present study demonstrates that both techniques seem to have a high potential in river restoration and conservation management.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΒΑΣΙΔΙΟΜΥΚΗΤΩΝ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ: ΓΕΝΟΣ
CREPIDOTUS (FR.) STAUDE****Δεληβοριάς Π. και Ζ. Γκόνου-Ζάγκου**Τομέας Οικολογίας & Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 15784, Αθήνα

Το γένος *Crepidotus* (Fr.) Staude αποτελεί ένα καλά καθορισμένο γένος της οικογένειας *Cortinariaceae* των Βασιδιομυκήτων με πλευρωτοειδή, μικρού μεγέθους (διαμ. 5-40 mm) βασιδιοκάρπια, που αναπτύσσονται συνήθως σε ξύλο και σπανιότερα σε φυτικά υπολείμματα ή στο έδαφος. Τα περισσότερα είδη είναι παρόμοια στην μακροσκοπική τους εμφάνιση και η διάκρισή τους στηρίζεται κυρίως στα μικροσκοπικά γνωρίσματα. Οι βασικότεροι διαγνωστικοί χαρακτήρες για τον προσδιορισμό των ειδών είναι το μέγεθος, το σχήμα και η διακόσμηση των βασιδιοσπορίων, η μορφή των χειλοκουστιδίων και η παρουσία ή όχι κρίκων. Η γνώση της ποικιλότητας του γένους *Crepidotus* στην Ανατολική Μεσόγειο είναι περιορισμένη, ενώ τα δεδομένα από την Ελλάδα είναι ελάχιστα. Η παρούσα εργασία στοχεύει στη μελέτη και καταγραφή της ποικιλότητας του γένους στην Ελλάδα, ενώ παράλληλα προσφέρει συμπληρωτικά στοιχεία για την εξάπλωση του γένους στην Ευρώπη.

Κατά τη διάρκεια των ετών 1997-2004 συλλέχθηκαν 27 δείγματα από περιοχές της Κεντρικής και Νότιας ηπειρωτικής Ελλάδας, κυρίως από δασικά οικοσυστήματα κωνοφόρων και φυλλοβόλων δένδρων, καθώς και από παραποτάμια και μακκία βλάστηση. Τα δείγματα ανήκουν στις ακόλουθες 9 ταξινομικές μονάδες: *C. autochthonus*, *C. calolepis*, *C. cesatii* var. *cesatii*, *C. cesatii* var. *subsphaerosporus*, *C. epibryus*, *C. lundellii*, *C. luteolus*, *C. subverrucisporus* και *C. variabilis*. Οι ταξινομικές μονάδες *C. autochthonus*, *C. cesatii* var. *subsphaerosporus*, *C. luteolus* και *C. subverrucisporus* αναφέρονται για πρώτη φορά από την Ελλάδα, ενώ οι *C. cesatii* var. *cesatii* και *C. epibryus* καταγράφονται για πρώτη φορά μετά τα έτη 1906 και 1936 αντίστοιχα (ως *Dochmiopus sphaerosporus* και *Crepidotus perpusillus*).

Επιπλέον, καταγράφονται σε νέα για την Ελλάδα υποστρώματα τα είδη: *C. calolepis* σε κορμούς ή κλαδιά *Abies cephalonica* και *A. borisii-regis*, *C. cesatii* var. *cesatii* σε κλαδιά *Platanus orientalis*, *C. epibryus* σε φύλλα *Castanea sativa*, *C. lundellii* σε κλαδιά *Platanus orientalis* και *C. variabilis* σε κλαδιά *Quercus frainetto*. Όλα τα δείγματα αποξηραμένα είναι κατατεθειμένα στο Μυκητολογικό Ερμπάριο ATHU-M του Πανεπιστημίου Αθηνών.

STUDIES ON BASIDIOMYCETES IN GREECE: THE GENUS *CREPIDOTUS* (FR.) STAUDE

Delivorias P. & Z. Gonou-Zagou

Department of Ecology & Systematics, Faculty of Biology, University of Athens,
Panepistimioupolis, GR-157 84 Athens

The genus *Crepidotus* (Fr.) Staude is a well-defined genus in the family *Cortinariaceae* of Basidiomycetes, with small-sized (diam. 5-40 mm), pleurotoid basidiocarps, growing mostly on wood and rarely on plant remnants or on soil.

Most species of the genus are similar macroscopically hence their identification is based mainly on microscopic features. The most important diagnostic characters are the size, shape and ornamentation of the basidiospores, the morphology of the cheilocystidia and the presence or absence of clamp-connections.

The diversity of *Crepidotus* in the Eastern Mediterranean region is poorly known, and data from Greece are scarce. The present work aims at the recording and studying of the diversity of the genus in Greece and contributes to the knowledge of the distribution of the genus in Europe.

During the years 1997-2004 27 specimens were collected from various regions of Central and Southern continental Greece, mainly from coniferous or deciduous forests, as well as riparian and maquis vegetation.

The specimens belong to the following 9 taxa: *C. autochthonus*, *C. calolepis*, *C. cesatii* var. *cesatii*, *C. cesatii* var. *subsphaerosporus*, *C. epibryus*, *C. lundellii*, *C. luteolus*, *C. subverrucisporus* and *C. variabilis*. From these, *C. autochthonus*, *C. cesatii* var. *subsphaerosporus*, *C. luteolus* and *C. subverrucisporus* are newly recorded from Greece, whereas *C. cesatii* var. *cesatii* and *C. epibryus* are recorded for the first time since 1906 and 1936, respectively (as *Dochmiopus sphaerosporus* and *Crepidotus perpusillus*). Moreover, the following taxa are recorded on new substrates for Greece: *C. calolepis* on trunks and branches of *Abies cephalonica* and *A. borisii-regis*, *C. cesatii* var. *cesatii* on branches and twigs of *Platanus orientalis*, *C. epibryus* on leaves of *Castanea sativa*, *C. lundellii* on branches of *Platanus orientalis* and *C. variabilis* on branches of *Quercus frainetto*. All specimens have been dried and deposited at the ATHU-M Mycological Herbarium of the University of Athens.

ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ Hg ΚΑΙ Pb ΣΤΙΣ ΧΕΙΛΙΚΕΣ ΠΡΟΣΑΚΤΡΙΔΕΣ, ΣΤΟΝ ΠΕΠΤΙΚΟ ΑΔΕΝΑ ΚΑΙ ΣΤΑ ΒΡΑΓΧΙΑ ΤΟΥ ΜΥΔΙΟΥ *Mytilus galloprovincialis* ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΑΥΤΟΜΕΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΑΣ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΑΝΑΛΥΣΗΣ ΑΚΤΙΝΩΝ-Χ

Δημητριάδης Β.Κ., Δομουκτσίδου Γ.Π., Ραφτοπούλου Ε.Κ.

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

Το μύδι *Mytilus galloprovincialis* χρησιμοποιείται ευρύτατα ως δείκτης ρύπανσης θαλάσσιων οικοσυστημάτων. Στην παρούσα μελέτη τα μύδια συλλέχθηκαν από το Θερμαϊκό Κόλπο (περιοχή Χαλάστρα) και έγινε πειραματική έκθεση σε 0,1mg/lit Hg ή 0,1mg/lit Pb για 30 ή 60 ημέρες και εφαρμόστηκε η τεχνική της αυτομεταλλογραφίας και της μικροανάλυσης ακτίνων-Χ σε τομές ρητίνης. Στις χειλικές προσακτρίδες, αυτομεταλλογραφικοί μαύροι κόκκοι αργύρου (BSD) εντοπίστηκαν στα σκούρα σωματίδια των επιθηλιακών κυττάρων και στα υπο-επιθηλιακά κύτταρα. Στον πεπτικό αδένα, τα μέταλλα εντοπίστηκαν στα υπολειπόμενα σωματίδια και στα ετερολυσοσώματα των πεπτικών κυττάρων. Στα βράγχια, η αυτομεταλλογραφική αντίδραση που παρατηρήθηκε στην πλευρο-κορυφαία και βασική περιοχή των βραγχιακών νηματίων ήταν έντονη ή σποραδική, έπειτα από έκθεση σε Hg ή Pb, αντίστοιχα. Κάτω από το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, BSD εντοπίστηκαν στα σκούρα σωματίδια των επιθηλιακών κυττάρων του κορυφαίου και βασικού τμήματος των βραγχιακών νηματίων, καθώς επίσης και στα κοκκία βλέννας. Η μικροανάλυση ακτίνων-Χ που εφαρμόστηκε πάνω σε BSD, εντόπισε Hg στους παραπάνω ιστούς, ενώ η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε, ότι η ποσότητα του Hg ήταν υψηλότερη στα βράγχια και στις χειλικές προσακτρίδες σε σχέση με τον πεπτικό αδένα. Τα παραπάνω αποτελέσματα καθιστούν τις χειλικές προσακτρίδες ως ένα καινούργιο όργανο απόθεσης βαρέων μετάλλων και προτείνουν τη χρήση της μικροανάλυσης ακτίνων-Χ για την ενίσχυση της ακρίβειας και της ευαισθησίας της αυτομεταλλογραφίας, σε μελέτες βιο-παρακολούθησης.

**LOCALIZATION OF Hg AND Pb IN THE PALPS, THE DIGESTIVE
GLAND AND THE GILLS IN *Mytilus galloprovincialis* USING
AUTOMETALLOGRAPHY AND X-RAY MICROANALYSIS**

Dimitriadis V.K., Domouhtsidou G.P., Raftopoulou E.K.

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

The mussel *Mytilus galloprovincialis* has been used as biological indicator in pollution biomonitoring programmes of marine ecosystems. In the present study, mussels collected from Thermaikos Gulf (area of Halastra), were exposed for 30 or 60 days to 0,1mg/lt Hg or 0,1mg/lt Pb and autometallography, as well as X-ray microanalysis were applied in resin sections. In the palps, autometallographic black silver deposits (BSD) were localized in the dense bodies of epithelial cells, as well as in the subepithelial cells. In the digestive gland, BSD were localized in the residual bodies and the heterolysosomes of the digestive cells. In the gills, the autometallographic reaction observed in the latero-frontal and ab-frontal epithelium of gill filaments was intense or sporadic after Hg or Pb exposure, respectively. Under the electron microscope, BSD were found in the dense bodies located in the apical and basal part of the gill filament, as well as in the mucous granules. The use of X-ray microanalysis focusing on the BSD, revealed only the presence of atomic Hg on these deposits. The statistical analysis of the results showed that the amount of Hg was higher in the gills and the palps compared to the digestive gland. The results of the study introduce the palps as a new metal storing organ and suggest the use of X-ray microanalysis in order to enhance the specificity of autometallography in biomonitoring studies.

ΜΑΚΡΟΜΥΚΗΤΕΣ ΤΟΥ ΥΜΗΤΤΟΥ**Δημητριάδης Ι.Σ., Γκόνου-Ζάγκου Ζ. και Ε. Καψανάκη-Γκότση**Τομέας Οικολογίας & Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 15784, Αθήνα

Ο Υμηττός είναι βουνό του Λεκανοπεδίου Αττικής που βρίσκεται σε περιαστική περιοχή και δέχεται άμεσα την ανθρωπογενή επίδραση. Η βλάστηση, που είναι πλουσιότερη στο βόρειο τμήμα, αποτελεί ένα συνδυασμό τριών τύπων διαπλάσεων, των φρυγάνων, των αείφυλλων σκληρόφυλλων θάμνων και των κωνοφόρων, που χαρακτηρίζουν τα Μεσογειακά οικοσυστήματα. Οι παραπάνω ιδιαιτερότητες του Υμηττού καθιστούν τη μελέτη των μακρομυκήτων ενδιαφέρουσα τόσο από ταξινομική όσο και από οικολογική άποψη. Παρά την εύκολη πρόσβαση στην περιοχή αυτή η ποικιλότητα των μυκήτων δεν έχει ερευνηθεί. Η παρούσα εργασία αποτελεί την πρώτη καταγραφή μακρομυκήτων του Υμηττού.

Κατά τη διάρκεια των ετών 2000-2003 πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες σε 22 τοποθεσίες του Υμηττού. Συλλέχθηκε ένας σημαντικός αριθμός δειγμάτων και μέχρι τώρα έχουν μελετηθεί 166 δείγματα, από τα οποία τα 25 έχουν προσδιοριστεί μόνο σε επίπεδο γένους. Συνολικά, το υλικό ανήκει σε 40 γένη και 55 είδη Βασιδιομυκήτων, 6 γένη και 3 είδη Ασκομυκήτων και 2 γένη και 1 είδος Μυξομυκήτων.

Τα παρακάτω είδη αναφέρονται για πρώτη φορά από την Ελλάδα: *Agaricus pseudoprattensis*, *Bovista aestivalis*, *Lepiota oreadiformis*, *Melanoleuca rasilis*, *Rhizopogon occidentalis*, *Setulipes quercophilus*, *Trametes ochracea*, *Agaricus litoralis* και *Scleroderma cepa*. Όλα τα δείγματα έχουν αποξηρανθεί και κατατεθεί στο Μυκητολογικό Ερμπάριο ATHU-M του Πανεπιστημίου Αθηνών.

MACROMYCETES FROM THE IMITTOS MOUNTAIN

Dimitriadis I.S., Gonou-Zagou Z. & E. Kapsanaki-Gotsi

Department of Ecology & Systematics, Faculty of Biology, University of Athens,
Panepistimioupolis, GR-157 84 Athens

The Imittos Mountain, which is located in the basin of Attika, near the metropolitan area of Athens, has a direct anthropogenic influence. The vegetation is a combination of three types of biomes: maquis, seasonal dimorphic shrubs and conifers, which consist the Mediterranean ecosystems. For these reasons, the study of macromycetes is interesting from a taxonomic as well as from an ecological point of view. The diversity of fungi from Imittos is unknown and the present study is the first one recording macromycetes from this area.

During the years 2000-2003, a large number of specimens were collected from 22 sites and 166 specimens have been identified. The material already studied belongs to 40 genera and 55 species of Basidiomycetes, 6 genera and 3 species of Ascomycetes and 2 genera and 1 species of Myxomycetes.

The following species are recorded for the first time in Greece: *Agaricus litoralis*, *Agaricus pseudopratisensis*, *Bovista aestivalis*, *Lepiota oreadiformis*, *Melanoleuca rasilis*, *Rhizopogon occidentalis*, *Scleroderma cepa*, *Setulipes quercophilus* and *Trametes ochracea*. All specimens have been dried and deposited at the ATHU-M Mycological Herbarium of the University of Athens.

**IN VITRO ΚΑΙ IN VIVO ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΗΣ
ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΝΚ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕ ΚΟΚΤΕΪΛ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ****Διαπούλη Φ.^{1*}, Γεωργάκη Σ.^{1*}, Κατσούλας Χ.¹, Σκοπελίτη Μ.¹, Stoeva S.²,
Βουτσάς Ι.¹ Voelter W.², Τσιτσιλώνη Ο.¹**¹Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784, Αθήνα²Τμήμα Φυσιολογικής Βιοχημείας, Πανεπιστήμιο Tuebingen.

Τελευταία δεδομένα στον χώρο της ανοσοθεραπείας του καρκίνου αναφέρουν ότι *ex vivo* επώαση ΝΚ κυττάρων με μείγματα (cocktail) κυτταροκινών ενισχύει την κυτταροτοξικότητά τους σε αντίστοιχα επίπεδα με την επώασή τους με υψηλές συγκεντρώσεις ιντερλευκίνης (IL)-2. Ένα τέτοιο cocktail συλλέξαμε από το υπερκείμενο καλλιέργειας λεμφοκυττάρων που έχουμε επώασει παρουσία ακινητοποιημένου σε πλαστική επιφάνεια, μονοκλωνικού αντισώματος έναντι του επιφανειακού μορίου CD3 (ACD3S, allogeneic CD3 supernatant). Χρησιμοποιήσαμε το ACD3S για να ενεργοποιήσουμε ΝΚ κύτταρα ποντικού (NK1.1) τα οποία απομονώσαμε από σπληνοκύτταρα με χρήση μαγνητικών σφαιριδίων. Τα κύτταρα αυτά στην συνέχεια υποβλήθηκαν σε πρότυπες *in vitro* δοκιμασίες κυτταροτοξικότητας. Η *in vitro* κυτταροτοξικότητα που εμφάνισαν τα επωασμένα με το ACD3S NK1.1 έναντι κυττάρων YAC-1, προσομοιάζει αυτή που εμφάνισαν τα ίδια κύτταρα όταν επώαστηκαν με υψηλές συγκεντρώσεις IL-2. Ταυτόχρονα, ελέγχθηκε η αντικαρκινική τους δράση σε ένα *in vivo* μοντέλο όγκου ποντικών της φυλής Balb/C, στα οποία ενοφθαλμίστηκαν υποδορίως 20.000 συγγενικά κύτταρα της σειράς καρκίνου του εντέρου CT26. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν μείωση στον ρυθμό ανάπτυξης του όγκου και παρατεταμένη επιβίωση στα ποντίκια στα οποία εφαρμόστηκε ανοσοθεραπεία με ACD3S-ενεργοποιημένα NK1.1. Συμπερασματικά, το ACD3S αυξάνει *in vitro* την κυτταροτοξικότητα των ΝΚ κυττάρων, τα οποία όταν χορηγηθούν θεραπευτικά *in vivo*, αναστέλλουν την ανάπτυξη όγκου. Μελλοντικοί στόχοι είναι η ευρύτερη μελέτη της θεραπευτικής και της προστατευτικής δράσης του ACD3S και σε άλλα καρκινικά μοντέλα και η ανάλυση του με την μέθοδο της πρωτεομικής ή/και της γενομικής.

(* Ισότιμη συμμετοχή)

***IN VITRO* AND *IN VIVO* ACTIVATION OF NK CELL CYTOTOXICITY WITH A CYTOKINE-RICH COCKTAIL**

**Diapouli F.^{1*}, Georgaki S.^{1*}, Katsoulas H.¹, Skopeliti M.¹, Stoeva S.², Voutsas J.¹
Voelter W.², Tsitsilonis O.¹**

¹Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens,
Panepistimiopolis 157 84 Zografou Athens Greece

²Department of Physiological Biochemistry, University of Tuebingen

Recent data in cancer immunotherapy show that *ex vivo* natural killer (NK) cell-incubation with cytokine cocktails enhances their cytotoxicity to similar levels as those acquired by high-doses of interleukin (IL)-2. The cocktail we used in our study, is a culture supernatant collected from spleenocytes incubated with immobilized on plastic surface, monoclonal antibody against the surface molecule CD3 (ACD3S; allogeneic CD3 supernatant). We used ACD3S in order to activate mouse NK cells (NK1.1), isolated from spleenocytes using magnetic microbeads. These cells were further tested in standard *in vitro* cytotoxicity assays. The *in vitro* ACD3S-induced NK cytotoxicity against YAC-1 tumor targets resembled that of NK cytotoxicity induced by high dose IL-2. Simultaneously, the anti-tumor efficacy of ACD3S-activated NK1.1 cells was tested in an *in vivo* murine tumor model, where Balb/C mice were subcutaneously inoculated with 20.000 CT26 syngeneic colon carcinoma cells. Our results show a decrease in the rate of tumor growth and a prolongation in the survival of mice, in which immunotherapy using ACD3S-activated NK1.1 cells was applied. In conclusion, ACD3S enhances the *in vitro* cytotoxic responses of NK cells, which when therapeutically injected *in vivo* can suppress tumor growth. Our future goals focus on the study of the protective and therapeutic activity of ACD3S in more animal tumor models and the analysis of ACD3S' contents using proteomics and/or genomics.

(* Equal contribution)

Η ΑΡΧΑΙΑ ΠΟΛΗ ΤΩΝ ΦΕΡΩΝ ΣΤΟ ΣΤΑΥΡΟΔΡΟΜΙ ΤΗΣ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**Δρ Δουλγέρη-Ιντζεσίλογλου Α. ***

Αρχαιολογικό Ινστιτούτο Θεσσαλικών Σπουδών, Γαμβέτα 74-76 Βόλος

Η αρχαία πόλη των Φερών βρισκόταν στη θέση του σημερινού Βελεστίνου, πρωτεύουσας του Δήμου Φερών, στην ανατολική θεσσαλική πεδιάδα, πάνω στο σταυροδρόμι των οδικών αξόνων που οδηγούσαν και οδηγούν ακόμη και σήμερα από το Νότο στο Βορρά και από το εσωτερικό της Θεσσαλίας προς τη θάλασσα, προς το μυκό του Παγασητικού Κόλπου, όπου υπήρχε το επίνειό της, οι Παγασές (Στράβων, ΙΧ, 5, 15). Στη θέση των Παγασών, ως γνωστόν, ιδρύθηκε στις αρχές του 3ου αι. π.Χ. η πόλη Δημητριάς.

Τόπος της πρώτης εγκατάστασης των κατοίκων των Φερών, πιθανότατα κατά τη χαλκολιθική περίοδο (γύρω στο 3000 π.Χ.), υπήρξε η «Μαγούλα Μπακάλη», ο επιβλητικός λόφος από τον οποίον ο οικισμός επεκτάθηκε σταδιακά προς τα βόρεια, τα ανατολικά και τα νότια, για να εξελιχθεί αργότερα σε μεγάλη και ακμαία πόλη, μια από τις σπουδαιότερες της Θεσσαλίας και με πανελλήνια ακτινοβολία.

Η πρώτη περίοδος ακμής των Φερών ανάγεται ήδη στη μέση εποχή του χαλκού (1900-1600 π.Χ.), για να κορυφωθεί κατά τη μυκηναϊκή εποχή (1600-1100 π.Χ.), με την οποία συνδέονται γνωστά πρόσωπα της μυθολογίας: ο ιδρυτής της πόλης βασιλιάς Φέρης, ο γιος του Άδμητος με τη γυναίκα του Άλκηστη, πρότυπο συζυγικής αυτοθυσίας που ύμνησε ο Ευριπίδης στην ομώνυμη τραγωδία του, αλλά και ο γιος τους Εύμηλος που έλαβε μέρος στην τρωική εκστρατεία (Ομήρου Ιλιάς, Β, 711-715). Από την εποχή αυτή διατηρείται μια συστάδα θαλαμοειδών τάφων λαξευμένων στο φυσικό βράχο, που περιείχαν πολλά σημαντικά κτερίσματα.

Κατά την πρωτογεωμετρική και τη γεωμετρική εποχή (10ος-8ος αι. π.Χ.) η πόλη των Φερών φαίνεται να απομένει ο μοναδικός σημαντικός οικισμός της περιοχής με δυναμική εξέλιξη, χαρακτηριστικό δείγμα της οποίας αποτελούν οι μικροί κτιστοί θολωτοί τάφοι που διατηρούνται στην περιοχή του οικισμού της Χλόης Βελεστίνου και οι οποίοι περιείχαν πολλαπλούς ενταφιασμούς και πλουσιότατα κτερίσματα.

Οι αρχαϊκοί (7ος-6ος π.Χ.) και οι κλασικοί (5ος-4ος π.Χ.) αιώνες υπήρξαν καθοριστικοί για την αλματώδη ανάπτυξη της πόλης και για την εδραίωσή της ως πρώτης θεσσαλικής δύναμης κατά το πρώτο μισό του 4ου αι. π.Χ., όταν τη διακυβέρνησή της ανέλαβαν κατά σειρά οι σημαντικοί Φεραίοι τύραννοι Λυκόφρων, Ιάσων και Αλέξανδρος. Την εποχή αυτή πιθανότατα κατασκευάστηκε το ισχυρό τείχος που σώζεται σε πολύ καλή κατάσταση πάνω στο Λόφο «του Αγ. Αθανασίου ή της Παναγίας», ο οποίος μαζί με τη

* Προσκεκλημένη ομιλήτρια

«Μαγούλα Μπακάλη» αποτελούσαν την Ακρόπολη των Φερών. Στον 4ο αι. π.Χ. ανάγεται και η τελευταία οικοδομική φάση του περίπτερου ναού του Θαυλίου Διός ή της Ενοδίας, δωρικού ρυθμού, από τον οποίο σώζεται σήμερα το ΝΑ τμήμα της κρηπίδας, καθώς και θεμέλια βάθρων αναθηματικών μνημείων.

Αφού η πόλη των Φερών παρέμεινε υπό μακεδονική κυριαρχία κατά το δεύτερο μισό του 4ου και κατά τον 3ο αι. π.Χ., ανέκτησε τον ηγετικό της ρόλο στα θεσσαλικά πράγματα μετά την ήττα των Μακεδόνων από τους Ρωμαίους στη μάχη των «Κυνός Κεφαλών» (197 π.Χ.) και την επανίδρυση του Κοινού των Θεσσαλών, στο οποίο ως πρώτος στρατηγός εξελέγη ο Φεραίος Πausανίας Εκεκράτους. Κατά την ελληνιστική εποχή (3ος-1ος αι. π.Χ.) η πόλη γνωρίζει τη μεγαλύτερή της έκταση και η περίφημη Υπέρεια Κρήνη, η διαχρονική πηγή της, το «νάμα θεοφιλέστατον» κατά το Σοφοκλή (Απόσπ. 825 Ν), βρισκόταν στο μέσον της, σύμφωνα με το Στράβωνα (ΙΧ, 5, 18). Στη Αγορά των Φερών αποκαλύφθηκε στοά του 2ου αι. π.Χ. με ημίεργους σπονδύλους κίωνων δωρικού ρυθμού στη θέση τους, πάνω στο στυλοβάτη. Στον ίδιο χώρο πιθανότατα βρισκόταν και το αρχαίο θέατρο. Στη νότια πλευρά της πόλης εντοπίζεται η «Συνοικία των Κεραμέων» της κλασικής και ελληνιστικής εποχής με δραστήρια εργαστήρια παραγωγής ποικίλων πήλινων προϊόντων. Εκτεταμένα νεκροταφεία αρχαϊκών, κλασικών και ελληνιστικών χρόνων υπάρχουν στα ΒΔ και στα ΝΑ των Φερών, κατά μήκος αρχαίων δρόμων.

Από τον 1ο αι. π.Χ. αρχίζει ο μαρασμός της πόλης των Φερών, η οποία φαίνεται να εγκαταλείπεται από τους κατοίκους της κατά τους πρώτους αιώνες της ρωμαϊκής αυτοκρατορικής περιόδου (1ος-2ος αι. μ.Χ.). Στην ίδια θέση κατά τους υστεροβυζαντινούς χρόνους (13ος αι. μ.Χ.) ιδρύθηκε η μικρή πόλη του Βελεστίνου, η οποία εξακολουθεί να αναπτύσσεται μέχρι σήμερα και έχει γεννήσει μια από τις σημαντικότερες προσωπικότητες της νεώτερης ελληνικής ιστορίας, το διαφωτιστή και εθνομάρτυρα Ρήγα Βελεστινλή (1757-1798).

Πολλά μνημεία της αρχαίας πόλης των Φερών, αλλά και της νεώτερης ιστορικής πόλης του Βελεστίνου, διατηρούνται σήμερα διάσπαρτα στην περιοχή. Για την οργάνωση της επίσκεψης των μνημείων αυτών έχει αρχίσει σταδιακά η δημιουργία του διαχρονικού Αρχαιολογικού-Ιστορικού Πάρκου Φερών-Βελεστίνου.

THE ANCIENT CITY OF PHERAI AT THE CROSSROADS OF THESSALY**Dr Arg. Doulgeri-Intzesiloglou ***

Archaeological Institute for Thessalian Studies, 74-76 Gambeta Str., 38221, Volos - Greece

The ancient city of Pherai was located on the site of the modern town of Velestino, the capital of the Municipality of Pherai, that lies upon the crossroads still leading from South to North and from the interior of Thessaly to the sea, at the inmost part of the Pagasetic gulf, where Pagasai, the port of Pherai, existed (Strabo IX, 5, 15). On the site of Pagasai, as it is known, the city of Demetrias was founded in the beginning of the 3rd century B.C.

The site of the earliest habitation, probably of the Chalcolithic period (ca. 3000 B.C.), was the imposing hill known as «Bakali Magoula», from where the settlement gradually extended towards the North, the East and the South and finally evolved into a large, flourishing city, of the most important ones in Thessaly, that was widely reputed throughout the whole of Greece.

The earliest period of prosperity of Pherai goes back as early as the Middle Bronze Age (1900-1600 B.C.) and reached its zenith in the Mycenaean period (1600-1100 B.C.), with which some well known persons of the Greek mythology are associated: King Pheres, the founder of the city, his son Admetos with his wife Alkestis, the model of conjugal loyalty hymned by Euripides in his tragedy named after her, and also their son Eumelos, who took part in the expedition against Troy (Homer, Iliad II, 711-715). A group of chamber tombs cut into the bedrock, that contained many important grave offerings, are preserved from this period.

In the Protogeometric and Geometric periods (10th-8th centuries B.C.) the city of Pherai was the only important, strong settlement in the region. The characteristic small tholos tombs at Chloi near Velestino, in which many dead were buried together with an abundance of wealthy grave offerings, belong to these periods.

The Archaic (7th-6th centuries B.C.) and Classical (5th-4th centuries B.C.) periods were decisive for the development of the city and its establishment as the leading power in Thessaly during the first half of the 4th century B.C., when the reins of government of Pherai were held successively by the tyrants Lykophon, Jason and Alexander. It was probably at this period that strong fortification walls, which are today well preserved, were constructed on the hill of «Ayios Athanasios» or of «Panagia», which, together with «Bakali Magoula», formed the Acropolis of Pherai. The final building phase of the doric peripteral temple of Zeus Thaulios or of Ennodia dates back

* Invited speaker

from the 4th century B.C. The south-east part of the crepis of this temple is preserved, along with the foundations for the pedestals of votive monuments.

The city of Pherai remained under Macedonian control from the second half of the 4th century to the end of the 3rd century B.C., but recovered its leading role in Thessalian affairs after the battle of «Kynos Kephalai» (197 B.C.) and the victory of Romans over Macedonians. Pausanias, son of Echekrates, a Pheraean, was elected as the first general of the re-created Thessalian League. During the Hellenistic period (3rd-1st centuries B.C.), Pherai reached its greatest extent and, according to Strabo (IX, 5, 18) the famous Hypereia Fountain, Sophocles' «god-favored spring» (Frag. 825 N), stood at the centre of the city. A stoa dating from the 2nd century B.C., with unfinished doric column drums preserved in situ on the stylobate, has been discovered in the Agora of Pherai. The ancient theater was probably located in the same area. On the southern part of the city lies the «Potters' Quarter», dating back from the Classical and Hellenistic periods, in which many workshops, producing a variety of clay artifacts, were located. Two extensive cemeteries of the Archaic, Classical and Hellenistic periods existed along ancient roads North-West and South-East of Pherai.

In the 1st century B.C. Pherai fell into decline and gradual abandonment, which was completed in the Early Imperial period (1st-2nd centuries A.D.). In the Late Byzantine period (13th century A.D.) the small town of Velestino was founded on the same site, which is the birthplace of Rigas Velestinlis (1757-1798), the protomartyr of the Greek Revolution and also one of the most important personages of the Modern Greek History.

A great number of monuments belonging to the ancient city of Pherai, as well as to the modern historical town of Velestino, are preserved today, scattered in the whole area of the Municipality. Works have begun on the creation of the Archaeological-Historical Park of Pherai-Velestino, which will facilitate organised visits to these monuments.

ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΙ ΒΙΟΜΑΡΤΥΡΕΣ ΚΑΙ ΔΥΝΑΜΙΚΗ ΤΗΣ ΡΥΠΑΝΣΗΣ ΣΤΟ ΘΕΡΜΑΪΚΟ ΚΟΛΠΟ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΩΝ 3 ΤΕΛΕΥΤΑΙΩΝ ΕΤΩΝ

**Δομουκτσίδου Γ.Π.¹, Νταϊλιάνης Σ.², Ραφτοπούλου Ε.Κ.¹, Καλογιάννη Μ.²,
Δημητριάδης Β.Κ.¹**

Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας¹ και Τομέας Ζωολογίας², Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54124 Θεσσαλονίκη

Εξετάζοντας μύδια από διαφορετικές περιοχές του Θερμαϊκού Κόλπου, μελετήθηκε η διαφοροποίηση της έκφρασης συγκεκριμένων κυτταρικών παραμέτρων του μυδιού *Mytilus galloprovincialis* και συσχετίστηκε με το διαφορετικό βαθμό ρύπανσης των περιοχών αυτών. Τα μύδια συλλέχθηκαν από 5 σταθμούς δειγματοληψίας κατά μήκος του Θερμαϊκού Κόλπου (σταθμοί Αγγελοχωρίου, Περαίας, Καλοχωρίου-πλησίον της εξόδου του Εργοστασίου Βιολογικού Καθαρισμού, Χαλάστρας και Κυμίνων), ενώ ο σταθμός της Ολυμπιάδας χρησιμοποιήθηκε ως σταθμός ελέγχου. Οι δειγματοληψίες έγιναν σε εξαμηνιαία βάση και κάλυψαν τα 3 τελευταία έτη (2000-2003). Οι κυτταρικοί βιο-δείκτες που εξετάστηκαν ήταν α) η 'σταθερότητα της λυσοσωμικής μεμβράνης', β) η 'μέθοδος κατακράτηση της χρωστικής neutral red', γ) ο 'αριθμός εμφάνισης μικροπυρήνων', δ) η 'συγκέντρωση των μεταλλοθειονινών', ε) η 'δραστηριότητα της ακετυλ-χοληνεστεράσης' και στ) η 'συγκέντρωση του κυκλικού αδενοσινω-μονοφωσφορικού οξέος' (cAMP). Οι τιμές των τεχνικών που εφαρμόστηκαν, στις περισσότερες περιπτώσεις συσχετίστηκαν γραμμικά μεταξύ τους και ακολούθησαν τη βαθμίδωση ρύπανσης του Θερμαϊκού Κόλπου, όπως αυτή αναφέρεται στη σχετική βιβλιογραφία. Οι τιμές ρύπανσης που μετρήθηκαν σε περιοχές του Κόλπου πλησίον των ακτών της Χαλάστρας, Καλοχωρίου, Κυμίνων, αλλά και Περαίας και Αγγελοχωρίου ήταν πολύ συχνά οι χαμηλότερες που μπορούν να μετρηθούν με τις συγκεκριμένες τεχνικές. Τα αποτελέσματα της μελέτης είναι ανησυχητικά ως προς τη δυναμική της ρύπανσης στο Θερμαϊκό Κόλπο, μια και παλαιότερες μετρήσεις του εργαστηρίου μας έδειξαν πολύ καλύτερα επίπεδα ρύπανσης, σε σχέση με τα σημερινά.

CELL BIOMARKERS AND DYNAMICS OF POLLUTION IN THERMAIKOS GULF. DATA OF THE LATEST 3 YEARS

Domouhtsidou G.P,¹ Dailianis S.,² Raftopoulou E.K.,¹ Kaloyianni M.,²
Dimitriadis V.K.¹

Department of Genetics, Development and Molecular Biology¹ and Department of
Zoology², School of Biology, Aristotle University, 54124 Thessaloniki

By examining mussels from different regions of Thermaikos Gulf, the variation in the expression of certain cell parameters of the mussels *Mytillus galloprovincialis* was evaluated and related to the pollution levels of these regions. The mussels were selected from five stations along Thermaikos Gulf (Aggelohorion, Peraia, Kalohori near the exit of the wastewater treatment plant tube, Halastra and Kymina). A station near Olympiada in Strymonikos Gulf was selected as a reference area. The mussels were sampled every six months for the latest three years (2000-2003). Six biomarkers were applied: a) the "lysosomal membrane stability test" b) the "neutral red retention assay", c) the determination of "micronuclei frequency" d) the concentration of metallothioneins, e) the activity of acetyl-cholinesterase and f) the concentration of the cyclic AMP. According to the results, in the most of the cases the values of the techniques applied, with the exception of the "micronuclei frequency" technique were related linearly each other and followed the pollution gradient of Thermaikos Gulf, as it is known by the literature. The pollution values measured in marine areas close to Halastra, Kalohorion, Kimina and even close to Peraia and Aggelohorion were very often the lowest that the methods could measure. The results of the study should be regarded as significant for the levels of pollution in Thermaikos Gulf, since former measurements of our lab showed values much lower compared to those of the present study.

**ΜΙΑ ΒΑΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ G-ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ
ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΤΟΥΣ ΜΕ ΤΟΥΣ GPCRs****Ελευσινιώτη Α.Α., Μπάγκος Π.Γ. και Χαμόδρακας Σ.Ι.**Τομέας Βιολ. Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784, Αθήνα

Οι G-πρωτεΐνες λειτουργούν ως «διακόπτες» για τη μεταγωγή μηνυμάτων από τον εξωκυττάριο χώρο στο εσωτερικό του κυττάρου μέσω της αλληλεπίδρασής τους με την ομάδα διαμεμβρανικών υποδοχέων, των GPCRs. Είναι ετερο-τριμερείς πρωτεΐνες αποτελούμενες από την G α , την G β και την G γ υπομονάδα, ενώ έχουν θέση πρόσδεσης νουκλεοτίδιου (GTP ή GDP). Η ονοματολογία και η λειτουργικότητα των G-πρωτεϊνών καθορίζεται από τις α υπομονάδες τους, οι οποίες ταξινομούνται, σε τέσσερις κατηγορίες (G α s, G α i/o, G α q, G α 12). Οι GPCRs είναι υποδοχείς οι οποίοι στο σύνολο τους διαθέτουν επτά διαμεμβρανικές α -έλικες, και αποτελούν τη μεγαλύτερη ομάδα κυτταρικών υποδοχέων. Χαρακτηριστικά, υπάρχουν περίπου 400-700 GPCRs στο ανθρώπινο γονιδίωμα, ενώ ιδιαίτερης σημασίας είναι το ότι περίπου το 50% των σημερινών φαρμάκων, έχουν ως στόχο, τους συγκεκριμένους υποδοχείς. Σκοπός της βάσης είναι να συγκεντρώσει πληροφορίες που αφορούν τόσο τις G-πρωτεΐνες όσο και τους αντίστοιχους GPCRs δίνοντας ιδιαίτερη έμφαση στον τρόπο που αλληλεπιδρούν μεταξύ τους. Για τη δημιουργία της βάσης συλλέχθηκαν πληροφορίες για τις πρωτεϊνικές ακολουθίες και δομές από τις δημόσιες βάσεις δεδομένων, PIR, SWISS-PROT, trEMBL και PDB. Συγκεκριμένα ανασύρθηκαν 522 ακολουθίες G-πρωτεϊνών ενώ βρέθηκαν και συνολικά 3077 ακολουθίες GPCRs. Όσον αφορά στην αλληλεπίδραση GPCRs/G-πρωτεϊνών χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα τα οποία προήλθαν από εκτενή αναζήτηση στην διεθνή βιβλιογραφία, τα οποία αναφέρονται στην ειδίκευση του τρόπου αλληλεπίδρασης των G-πρωτεϊνών με τους αντίστοιχους GPCRs. Σύντομα, η βάση δεδομένων θα οργανωθεί σε σχεσιακό πρότυπο, και θα γίνει διαθέσιμη στο διαδίκτυο για ακαδημαϊκή χρήση, με την δημιουργία γραφικής διαπροσω-πείας. Τα δεδομένα αυτά, αναμένεται να είναι ιδιαίτερα χρήσιμα στην προσπάθεια πρόγνωσης της αλληλεπίδρασης των G-πρωτεϊνών με τους αντίστοιχους υποδοχείς.

A DATABASE OF G-PROTEINS AND THEIR INTERACTIONS WITH GPCRS

Elefsinioti A.L., Bagos P.G. & Hamodrakas S.J.

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, 15784, Athens - Greece

G-proteins act as switches for signal transduction from extracellular space into the cell. This is accomplished through their interaction with G-Protein Coupled Receptors (GPCRs). G-proteins form hetero-trimers composed of $G\alpha$, $G\beta$ and $G\gamma$ subunits, and they also possess a binding site for a nucleotide (GTP or GDP). G-proteins are named after their α -subunits, which on the basis of their amino acid similarity and function are grouped into four types ($G_{\alpha s}$, $G_{\alpha i/o}$, $G_{\alpha q}$, $G_{\alpha 12}$). GPCRs form the major group of receptors in eukaryotes and they possess seven transmembrane α -helical domains. Characteristically, the human genome, presumably, has 400-700 GPCRs. The importance of GPCRs is reflected in that an estimated 50% of the current prescription drugs, target GPCRs. The purpose of this database is to collect information relative both to G-proteins and GPCRs, emphasizing the way that they interact with each other. In order to construct the database, sequence information was retrieved from the publicly available databases PIR, SWISS-PROT and trEMBL, whereas the structures were retrieved from PDB. In particular, 522 sequences for G-proteins were retrieved from SWISS-PROT/trEMBL and PIR, while, at the same time, 3077 GPCRs sequences were retrieved. Regarding the GPCR/G-protein interaction, the data that are stored, were collected after an exhaustive and detailed literature search. The database will soon be organized into a relational scheme, and will be available to the Internet for academic users. The data collected here, will also be helpful in designing prediction algorithms concerning the interaction of G-proteins with their coupled GPCRs.

**ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ
ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΠΟΥ ΕΜΠΛΕΚΕΤΑΙ ΣΤΗΝ ΤΟΠΟΓΕΝΕΣΗ
ΜΕΤΑΦΟΡΕΩΝ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ ΣΤΟΝ *Aspergillus nidulans*****Ερπαπάζογλου Ζ. και Β. Σοφianoπούλου**

Ινστιτούτο Βιολογίας, Ε.ΚΕ.Φ.Ε. Δημόκριτος, 153 10 Αθήνα.

Η τοπογένεση, δηλαδή η διαδικασία της στόχευσης και ενσωμάτωσης στη μεμβράνη, των διαμεμβρανικών μεταφορέων απαιτεί τη συμμετοχή τόσο των συστατικών του γενικού εκκριτικού μηχανισμού, όσο και παραγόντων εξειδικευμένων ανά οικογένεια μεταφορέων. Στο *Saccharomyces cerevisiae*, εξειδικευμένος παράγοντας για την τοπογένεση των μεταφορέων αμινοξέων του οργανισμού είναι η πρωτεΐνη Shr3. Πρόκειται για διαμεμβρανική πρωτεΐνη του ενδοπλασματικού δικτύου, εξάλειψη του γενετικού τόπου της οποίας αναστέλλει την ενσωμάτωση των μεταφορέων αμινοξέων σε κυστίδια COPII για τη μεταφορά τους από τη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου στο σύστημα Golgi και τελικά στη μεμβράνη του κυττάρου (1). Ο φαινότυπος του μεταλλαγμένου στελέχους ζύμης είναι παρόμοιος με αυτόν που αντιστοιχεί σε συνθήκες ανάπτυξης υπό καθεστώς στέρξης αμινοξέων, λόγω μειωμένης ικανότητας πρόσληψης των υποστρωμάτων αυτών. Η πρωτεΐνη Shr3 έρχεται σε φυσική αλληλεπίδραση με το γενικό μεταφορέα αμινοξέων GAPI της ζύμης. Επιπλέον, αλληλεπιδρά με συστατικά των κυστιδίων COPII (2). Ομόλογη της πρωτεΐνης Shr3 είναι η πρωτεΐνη Psh3 από το *Schizosaccharomyces pombe* (3). Στον *Aspergillus nidulans*, οι μεταφορείς αμινο-ξέων ανήκουν στην υπεροικογένεια APC (Amino acid Polyamine organoCation), όπως και οι μεταφορείς της ζύμης. Η παρούσα εργασία εστιάζεται στην κλωνοποίηση και το λειτουργικό χαρακτηρισμό ομόλογης της Shr3 πρωτεΐνης στο μύκητα αυτό. Μετά από *in silico* ανάλυση χρησιμοποιώντας ως ανιχνευτή την αλληλουχία της πρωτεΐνης Shr3, κλωνοποιήθηκε αλληλουχία από το γονιδίωμα του *A. nidulans* που κωδικοποιεί για πρωτεΐνη 200 αμινοξικών καταλοίπων (πρωτεΐνη ShrA) με 39% ταυτότητα και 50% ομοιότητα με την πρωτεΐνη της ζύμης. Το γονίδιο *shrA* απαντά στο απλοειδές γονιδίωμα του *A. nidulans* σε ένα αντίγραφο (χρωμόσωμα VII), φέρει ένα εσώνιο στο 5' άκρο του και η έκφρασή του είναι συστατική. Η προβλεπόμενη δευτεροταγής δομή για την πρωτεΐνη ShrA περιλαμβάνει τέσσερα διαμεμβρανικά τμήματα α-έλικας και μια υδρόφιλη κυτταροπλασματική καρβοξυτελική ουρά. Ο cDNA κλώνος του γονιδίου *shrA* συμπληρώνει την εξάλειψη του γενετικού τόπου *shr3* στο *S. cerevisiae*, γεγονός που υποδεικνύει ότι η πρωτεΐνη ShrA εμπλέκεται στην τοπογένεση των μεταφορέων αμινοξέων. Περαιτέρω λειτουργικός χαρακτηρισμός της πρωτεΐνης ShrA επιδιώκεται μέσω της εξάλειψης του γενετικού τόπου που την κωδικοποιεί σε κατάλληλο στέλεχος του *A. nidulans*. Στο μεταλλαγμένο στέλεχος του μύκητα θα μελετηθεί η επίδραση της εξάλειψης στην τοπογένεση των μεταφορέων αμινοξέων με δοκιμασίες ανάπτυξης σε αμινοξέα ως μοναδικές πηγές αζώτου ή/και άνθρακα, με πειράματα πρόσληψης ραδιοσημασμένων υποστρωμάτων και με την *in vivo* μελέτη της τοπογένεσης μεταφορέων με χρήση της τεχνολογίας της πράσινης φθορίζουσας πρωτεΐνης (GFP).

CLONING AND FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF A FACTOR INVOLVED IN THE TOPOGENESIS OF AMINO ACID TRANSPORTERS IN *Aspergillus nidulans*

Erpapazoglou Z. & V. Sophianopoulou

Institute of Biology, N.C.S.R. "Demokritos", 153 10 Athens

The targeting and integration of transmembrane proteins into cellular membranes, also referred to as topogenesis, requires the participation both of the general secretory pathway of the cell and specific for each transporter family factors. In *Saccharomyces cerevisiae*, Shr3p, a resident protein of the ER membrane, is a factor specific for the amino acid transporter family topogenesis. Deletion of the *shr3* locus prevents the amino acid transporters from being incorporated into COPII vesicles that mediate their transport from the ER membrane to Golgi and finally to the plasma membrane (1). The *shr3Δ* strain shows a pseudohyphal growth, typical of an amino acid starvation phenotype, due to the reduced capacity of amino acid uptake. Shr3p physically interacts with the general amino acid transporter Gap1p, as well as with components of the COPII vesicles (2). An Shr3p homologue has also been identified in the yeast *Schizosaccharomyces pombe* (Psh3) (3). In *Aspergillus nidulans*, all amino acid transporters belong to the APC (Amino acid Polyamine organoCation) superfamily like their yeast counterparts. The present study focuses on the cloning and functional characterization of the Shr3 homologue from this fungus. Based on an *in silico* analysis using Shr3p as a probe, we have cloned a sequence from the *A. nidulans* genome that encodes a polypeptide chain of 200 amino acid residues (protein ShrA) sharing 39% sequence identity and 50% similarity with the yeast protein. The *shrA* gene is represented once in the haploid genome of the organism (chromosome VII), contains an intron at its 5' end and is expressed constitutively. The predicted secondary structure of the ShrA protein involves four α -helical transmembrane segments and a hydrophilic cytoplasmic C-tail. The cDNA clone of the *shrA* gene complements the *shr3* deletion in *S. cerevisiae*, supporting strong evidence that the ShrA protein is involved in the topogenesis of amino acid transporters. We will proceed on the functional characterization of the ShrA protein in *A. nidulans* by deleting its genetic locus in an appropriate genetic background. In the *shrAΔ* strain, we will study the impact of the deletion in the topogenesis of amino acid transporters by assessing its growth on various amino acids as sole nitrogen or/and carbon sources and its capacity to transport radiolabeled substrates. The topogenesis of amino acid transporters to the plasma membrane can be studied *in vivo* using the Green Fluorescent Protein (GFP) technology.

1 *Cell*, **71**, 463-478, 1992

2 *Molecular Biology Cell*, **10**, 3549-3565, 1999

3 *Journal of Cell Science*, **113**, 4351-4362, 2000

**ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΟ ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΠΟΥ ΕΠΑΓΕΤΑΙ ΑΠΟ ΒΑΡΕΑ
ΜΕΤΑΛΛΑ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΜΥΔΙΟΥ *Mytilus galloprovincialis***

Ευαγγελινός Ν., Κουτσογιαννάκη Σ., Τζερανάκη Ε. και Μ. Καλογιάννη

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών
Επιστημών, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη 54124

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη του σηματοδοτικού μονοπατιού που συμμετέχει στην παραγωγή οξειδωτικών ριζών (ROS) μετά από έκθεση αιμοκυττάρων της αιμολέμφου και απομονωμένων βραγχιακών κυττάρων του μυδιού *Mytilus galloprovincialis* σε βαρέα μέταλλα. Έκθεση για 30min σε $ZnCl_2$ 50 μM , προκαλεί ενδοκυτταρική αύξηση των ROS και στους δύο κυτταρικούς τύπους. Ανάλογη αύξηση παρατηρείται μετά από έκθεση απομονωμένων βραγχιακών κυττάρων σε $CdCl_2$ 50 μM . Οι επιπτώσεις και των δυο μετάλλων μειώνονται σημαντικά, μετά την επώαση των κυττάρων με EIPA 20 nM, έναν ειδικό αναστολέα του αντιμεταφορέα Na^+/H^+ (NHE). Παρόμοια αναστολή παρατηρείται μετά από επώαση των κυττάρων με καλφοστίνη C 20 nM, έναν ειδικό αναστολέα της PKC, καθώς και με ανταγωνιστές των α_1 - και β -αδρενεργικών υποδοχέων (πραζοσίνη 1 μM και προπρανολόλη 10 μM). Επιπλέον, η επίδραση της φαινυλεφρίνης, ενός αγωνιστή των α_1 -αδρενεργικών υποδοχέων, καθώς και του PMA, ενός ειδικού ενεργοποιητή της PKC στην παραγωγή ROS είναι παρόμοια με τις επιπτώσεις των μετάλλων. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι τα δυο μέταλλα, αφού αντιδράσουν με τους α_1 - και β -αδρενεργικούς υποδοχείς, προκαλούν την παραγωγή οξειδωτικών ριζών πιθανώς μέσω της ενεργοποίησης της PKC, καθώς και του NHE σε κύτταρα του μυδιού *Mytilus galloprovincialis*.

SIGNAL TRANSDUCTION PATHWAY INDUCED BY HEAVY METALS IN CELLS OF THE MUSSEL *Mytilus galloprovincialis*

Evangelinos N., Koutsogiannaki S., Tzeranaki I. & M. Kaloyianni

Laboratory of Animal Physiology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki,
Greece, 54124

The aim of the present study is to investigate the signal transduction pathway that is involved in reactive oxygen species (ROS) production, after exposure of haemocytes and isolated gill cells of mussel *Mytilus galloprovincialis* to heavy metals. After exposure of cells for 30min to ZnCl₂ (50 μM) a significant rise of intracellular ROS production was observed in both cellular types. Similar results were observed after exposure of isolated gill cells to CdCl₂ (50 μM). The effects of each metal were significantly counteracted after incubation of the cells with EIPA 20 nM, a specific inhibitor of the Na⁺/H⁺ exchanger (NHE), together with each metal. Similarly, reversal of the metal effect was observed after incubation of the cells with calphostin C (20 nM), a specific inhibitor of protein kinase C (PKC) together with cadmium, as well as after the incubation of the cells with antagonists of α₁- and β- adrenergic receptors (prazosin 1 μM and propranolol 10 μM respectively). After incubation with the agonist of α₁- adrenergic receptors, phenylephrine, as well as PMA, an activator of PKC, ROS production was also increased. The results of the present study show that both metals probably after interacting with α₁- and β- adrenergic receptors cause an increase in ROS production via the induction of PKC and NHE activity in haemocytes and isolated gill cells of mussel *Mytilus galloprovincialis*.

**ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΒΑΤΡΑΧΟΥ *Rana ridibunda* ΩΣ ΒΙΟ-ΔΕΙΚΤΗ
ΡΥΠΑΝΣΗΣ ΤΗΣ ΕΥΡΥΤΕΡΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΤΟΥ ΛΑΓΚΑΔΑ****Ευσταθιάδου Χ., Κωσταρόπουλος Ι., Λουμπουρδής Ν.**Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124
Θεσσαλονίκη

Στην εργασία αυτή μελετήθηκε η συσσωρευση δύο βαρέων μετάλλων, του χαλκού (Cu) και του ψευδαργύρου (Zn), καθώς και η δραστικότητα του ενζύμου της μεταφοράς της γλουταθειόνης (GST) σε πληθυσμούς του βατράχου *Rana ridibunda* από ποτάμια της ευρύτερης περιοχής του Λαγκαδά (νομός Θεσσαλονίκης). Ο προσδιορισμός της δραστικότητας της GST θεωρήθηκε σημαντική επειδή το ένζυμο αυτό συμμετέχει στην αποτοξίνωση των οργανισμών από τοξικές ουσίες, καθώς και τοξικών προϊόντων των βαρέων μετάλλων. Οι παραπάνω παράμετροι προσδιορίστηκαν στο ήπαρ, στους νεφρούς, στο λεπτό και στο παχύ έντερο. Σκοπός της μελέτης ήταν ο έλεγχος του βαθμού ρύπανσης της περιοχής. Υψηλές συγκεντρώσεις και των δύο μετάλλων παρατηρήθηκαν σε όλους τους ιστούς (180-726 μgr Cu/gr ιστού και 220-1050 μgr Zn/gr ιστού). Η χαμηλότερη συγκέντρωση και για τα δύο μέταλλα βρέθηκε στο ήπαρ (3 έως 5 φορές μικρότερη σε σύγκριση με τους υπόλοιπους ιστούς). Οι συγκεντρώσεις χαλκού και ψευδαργύρου παρουσίασαν θετική συσχέτιση μεταξύ τους σε όλους τους ιστούς που μελετήθηκαν.

Η υψηλότερη τιμή δραστικότητας της GST βρέθηκε στο ήπαρ και η χαμηλότερη στο παχύ έντερο. Επιπλέον, η δραστικότητά της στους νεφρούς συσχετιζόταν αρνητικά με τη συγκέντρωση του Cu στον ίδιο ιστό.

Οι αρκετά υψηλές συγκεντρώσεις των δύο μετάλλων στον οργανισμό της *Rana ridibunda* καθώς και συγκρίσεις με άλλες μελέτες δείχνουν ότι η περιοχή είναι ιδιαίτερα βεβαρημένη με βαρέα μέταλλα. Τα μέταλλα αυτά μπορεί να προέρχονται από διάφορες πηγές, όπως λιπάσματα, μυκητοκτόνα και άλλα γεωργικά φάρμακα. Η επιβάρυνση της περιοχής υποστηρίζεται και από τις χαμηλές τιμές δραστικότητας της GST, οι οποίες είναι πολύ χαμηλότερες σε σχέση με ζώα που δεν εκτέθηκαν σε βαρέα μέταλλα.

USE OF THE FROG *Rana ridibunda* AS BIOINDICATOR OF POLLUTION IN THE AREA AROUND THE CITY OF LAGADA

Efstathiadou C., Kostaropoulos I., Loumbourdis N.

Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-54124
Thessaloniki

The bioaccumulation of two heavy metals, namely copper (Cu) and zinc (Zn), and the activity of the enzyme glutathione S-transferase (GST) in populations of the frog *Rana ridibunda* from rivers around the city of Lagada (Prefecture of Thessaloniki) were studied. Determination of GST activity was considered important since this enzyme participates in the detoxification of toxic substances, including toxic products of heavy metals. The fore mentioned parameters were determined in four tissues: liver, kidneys, small and large intestine. The aim of the study was to assess the degree of pollution in the above area.

Both metals showed high concentrations in all tissues (180-726 µgr Cu/gr tissue και 220-1050 µgr Zn/gr tissue). The lowest concentration for both metals was observed in the liver (3-5 times lower in comparison with the other tissues). Cu and Zn concentrations positively correlated with each other in all tissues studied.

The highest GST activity was observed in the liver and the lowest in the large intestine. In the kidney, GST activity negatively correlated with Cu concentration.

The high concentrations of both metals in *Rana ridibunda* and comparisons with previous articles reveal that the area around Lagada is particularly loaded with heavy metals. These metals could be originating from a number of sources, e.g. fertilizers, fungicides and other pesticides. The high degree of pollution is also supported by the low values of GST activity which are much lower than those observed in control animals.

**ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΕΙΣ ΤΑΣΕΙΣ ΣΤΙΣ ΣΩΜΑΤΙΚΕΣ ΑΝΑΛΟΓΙΕΣ ΤΥΧΑΙΟΥ
ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΦΟΙΤΗΤΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ****Ζακοπούλου Ρ., Δρετάκη Ο., Πετρουτσά Ε.Ι. και Σ.Κ. Μανώλης**Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 15784, Αθήνα

Μετά τον Δεύτερο Παγκόσμιο Πόλεμο, το κοινωνικό-οικονομικό επίπεδο στην Ευρώπη και την Βόρεια Αμερική άρχισε να βελτιώνεται συνεχώς ενώ υπήρξαν πολύ καλλίτερες συνθήκες διαβίωσης. Η βελτίωση της διατροφής επηρέασε το σχηματισμό του σώματος και την ανάπτυξη των νεαρών ατόμων. Διάφορες μελέτες στη διάρκεια των δεκαετιών του '80 και '90, έχουν αποδείξει την επίδραση της διατροφής (Bogin *et al*, 1990; Ohgama *et al*, 1987), καθώς και εκείνη της βελτίωσης των συνθηκών διαβίωσης.

Στην Ελλάδα, έχουν γίνει περιορισμένες μελέτες και αφορούσαν μαθητές Γυμνασίου ή Λυκείου (Ζαφειράτου *και συνεργ.* 1991; Πέντζου-Δαπόντε 1985) ή στρατευμένους νέους (Βαλαώρας 1946), δίνοντας έμφαση στο ανάστημα και μερικές φορές στο σωματικό βάρος. Η εργασία αυτή αποτελεί συνέχεια προηγούμενης (Manolis *et al*, 1994) που παρουσίασε σωματομετρικά δεδομένα για την 20ετία 1970-1990.

Σκοπός της ήταν να διερευνηθούν οι τάσεις στις σωματικές αναλογίες των νεαρών φοιτητών (μέση ηλικία 20 χρόνια) για το χρονικό διάστημα 2000-2003. Στο χρονικό διάστημα αυτό μετρήθηκαν 650 φοιτητές και φοιτήτριες του Τμήματος Βιολογίας. Τα σωματομετρικά δεδομένα ομοαδοποιήθηκαν κι αναλύθηκαν στατιστικά (ANCOVA).

Τα ευρήματα συζητιώνται και συγκρίνονται με άλλες παρατηρήσεις (τάση αύξησης μέσου αναστήματος με ανάλογη αύξηση του κάτω άκρου, σταθερό ύψος καθημένου, και μετατόπιση του μέσου αναστήματος σε ψηλότερες κατηγορίες).

Η έρευνα αυτή επιχορηγήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Εθνικού & Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

SECULAR TRENDS IN BODY PROPORTIONS IN A RANDOM SAMPLE OF HELLENIC STUDENTS OF BIOLOGY

Zakopoulou R., Dretaki O., Petroutsas E.I. & S.K. Manolis

Dept of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, National & Kapodistrian
University of Athens, Panepistimiopolis 157 04, Zografou, Athens, Greece

After the Second World War, the socio-economic status in Europe and Northern America began to improve continuously while there were established much better living conditions. The improvement of diet affected the body formation and the growth rates of the young people. Various studies during 80s and 90s testified the impact of diet (Bogin *et al*, 1990; Ohyama *et al*, 1987), as the upgrading of the living conditions.

Here in Greece have been conducted limited studies concerning high school students (Zafeiratou *et al.*, 1991; Pentzou-Daponte 1995) or young Greek soldiers (Valaoras 1946), focusing in stature and sometimes in body weight. This work consists continuity of a previous one (Manolis *et al.*, 1994), which presented somatometric data for a 20-year time interval (1970-1990).

The aim of this research was to investigate the trends in body proportions of the young students (average age = 20 years of age) for the last 3 years time span (2000-2003). We measure 650 students (of both sexes) of the Department of Biology. The somatometric data were clustered and analyzed statistically (ANCOVA).

The findings are discussed and compared to other observations (a trend for increase of the average stature with a relevant increase of the lower extremity, constant sitting height, and shift of the average height in higher categories)

The Special Research Account of Athens University supported this work

**ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΣΤΟΙΧΙΣΗΣ ΑΚΟΛΟΥΘΙΩΝ
α-ΕΛΙΚΟΕΙΔΩΝ ΔΙΑΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΑΝΑ ΖΕΥΓΗ****Ζωγράφος Λ.Α., Προμπονάς Β.Ι. και Χαμόδρακας Σ.Ι.**Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784, Αθήνα

Οι α-ελικοειδείς διαμεμβρανικές (α-TM) πρωτεΐνες επιτελούν σημαντικές κυτ-ταρικές λειτουργίες, αφού σχετίζονται μεταξύ άλλων με τη μεταγωγή σημάτων, τη μεταφορά ουσιών και την υποδοχή φαρμάκων. Παράλληλα, σημαντικό ποσοστό των πρωτεϊνικών ακολουθιών που κωδικοποιούνται από γονιδιώματα, οι ακολουθίες των οποίων έχουν προσδιοριστεί πλήρως, αντιστοιχούν σε α-TM πρωτεΐνες. Η διαδικασία της *in silico* ταυτοποίησής τους πραγματοποιείται με τις καθιερωμένες μεθόδους αναζήτησης, που βασίζονται σε ανά ζεύγη στοίχισης και τη χρήση πινάκων αντικατάστασης που έχουν βελτιστοποιηθεί για σφαιρικές υδατοδιαλυτές πρωτεΐνες. Για την ανάλυση των α-TM πρωτεϊνών έχουν δημιουργηθεί πίνακες αντικατάστασης, συνυπολογίζοντας τη διαφορετική κατανομή συχνοτήτων υποβάθρου που αντικατοπτρίζει τη χαρακτηριστική αμινοξική τους σύσταση. Παρόλα αυτά, δεν έχει υπάρξει υπολογιστική μεθοδολογία η οποία να έχει ως στόχο την αποδοτικότερη στοίχιση α-TM πρωτεϊνών. Αναπτύξαμε μια νέα υπολογιστική μέθοδο στοίχισης, που υλοποιεί κλασικούς αλγορίθμους δυναμικού προγραμματισμού για ολική (Needleman-Wunsch) και τοπική στοίχιση (Smith-Waterman), με γραμμική ποινή εισαγωγής κενών. Επινώντας ένα ευριστικό σύστημα βαθμονόμησης στα τμήματα της στοίχισης που αντιστοιχούν στις TM περιοχές (γνωστές από πειραματικά δεδομένα ή με τη χρήση προγνωστικών μεθόδων), σταθεροποιούνται τα γνωστά χαρακτηριστικά των TM τμημάτων. Επομένως, δίνεται η δυνατότητα βελτιωμένης στοίχισης των εξωμεμβρανικών περιοχών, που αποτελούν λειτουργικές περιοχές αυτών των πρωτεϊνών. Στα μελλοντικά μας σχέδια περιλαμβάνεται η ανάπτυξη γραφικού περιβάλλοντος εργασίας, η ενσωμάτωση μιας μεθόδου πρόγνωσης α-TM τμημάτων και η επέκταση της παρούσας μεθόδου για την πολλαπλή στοίχιση α-TM πρωτεϊνών.

A COMPUTATIONAL METHOD FOR PAIRWISE ALIGNMENT OF α -HELICAL TRANSMEMBRANE PROTEIN SEQUENCES

Zographos L.A., Promponas V.J. & Hamodrakas S.J.

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, National & Kapodistrian
University of Athens, Panepistimiopolis, 157 84, Athens - Greece

It is well known that α -helical transmembrane proteins perform important cellular functions, which include signal transduction, molecular transport and drug reception. Biological sequence databases contain a large and ever-increasing number of protein sequences, a respectable fraction of which are α -helical transmembrane proteins, encoded by completely sequenced genomes. *In silico* identification is achieved by well-established sequence database search methods, based on pairwise sequence alignments and the utilization of substitution matrices, primarily designed and optimized for globular water-soluble proteins. Recently, other research groups have introduced new substitution matrices specialized for transmembrane proteins, taking into account the different background frequencies that reflect their characteristic aminoacid compositional features. Nevertheless, there is no existing computational method targeted to the efficient alignment of α -helical transmembrane proteins. In this work, we have developed a new computational pairwise alignment method that implements well-known dynamic programming algorithms for global (Needleman-Wunsch) and local (Smith-Waterman) alignment with affine gap penalties. A heuristic scoring scheme is employed in the alignment segments that correspond to the membrane spanning regions (experimentally determined or derived by prediction methods), anchoring known features of the transmembrane regions. Consequently, exo-membrane loops, which generally contain functional sites of transmembrane proteins, may be better aligned. Our future plans include the development of a graphical user interface, the incorporation of transmembrane α -helix prediction, as well as the extension of the current method for the multiple alignments of α -helical transmembrane sequences.

**ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΡΕΟΝΤΩΝ
ΥΔΑΤΩΝ ΤΟΥ ΕΛΛΗΝΙΚΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΠΟΤΑΜΟΥ
ΣΤΡΥΜΟΝΑ****Ηλία Γ., Πατσιά Α., Χατζηνικολάου Γ. και Μ. Λαζαρίδου-Δημητριάδου**Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, ΤΘ. 134, 54124,
Θεσσαλονίκη

Η παρούσα εργασία έχει ως αντικείμενο τη μελέτη της οικολογικής ποιότητας των υδάτων του ελληνικού τμήματος του ποταμού Στρυμόνα κατά το Δεκέμβριο του 2003 πριν από το κλείσιμο του φράγματος της τεχνητής Λίμνης Κερκίνης. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν τα βενθικά μακροασπόνδυλα ως βιοδείκτες της ποιότητας των ρεόντων υδάτων. Παράλληλα, καταγράφηκαν οι φυσικοχημικές και οι υδρομορφολογικές παράμετροι στον κάθε σταθμό. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες σε 19 σταθμούς, από τους οποίους οι 5 πρώτοι (δύο από τους οποίους ανήκαν σε παραπόταμο.) βρίσκονταν ανάντη της τεχνητής λίμνης Κερκίνης, ενώ οι υπόλοιποι κατάντη.

Εν συνεχεία, αναγνωρίστηκαν 3.833 άτομα στο κατώτερο δυνατό ταξινομικό επίπεδο που ανήκαν σε 55 οικογένειες, από τις οποίες οι 16 ήταν υψηλόβαθμες σύμφωνα με το ελληνικό σύστημα αξιολόγησης (ΕΣΑ). Επίσης, σύμφωνα πάλι με τον ΕΣΑ οι 12 σταθμοί χαρακτηρίστηκαν ως μέτριοι, οι 5 ως ρυπασμένοι ενώ οι 2 ως καθαροί. Επίσης, εφαρμόστηκαν στατιστικές μέθοδοι ομαδοποίησης (FUZZY) και ταξιθέτησης (CANOCO), προκειμένου να ελεγχθούν τα αποτελέσματα της αφθονίας των μακροασπονδύλων. Οι 19 σταθμοί κατηγοριοποιήθηκαν σε 3 ομάδες. Στην πρώτη ομάδα ανήκουν οι σταθμοί 1 και 2 (παραπόταμος), οι οποίοι διαφοροποιούνται λόγω του υποστρώματος και της ύπαρξης ευαίσθητων ταξινομικά ομάδων (Heptageniidae). Στη δεύτερη ανήκουν οι υπόλοιποι σταθμοί εκτός του 7, ο οποίος λόγω διαφορετικής πανίδας (Velidae, Palaeamonidae) σχηματίζει ομάδα μόνος του. Η ταξιθέτηση των σταθμών οφείλεται κυρίως στο υπόστρωμα (ογκόλιθοι), τη θερμοκρασία και τα NO₃. Συμπερασματικά, το χειμώνα που το φράγμα είναι ανοιχτό, η ομοιογένεια μεταξύ των σταθμών είναι 33% σύμφωνα με τη SIMPER.

EVALUATION OF THE ECOLOGICAL STATUS OF THE RUNNING WATERS OF THE GREEK PART OF STRYMONAS RIVER IN DECEMBER 2003

Ilia G., Patsia A., Chatzinikolaou Y. & M. Lazaridou-Dimitriadou

Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, PO Box
134, GR-54124, Thessaloniki, Greece

This project is focused on the ecological quality of the running waters of the Greek part of Strymonas River in December 2003 prior to the closure of the dam of the artificial Lake Kerkini. For this purpose, the benthic macro-invertebrates were used as bioindices for the quality of running waters. Meanwhile, the physicochemical and hydromorphological parameters were measured for each station. In particular, samplings were realized in 19 stations, of which the first 5 (2 of which belonged to a tributary), were situated upstream of the artificial lake Kerkini, while the rest were situated downstream.

They were identified 3833 individuals to the lowest possible level, and were classified into 55 families, 16 of which belonged to sensitive families with a high score according to the Hellenic Evaluation System (HAS). Additionally, according to the HAS 12 of the stations were characterized as moderately polluted, 5 of them as polluted, and 2 with a good quality.

Moreover, statistical methods of clustering (FUZZY) and classification (CANOCO) were applied to the abundance of macroinvertebrates and the abiotic parameters measured. The 19 stations belonged to 3 groups. Stations 1 and 2 (belonging to the tributary) were grouped together being diversified from the rest of the stations because of their substrate (boulders) and the presence of sensitive taxonomic groups (Heptageniidae). The rest of the stations belonged to the second group, except from station 7, which formed a group of its own because of its different fauna (Vellidae, Palaemonidae). This ordination of the stations was due mainly to the substrate, temperature and NO_3 .

In conclusion, during winter, when the dam stays open, the similarity of the stations is 33% according to SIMPER analysis.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΡΥΘΜΙΣΤΩΝ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΚΥΚΛΟΥ Cdt1 ΚΑΙ
Geminin: ΕΚΦΡΑΣΗ ΣΕ ΒΑΚΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΕ ΔΙΑΙΡΟΥΜΕΝΑ
ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ****Ηλιού Μ.¹, Ρούκος Β.¹, de Marco V.², Περράκης Α.², Ταραβήρας Σ.³
και Ζ. Λυγερού¹**¹Τμήμα Ιατρικής, Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών²Netherlands Cancer Institute, Dep. of Mol. Carcinogenesis, The Netherlands³Τμήμα Ιατρικής, Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Πανεπιστήμιο ΠατρώνE-mail: lygerou@med.upatras.gr

Προκειμένου να διατηρηθεί η γονιδιωματική σταθερότητα στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, η αντιγραφή του DNA είναι ρυθμισμένη αυστηρά ώστε να συμβαίνει μία μόνο φορά σε κάθε κυτταρικό κύκλο. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω μιας διαδικασίας, γνωστής ως *αδειοδότηση της αντιγραφής (licensing)*, η οποία περιλαμβάνει τη διαδοχική πρόσδεση των πρωτεϊνών ORC1-6, Cdc6, Cdt1 και MCM2-7 στην χρωματίνη κατά τη φάση G1 του κυτταρικού κύκλου. Ο παράγοντας Cdt1 αποτελεί κεντρικό μόριο στη διαδικασία της αδειοδότησης και ρυθμίζεται αυστηρά ώστε να είναι ενεργός μόνο κατά την G1. Υπερέκφραση του Cdt1 οδηγεί σε γενετική αστάθεια και προδιαθέτει για καρκινική εξαλλαγή. Η ρύθμιση του Cdt1 επιτυγχάνεται μέσω ειδικής πρωτεόλυσης και μέσω σχηματισμού συμπλόκου με τον αρνητικό ρυθμιστή αυτού, καλούμενο Geminin. Στην παρούσα εργασία, ετερόλογο βακτηριακό σύστημα έκφρασης χρησιμοποιήθηκε για την έκφραση και απομόνωση εξελικτικά συντηρημένων πρωτεϊνικών περιοχών των παραγόντων Cdt1 και Geminin του ανθρώπου, με σκοπό τη δομική και λειτουργική τους μελέτη. Απομονώσαμε σε ικανή ποσότητα και καθαρότητα τμήματα των παραγόντων Cdt1 και Geminin τα οποία περιλαμβάνουν τις λειτουργικά σημαντικές περιοχές των δύο μορίων και στερούνται τις περιοχές ειδικής πρωτεόλυσης αυτών, καθώς και την πλήρη πρωτεΐνη Geminin. Παράλληλα, μελετήσαμε την έκφραση κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου των παραγόντων Cdt1 και Geminin σε καρκινικές κυτταρικές σειρές καθώς και σε πρωτογενείς καλλιέργειες ανθρώπινων κυττάρων. Πραγματοποιήσαμε διπλούς ανοσοφθορισμούς με αντισώματα ειδικά για το Cdt1, Geminin και τις κυκλίνες A και E καθώς και διπλούς ανοσοφθορισμούς σε κύτταρα που έχουν ενσωματώσει το ανάλογο της θυμιδίνης BrdU. Χρησιμοποιώντας τις κυτταρικές σειρές HeLa και MCF7, δείξαμε ότι ο παράγοντας Cdt1 εκφράζεται ειδικά κατά τη φάση G1 και η έκφρασή του μειώνεται με την έναρξη της φάσης S και τη συσσώρευση της κυκλίνης A, ενώ η Geminin αρχίζει να εκφράζεται λίγο μετά την έναρξη της φάσης S. Τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν ότι η αδρανοποίηση του Cdt1 από την πρωτεΐνη Geminin κατά τη φάση S ενδέχεται να δρα κατά πλεονασμό με την ειδική πρωτεόλυση αυτού.

STUDIES OF THE HUMAN CELL CYCLE REGULATORS Cdt1 AND Geminin: EXPRESSION IN BACTERIA AND CELL CYCLE ANALYSIS

Iliou M.¹, Roukos V.¹, de Marco V.², Perrakis A.², Taraviras S³ & Z. Lygerou¹

¹Department of General Biology, School of Medicine, University of Patras

²Netherlands Cancer Institute, Dept. of Mol. Carcinogenesis, The Netherlands

³Department of Pharmacology, School of Medicine, University of Patras

E-mail: lygerou@med.upatras.gr

For genomic stability to be maintained, DNA replication is strictly regulated in eukaryotic cells so that it takes place only once per cell cycle. This is accomplished through a process known as *replication licensing*. Licensing involves the sequential loading of the proteins ORC1-6, Cdc6, Cdt1 and MCM2-7 onto chromatin after passage through mitosis, ensuring that chromatin is competent for another round of replication only during the G1 phase. Cdt1 is a key licensing which is tightly regulated so as to be active only during the G1 phase. Ectopic expression of Cdt1 leads to genomic instability and predisposes mammalian cells for malignant transformation. Cdt1 is regulated by cell cycle specific proteolysis and by complex formation with the licensing inhibitor Geminin.

In the present study, we used a heterologous bacterial expression system in order to express and purify evolutionarily conserved domains of the Cdt1 and Geminin factors for structural and functional analysis. We succeeded in purifying Cdt1 and Geminin protein fragments, which contain the functionally important domains of these molecules and lack the domains responsible for cell cycle dependent proteolysis, as well as full length Geminin. Furthermore, we studied the cell cycle specific expression of Cdt1 and Geminin in cancer cell lines and primary human cells. For this purpose, double immunofluorescence experiments were conducted using antibodies specific for human Cdt1, human Geminin, cyclin A and cyclin E, as well as in cells which had previously incorporated in DNA the thymidine analogue BrdU. We show that Cdt1 is detected only in G1 and its levels decrease as soon as DNA replication is initiated, concomitant with the accumulation of Cyclin A. In contrast, Geminin is detected soon after entry into S-phase. Our data indicate that during S-phase, Geminin mediated inhibition of Cdt1 may act redundantly to its proteolysis.

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΡΥΘΜΙΣΗΣ ΣΤΟΥΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥΣ**Αγγελόπουλος Μ., Νώλης Η., Αποστόλου Ε. και Δ. Θάνος**

Ινστ. Μορ. Βιολογίας και Γενετικής, Ε.ΚΕ.Β.Ε. «Αλ. Φλέμιγκ» Αλ. Φλέμιγκ 34, Βάρη 16672.

Η μεταγραφική ενεργοποίηση του γονιδίου της Ιντερφερόνης β (ΙΦΝ-β) στους ανθρώπους μετά από μόλυνση με ιούς απαιτεί ένα πολύπλοκο μεταγραφικό ενδισχυτή που βρίσκεται στην 5' γειτονική περιοχή από το σημείο έναρξης της μεταγραφής. Η μόλυνση με τους ιούς ενεργοποιεί τρεις διαφορετικές κατηγορίες μεταγραφικών παραγόντων (NF-κΒ, IRFs και ATF/Jun) οι οποίοι προσδένονται με εξαιρετικά συνεργατικό τρόπο στον ενδισχυτή σχηματίζοντας έτσι ένα τρισδιάστατο σύμπλοκο αποτελούμενο από DNA και πρωτεΐνες που ονομάζεται ενδισχυόσωμα. Το ενδισχυόσωμα ενεργοποιεί τη μεταγραφή καθοδηγώντας την στρατολόγηση ενζυμικών δραστηριο-τήτων που αναδιαμορφώνουν τη χρωματίνη αλλά και γενικών μεταγραφικών παραγόντων που απαιτούνται για την σύνθεση του RNA. Η συνισταμένη τους δράση οδηγεί στην μετακύλιση του νουκλεοσώματος που καλύπτει τον υποκινητή του γονιδίου σε νέα θέση αποκαλύπτοντας έτσι τα κρίσιμα ρυθμιστικά στοιχεία, προαπαιτούμενο για την μεταγραφική ενεργοποίηση. Τεχνητή μετάθεση του ίδιου νουκλεοσώματος στη θέση που καταλαμβάνει μετά την μετακύλισή του αλλά πριν την δημιουργία του ενδισχυο-σώματος αποκάλυψε δραματικές αλλαγές στο πρότυπο γονιδιακής έκφρασης ανα-φορικά με την χρονική αλλά και την εξειδίκευση της μεταγραφικής απάντησης του γονιδίου της ΙΦΝ-β. Επιπρόσθετες ενδείξεις για τον ρόλο της ακριβούς θέσης των νουκλεοσωμάτων στους υποκινητές-ενδισχυτές στην εξειδίκευση της μεταγραφής αποκαλύφθηκε από τη μελέτη της έκφρασης του γονιδίου της ιντερλευκίνης-8 (IL-8). Τα πειράματα έδειξαν ότι σε κύτταρα όπου η IL-8 επάγεται με φλεγμονώδη σήματα ο υποκινητής της δεν περιέχει νουκλεοσώματα ενώ αντιθέτως σε Β-λεμφοκύτταρα που το γονίδιο δεν μπορεί να επαχθεί ο υποκινητής καλύπτεται από ένα νουκλεοσώμα. Αυτό το νουκλεοσώμα περιέχει την ιστόνη macro-H2A που το καθιστά ανθεκτικό σε παράγοντες που αναδιαμορφώνουν τη χρωματίνη. Συνοπτικά, τα αποτελέσματά μας καταδεικνύουν ότι η ταυτότητα των γονιδιακών μεταγραφικών προτύπων έκφρασης εξαρτάται και διατηρείται από την λειτουργική και δυναμική αλληλο-εξάρτηση μεταξύ εξειδικευμένων για κάθε γονίδιο ενδισχυοσωμάτων αλλά και της τοπικής δομής της χρωματίνης. Η υπόθεση του ιστονικού κώδικα προβλέπει ότι οι χημικές τροποποιήσεις της χρωματίνης γίνονται με συγκεκριμένο τρόπο έτσι ώστε συνδυαστικά να δημιουργούν νέες επιφάνειες πρόσδεσης των συμπλόκων που απαιτούνται για την έναρξη της μεταγραφής. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων που συνοπτικά περιγράφονται παρακάτω έχουν σχεδιασθεί τόσο για τον έλεγχο της υπόθεσης του ιστονικού κώδικα αλλά και για την αποκωδικοποίησή του. Τα πειράματα έδειξαν ότι μόνο ένα απρόσμενα μικρός αριθμός λυσινών στις ιστόνες H3 και H4 ακετυλιώνονται κατά την μεταγραφή του γονιδίου της ΙΦΝ-β και αυτές οι ακετυλίωσεις παίζουν ένα πολύ εξειδικευμένο ρόλο στη βιοχημική διαδικασία της μεταγραφής. Πιό συγκεκριμένα, η ακετυλίωση της λυσίνης 8 στην ιστόνη H3 απαιτείται για τη στρατολόγηση και πρόσδεση του συμπλόκου SWI/SNF που αναδιαμορφώνει τη χρωματίνη, ενώ η συνδυασμένη ακετυλίωση των λυσινών 9 και 14 στην H3 εμπλέκεται στην στρατολόγηση του γενικού μεταγραφικού παράγοντα TFIID. Συνεπώς, η γενετική πληροφορία που περιέχεται στο DNA «μεταφέρεται» στις ιστόνες των παρακείμενων νουκλεοσωμάτων υπό την μορφή της χημικής τροποποίησης δημιουργώντας έτσι νέες επιφάνειες πρόσδεσης για την στρατολόγηση μεταγραφικών συμπλόκων που απαιτούνται για την έναρξη της γονιδιακής έκφρασης.

MECHANISM OF GENE EXPRESSION IN HUMANS

Aggelopoulos M., Nolis I., Apostolou E. & D. Thanos

Institute of Molecular Biology and Genetics, B.S.R.C. "Al. Fleming"
34 Al. Fleming Street, Vari 16672

Transcriptional activation of the human Interferon- β (IFN- β) gene in response to virus infection requires a complex enhancer element located immediately upstream from the start site of transcription. Three distinct sets of transcription factors (NF- κ B, IRFs and ATF/Jun) are activated upon viral infection and bind cooperatively to the enhancer to form a higher order three-dimensional complex composed of enhancer DNA and transcription factors, termed the enhanceosome. The IFN- β enhanceosome activates transcription by instructing an ordered recruitment of chromatin modifying activities and general transcription factors to the promoter that function to induce sliding of a nucleosome masking the core promoter to a new downstream position. Thus, in uninfected cells the core promoter of the IFN- β gene is inaccessible to the transcriptional machinery but it becomes fully accessible following enhanceosome-dependent nucleosome sliding. Delivery of this nucleosome to the same downstream position to create an accessible IFN- β core promoter prior to enhanceosome assembly results in major changes in the gene expression profile with regard to the temporal pattern and the signal specificity of the transcriptional response. Additional evidence for the role of a precise promoter nucleosomal architecture in specifying gene expression programs was provided by studying the expression pattern of the human Interleukin-8 (IL-8) gene. We found that in cells capable of expressing IL-8 in response to pro-inflammatory signals the IL-8 enhancer is nucleosome-free, thus allowing the association of both the cognate transcription factors and the general transcriptional machinery with the DNA. In sharp contrast, in B-cell lines that are incapable of inducing IL-8 gene expression, the IL-8 enhancer-promoter is masked by a nucleosome that contains the histone variant macro-H2A. We showed that macro-H2A nucleosomes are resistant to chromatin alterations, thus silencing the underlying genes. These results indicate that the identity of a gene expression program is achieved and maintained by the dynamic interplay between specific enhanceosomes and specific local chromatin structure.

We also report the results of experiments designed to test the histone code hypothesis, that is, chromatin modifications are not random but rather occur in a combinatorial fashion creating a platform required for the interaction of transcription complexes with the marked genes. We found that only a small subset of lysines in histones H4 and H3 are acetylated *in vivo* by the GCN5 acetyltransferase during activation of the IFN- β gene. Reconstitution of recombinant nucleosomes bearing mutations in these lysine residues revealed the cascade of gene activation via a point-by-point interpretation of the histone code through the ordered recruitment of bromodomain-containing transcription complexes. Acetylation of histone H4 K8 mediates recruitment of the SWI/SNF complex whereas acetylation of K9 and K14 in histone H3 is critical for the recruitment of TFIID. Thus, the information contained in the DNA address of the enhancer is transferred to the histone N-termini by generating novel adhesive surfaces required for the recruitment of transcription complexes.

**ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ, ΕΚΦΡΑΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΘΕΡΜΟ-
ΕΠΑΓΟΜΕΝΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ, *HSP83*, ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΜΥΓΑΣ
*Ceratitis capitata***

Θεοδωράκη Μ.Α., Τατάρη Μ., Χρυσάνθης Γ., Ζαχαροπούλου Α., Μίντζας Α.

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών

Η απόκριση των οργανισμών στο θερμικό και άλλα είδη στρες συνδέεται με την επαγωγή ή την αύξηση της σύνθεσης μιας ομάδας πρωτεϊνών που ονομάζονται θερμοεπαγόμενες πρωτεΐνες (HSPs). Οι πρωτεΐνες αυτές, μέσω της συνο-δευτικής δράσης τους στις πρωτεΐνες του κυττάρου, προστατεύουν τα κύτταρα από τα τοξικά αποτελέσματα των διαφόρων μορφών στρες. Επιπλέον, μέλη της οικογένειας των HSP παίζουν σημαντικό ρόλο σε ένα συνεχώς αυξανόμενο αριθμό κυτταρικών λειτουργιών υπό φυσιολογικές συνθήκες. Τα μέλη της οικογένειας των HSP90 είναι μοριακοί συνοδοί και εμπλέκονται στη σωστή διαμόρφωση πρωτεϊνών που συμμετέχουν σε διάφορα μονοπάτια μεταβίβασης σήματος, όπως είναι οι υποδοχείς στεροειδών ορμονών και οι πρωτεϊνικές κινάσες.

Χρησιμοποιώντας ως ανιχνευτή το δεύτερο εξώνιο του *hsp83* της *Drosophila auraria*, απομονώθηκε ένας cDNA κλώνος που περιείχε την κωδική περιοχή του *hsp83* γονιδίου της Μεσογειακής μύγας και ακολούθως απομονώθηκε ένας γονιδιωματικός που περιείχε ολόκληρο το *hsp83* γονίδιο (*Cchsp83*). Προσδιορίστηκε η νουκλεοτιδική αλληλουχία της μεταγραφόμενης περιοχής καθώς και 3,5 kb της 5' ανοδικής περιοχής του γονιδίου. Το γονίδιο εκφράζεται σε όλα τα στάδια ανάπτυξης της Μεσογειακής μύγας υπό φυσιολογικές συνθήκες και η μεταγραφή του αυξάνεται μετά από θερμικό στρες. *In situ* υβριδοποίηση έδειξε ότι το γονίδιο χαρτογραφείται στη θέση 94C του 6^{ου} χρωμοσώματος που αντιστοιχεί σε ένα από τα μεγαλύτερα θερμοεπαγόμενα "puffs" των πολυταινικών χρωμοσωμάτων του εντόμου. Το *Cchsp83* γονίδιο περιέχει ένα μικρό εσώνιο που χωρίζει την κωδική από την 5' μη μεταφράσιμη περιοχή. Ο υποκινητής του γονιδίου περιλαμβάνει δύο δυνητικά στοιχεία απόκρισης στη θερμοκρασία που βρίσκονται 35 και 275 ζεύγη βάσεων ανοδικά του στοιχείου TATA. Η λειτουργική μελέτη των ρυθμιστικών στοιχείων του υποκινητή του *Cchsp83* γονιδίου σε διαγονιδιακές σειρές του εντόμου, βρίσκεται σε εξέλιξη.

CLONING, EXPRESSION AND CHARACTERIZATION OF THE HEAT SHOCK GENE, HSP83, IN THE MEDITERRANEAN FRUIT FLY *Ceratitis capitata*

Theodoraki M.A., Tatari M., Chrysanthis G., Zacharopoulou A., Mintzas A.

Department of Biology, University of Patras

The response of cells or organisms to heat shock and other environmental stresses is connected to the induction or enhancement of the synthesis of a number of proteins, called heat shock proteins (HSPs). HSPs, via their chaperoning effects on cellular proteins, protect cells from many forms of stress-induced cell damage. Furthermore, members of the HSP families also play central roles in a constantly increasing number of cellular activities under non-stress conditions. The members of HSP90 family are molecular chaperones associated with the folding of signal-transducing proteins, such as steroid hormone receptors and protein kinases.

By using the second exon of the *Drosophila auraria hsp83* gene as a probe, we isolated a medfly cDNA clone containing the coding region of the medfly *hsp83* homologue (*Cchsp83*). Then, a genomic clone containing the medfly *hsp83* gene was isolated and the nucleotide sequence of the region encompassing the transcription unit and a 3.5 kb 5' flanking region was determined. The *Cchsp83* gene is expressed under normal conditions throughout medfly development and is heat-inducible. *In situ* hybridization showed that the *Cchsp83* gene is mapped in the region 94C of the 6th chromosome, which corresponds to one of the major heat shock puffs of the medfly polytene chromosomes. The transcription unit contains a small intron that separates the 5' untranslated and coding regions of the gene. The promoter of *Cchsp83* gene contains one major and one minor heat shock element (HSE), located 35 and 275 bp upstream of the TATA box. Functional analysis of the *Cchsp83* promoter regulatory sequences, in transgenic medfly lines, is currently in progress.

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΥΠΟΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΥ ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ
ΤΩΝ ΒΕΝΖΟΔΙΑΖΕΠΙΝΩΝ ΣΕ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ
ΕΝΗΛΙΚΩΝ ΜΥΩΝ**

Θεοδωρίτση Δ.*, Σπαθής Α. Δ.*, Δημακοπούλου Α., Παναγόπουλος Ν.Τ.,
Ματσώκης Ν. και Μ. Μαργαρίτη

Εργ. Φυσ. Ανθρώπου και Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα 26500

Είναι γνωστό ότι οι θυρεοειδικές ορμόνες (ΤΗ) εμπλέκονται στην παθοφυσιολογία της μανιοκατάθλιψης, αλλά ο μηχανισμός δράσης τους παραμένει άγνωστος. Οι βενζοδιαζεπίνες (ΒΖΔ) χρησιμοποιούνται ευρέως ως αγχολυτικά και ηρεμιστικά φάρμακα. Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκε η επίδραση του γενικού και του κυτταρικού υποθυρεοειδισμού στη δέσμευση του [³H] Flunitrazepam στους κεντρικούς και περιφερειακούς υποδοχείς των ΒΖΔ στο ραβδωτό σώμα, σε σύγκριση με την αντίστοιχη δέσμευση στον ιππόκαμπο και στον αριστερό και δεξιό φλοιό. Στην περίπτωση του γενικού υποθυρεοειδισμού, σε ενήλικες μύς δόθηκε ΚClO₄ στο πόσιμο νερό (1%) για δέκα εβδομάδες, ενώ στον κυτταρικό υποθυρεοειδισμό οι μύες επιπρόσθετα ενέθηκαν ενδοπεριτ-τοναϊκώς με ιοπανοϊκό οξύ (0,5 mg/ml) 24 ώρες και 2 ώρες πριν τη θυσία. Προέκυψαν τα εξής αποτελέσματα: Στο γενικό υποθυρεοειδισμό η δέσμευση του [³H] Flunitrazepam αυξήθηκε μόνο στο ραβδωτό σώμα και μόνο στους κεντρικούς υποδοχείς των ΒΖΔ [Μάρτυρας: (103,12 ± 11,44) X 10³ dpm/mg πρωτεΐνης, Υποθυρεοειδικό: (138,7 ± 9,3) X 10³ dpm/mg πρωτεΐνης, ↑ 26%] χωρίς καμιά αλλαγή στη χημική συγγένεια του υποδοχέα. Ο κυτταρικός υποθυρεοειδισμός προκάλεσε δραματική αύξηση της δέσμευσης του [³H] Flunitrazepam σε όλες τις εγκεφαλικές περιοχές που μελετήθηκαν τόσο στους κεντρικούς όσο και στους περιφερειακούς υποδοχείς των ΒΖΔ. Τα ευρήματα αυτά προτείνουν ότι η επίδραση του γενικού υποθυρεοειδισμού στο σύστημα των ΒΖΔ παρουσιάζει ιστοειδικότητα, η οποία πιθανόν εξαρτάται από το βαθμό του κυτταρικού υποθυρεοειδισμού ανά εγκεφαλική περιοχή.

Χρηματοδότηση από πρόγραμμα Καραθεοδωρής 2002 (3011), Πανεπιστήμιο Πατρών

(* Ισοδύναμη συνεισφορά)

THE EFFECT OF HYPOTHYROIDISM ON THE BENZODIAZEPINE SYSTEM IN BRAIN AREAS OF ADULT MICE

Theodoritsi D.*, Spathis A.D.*, Dimakopoulou A., Panagopoulos N.T.,
Matsokis N. and M. Margarity

Laboratory of Human and Animal Physiology, Department of Biology, University of Patras,
Patras 26500, Greece

It is known that thyroid hormones (TH) are involved in the pathophysiology of mania-depression, but their mechanism of action still remains unknown. Benzodiazepines (BZDs) are commonly used anxiolytics and anticonvulsants. In this study, we examined the effect of general and cellular hypothyroidism on [³H] flunitrazepam binding to central and peripheral BZD receptors in the corpus striatum, compared to the hippocampus and the left and right cortex. In the case of general hypothyroidism, mice were given KClO₄ in their drinking water (1%) for 10 weeks, while in the cellular hypothyroidism, mice were additionally injected intraperitoneally with iopanoic acid (0,5 mg/kg) 24 and 2 hours before sacrifice. Our results showed that: In general hypothyroidism, the [³H] flunitrazepam binding was increased only in the corpus striatum and only for the central BZD binding sites [Control: (103,12 ± 11,44) × 10³ dpm/mg of protein; Hypothyroid: (138,7 ± 9,3) × 10³ dpm/mg of protein; ↑ 26%), without any changes in the affinity of the ligand. The cellular hypothyroidism caused a dramatic increase of [³H] flunitrazepam binding in all brain areas studied for both central and peripheral BZD binding sites. These findings suggest that the effect of general hypothyroidism on the BZD system exhibits tissue specificity, which possibly depends on the extent of cellular hypothyroidism in the tissue.

Funded by the Karatheodoris program 2002 (3011), University of Patras

(* Equal contribution)

**ΠΟΣΟ ΑΞΙΟΠΙΣΤΟΣ ΕΙΝΑΙ Ο ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ
ΑΝΔΡΙΚΗΣ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑΣ ΜΕΣΩ ΤΩΝ ΕΞΑΛΕΙΨΕΩΝ
ΤΟΥ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟΥ DNA;****Ιερεμιάδου Φ.¹, Μαργαρίτης Λ.Χ.¹, Ζούρος Ε.² και Γ.Κ. Ροδάκης³**

¹Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής και ³Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 15784, Αθήνα, ²Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, 71409 Ηράκλειο, Κρήτη.

Ένα από τα αίτια πρόκλησης ανδρικής υπογονιμότητας είναι η μειωμένη κινητικότητα των σπερματοζωαρίων. Αν και δεν αμφισβητείται η εμπλοκή των μιτοχονδρίων σε πλήθος παθολογικών περιπτώσεων, δεν έχει διευκρινιστεί ο συσχετισμός της μειωμένης κινητικότητας με εξαλείψεις του mtDNA των σπερματοζωαρίων. Αντικείμενο της παρούσας μελέτης αποτελεί ο έλεγχος της παρουσίας εξαλείψεων στο κλάσμα των βραδέως κινούμενων σπερματοζωαρίων. Ως υλικό χρησιμοποιήθηκε το σπέρμα 20 υπογόνιμων ανδρών. Η εφαρμογή της μεθόδου PCR με εκκινητές που σχεδιάσαμε, βάσει της αλληλουχίας αναφοράς «Cambridge», δεν οδήγησε σε εντοπισμό εξαλείψεων, σε αντίθεση με βιβλιογραφικά δεδομένα που υποδεικνύουν υψηλή συχνότητα εμφάνισης. Με σκοπό τη διευκρίνιση αυτής της ασυμβατότητας, χρησιμοποιήσαμε τους ίδιους εκκινητές PCR που αναφέρονται στις σχετικές μελέτες. Το μήκος των προϊόντων της PCR που προέκυψαν ήταν συμβατό με την παρουσία εξαλείψεων, όμως περαιτέρω ανάλυση των προϊόντων αυτών (Southern, αλληλούχιση) έδειξε ότι δεν επρόκειτο για τμήματα μιτοχονδριακού DNA. Με βάση τα δεδομένα αυτά συμπεραίνουμε ότι η συσχέτιση μεταξύ της μειωμένης κινητικότητας του σπέρματος και των εξαλείψεων του mtDNA, όπως ανιχνεύονται στην πράξη, πρέπει να επανεξετασθεί.

Ευχαριστούμε την εταιρία «Ιατρική έρευνα» για την εξασφάλιση βιολογικού υλικού.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτείται από τη Γ.Γ.Ε.Τ (ΠΕΝΕΔ 01ΕΔ42)

THE DETECTION OF MITOCHONDRIAL DNA DELETIONS THROUGH PCR IN IMMOTILE SPERM MAY LEAD TO ERRONEOUS CONCLUSIONS ABOUT MALE INFERTILITY

Ieremiadou F.¹, L.H. Margaritis¹, E. Zouros² & G.C. Rodakis³

¹Department of Cell Biology and Biophysics and ³Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Biology, University of Athens, 15784, Athens - Greece

²Department of Biology, University of Crete, 714 09, Heraklion, Crete

Male infertility is usually associated with reduced sperm motility. The latter is in turn often associated with deletions in the sperm's mitochondrial DNA (mtDNA), leading to the hypothesis that these deletions are among the primary causes of infertility in man. We have isolated poorly motile sperm from 20 men with symptoms of reduced fertility. We searched for mtDNA deletions by the method of long PCR, using primers created according to «Cambridge» sequence. We failed to identify missing mtDNA pieces. To account for the discrepancy between our findings and those reported by the literature, we used the same primers described by these previous studies. We have obtained fragments of truncated lengths, but upon further examination through Southern analysis and sequencing, these fragments were found not to be of mitochondrial DNA origin. These results suggest that PCR may lead to an erroneous correlation of apparent mtDNA deletions with sperm immotility and thus male infertility.

The biological material has been provided by «Iatriki Erevna»
This research is funded by G.S.R.T. (PENED 01ED42)

***Bactrocera oleae*: ΜΕΛΕΤΗ ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΑΓΡΙΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ**Ίτζιου Αικ.¹, Μέγας Χ.¹, Παπαδόπουλος Ν.², Μαυραγάνη – Τσιπίδου Π.¹¹Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 541 24 Θεσσαλονίκη²Τμήμα Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Φυτόκου Ν. Ιωνία Μαγνησίας 384 46

Η καλλιέργεια της ελιάς αποτέλεσε και αποτελεί το βασικό κορμό της οικονομίας της Ελλάδας. Η χώρα μας παράγει το 17% της παγκόσμιας ποσότητας ελαιολάδου και κατέχει την τρίτη θέση ανάμεσα στις ελαιοπαραγωγικές χώρες. Το έντομο *Bactrocera oleae* είναι ο κυριότερος εχθρός της ελιάς και θεωρείται ως ένα από τα έντομα μεγάλης οικονομικής σημασίας για τον Ελλαδικό και τον ευρύτερο Μεσογειακό χώρο. Παρά τις προσπάθειες για την ανεύρεση μεθόδων ελέγχου του εντόμου αυτού, η μέχρι σήμερα αντιμετώπισή του περιορίζεται στη χρήση χημικών εντομοκτόνων. Η ανάπτυξη νέων μεθόδων καταπολέμησης του δάκου προϋποθέτει τη γνώση της βιολογίας και της δημογραφίας του.

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε άγριος πληθυσμός, που συλλέχθηκε από προσβεβλημένο ελαιόκαρπο στην περιοχή Σκιώνη Χαλκιδικής το Νοέμβριο 2003. Συγκεκριμένα, έγινε καταγραφή της διάρκειας ζωής ενήλικων αρσενικών και θηλυκών ατόμων, που διατηρούνταν α) σε ατομικούς κλωβούς και β) σε κλωβούς ανά ζεύγη. Επιπλέον, υπολογίστηκε ο ρυθμός ωοαπόθεσης των θηλυκών ατόμων και καταγράφηκαν οι δημογραφικές παράμετροι. Η μέση διάρκεια ζωής των αρσενικών, που διατηρούνταν σε ατομικούς κλωβούς βρέθηκε ότι είναι μικρότερη από την αντίστοιχη των θηλυκών. Το αντίθετο παρατηρήθηκε στην περίπτωση των ζευγαριών.

***Bactrocera oleae*: DEMOGRAPHIC PARAMETERS OF WILD POPULATION**

Itziou A.¹, Megas Ch.¹, Papadopoulos N.², Mavragani – Tsipidou P.¹

¹Department of Genetics, Development and Molecular Biology School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University, Thessaloniki, Greece

²Department of Agriculture Crop Production and Rural Environment, University Thessaly, Phytokou St.N. 384 46 N.Ionia Magnisias

Olive production is considered to be of great importance for Greek economy. Greece ranks third in the world's olive oil production. The olive fruit fly, *Bactrocera oleae*, consists the main threat for olive production in Greece and other Mediterranean countries. Although there is considerable interest in developing methods of biological control for this pest, its control up to now, is based mainly on the application of chemical insecticides. For the development of alternative and sustainable control methods, the knowledge of its biology and demography is considered necessary.

Here, the demography and biology of a wild strain collected from Skioni Chalkidiki were studied. Specifically, we recorded in laboratory conditions the life expectancy of adult males and females, the female oviposition rates, and we calculated the population increase parameters. It was found that the life expectancy of males kept in separate cages was shorter than that of females kept in similar conditions. However, when males were kept with females (in couples), the life expectancy of the former was longer than that of the latter.

**ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΣΕ ΒΛΑΒΕΣ ΚΑΙ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ DNA
ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΠΟ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΚΟΙΝΗ ΠΟΙΚΙΛΗ
ΑΝΟΣΟΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ****Καναβέτας Π.^{1,2}, Μεσσήνη-Νικολάκη Ν.², Κανάριου Μ.³, Τσιλιμιγκάκη Σ.¹
και Σ.Μ. Πιπεράκης¹**¹Εργ. Επιδιορθωτικών Μηχανισμών DNA, Ινστιτούτο Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος,
Αθήνα²Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 15784, Αθήνα³Τμήμα Ανοσολογίας και Ιστοσυμβατότητας, Νοσοκομείο Παιδών «Αγία Σοφία», Αθήνα

Στην εργασία αυτή με την τεχνική του comet assay μελετήσαμε την ευαισθησία του DNA λεμφοκυττάρων από ασθενείς με κοινή ποικίλη ανοσοανεπάρκεια στην γ-ακτινοβολία και το H₂O₂, καθώς και την επιδιορθωτική τους ικανότητα.

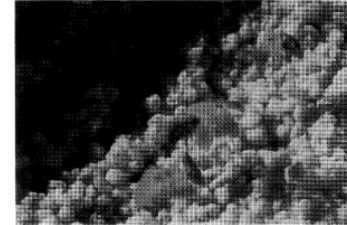
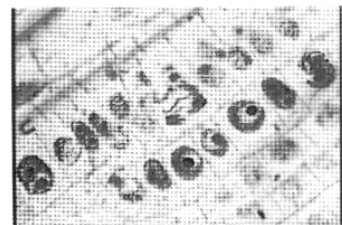
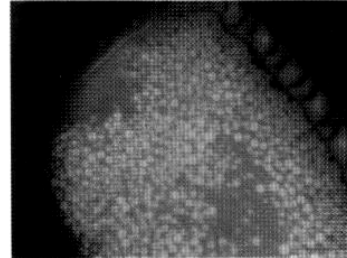
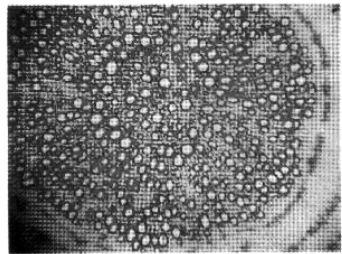
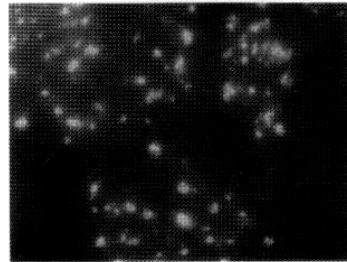
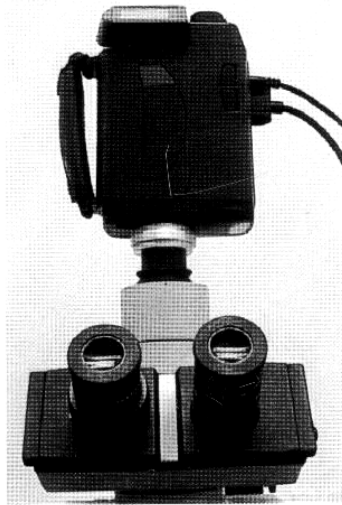
Επίσης προσδιορίσαμε τον αριθμό των φυσιολογικών, αποπτωτικών και νεκρωτικών κυττάρων.

Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων βρέθηκε μια μεγαλύτερη ευαισθησία του DNA των ασθενών με κοινή ποικίλη ανοσοανεπάρκεια στην επίδραση των εξωτερικών αυτών παραγόντων (γ-ακτινοβολία και H₂O₂) σε σύγκριση με αυτή των φυσιολογικών ατόμων. Επιπλέον η απόπτωση σε ασθενείς φαίνεται να είναι μεγαλύτερη από αυτή των φυσιολογικών ατόμων.

**DNA DAMAGE AND REPAIR IN COMMON VARIABLE
IMMUNODEFICIENCY PATIENTS' LYMPHOCYTES****Kanavetas P.^{1,2}, Messini-Nikolaki N.², Kanariou M.³, Tsilimigaki S.¹ & S.M. Piperakis¹**¹DNA Repair Laboratory, Institute of Biology, NCSR Demokritos, Aghia Paraskevi, Athens²Department of Cell Biology, Faculty of Biology, University of Athens, Athens³Department of Immunology and Histocompatibility, Hospital "Agia Sofia", Athens, Greece

In this study we examined with the comet assay on a population of patients with common variable immunodeficiency (CVID) the DNA damage caused by γ-irradiation and H₂O₂. Furthermore, we studied apoptosis and necrosis. Analysis of our results indicates that CVID patients are more sensitive to the effects of external factors. Apoptosis was also found to be somehow higher in CVID patients.

Η BIOSURE έχει αναπτύξει συστήματα προσαρμογής της ψηφιακής κάμερας για μικροσκόπια (απλά και στερεοσκόπια). Επιπλέον, η μεγάλη ευαισθησία της κάμερας επιτρέπει την καταγραφή εικόνων ανοσοφθορισμού (FISH κ.λ.π.)



**ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΣΤΡΕΠΤΟΜΥΚΗΤΩΝ ΑΠΟ ΔΙΑΦΟΡΑ
ΕΛΛΑΔΙΚΑ ΕΝΔΙΑΙΤΗΜΑΤΑ ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΙΚΩΝ ΠΡΟΣ ΤΟ ΜΥΚΗΤΑ
Rhizoctonia solani. ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΑ ΧΡΗΣΗΣ ΣΑΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ
ΒΙΟΕΛΕΓΧΟΥ**

**Κανινή Γ.Σ., Δελατόλα Ε.Ν., Κατσίφας Ε.Α., Χατζηνικολάου Δ.Γ.,
και Α.Δ. Καραγκούνη**

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Πανεπιστημιόπολη, 15784 Αθήνα

Ο βιολογικός έλεγχος ασθενειών και ζιζανίων των καλλιεργειών προσελκύει τεράστιο ενδιαφέρον αφού προσφέρει μια φιλική προς το περιβάλλον εναλλακτική λύση στο πρόβλημα της χρήσης χημικών παραγόντων ελέγχου. Οι Στρεπτομύκητες είναι ικανοί να παράγουν ένα ευρύ φάσμα αντιβιοτικών σαν δευτερογενείς μεταβολίτες καθώς και μια ποικιλία ενζύμων που αποικοδομούν το κυτταρικό τοίχωμα των μυκήτων. Για το λόγο αυτό έχουν γίνει προσπάθειες προκειμένου να αξιοποιηθούν είδη Στρεπτομυκήτων για τον έλεγχο μυκητιακών ασθενειών των ριζών. Η *Rhizoctonia solani* είναι ένας κοινός φυτοπαθογόνος μύκητας για μια ποικιλία φυτών. Στόχος μας ήταν να μελετήσουμε τον ανταγωνισμό μεταξύ δύο στελεχών του φυτοπαθογόνου μύκητα *Rhizoctonia solani* (*Rhizoctonia solani* DSM843 και *Rhizoctonia solani* 1105) και ενός συνόλου 604 Στελεχών Στρεπτομυκήτων απομονωμένων από 12 διαφορετικά ελλαδικά ενδαιτήματα, χρησιμοποιώντας *in vitro* μεθόδους μέτρησης του ανταγωνισμού. Από αυτή τη διαδικασία επιλέχθηκαν έξι στελέχη Στρεπτομυκήτων με τη μεγαλύτερη ικανότητα αναστολής της ανάπτυξης των μυκήτων και διερευνήθηκε με επιπλέον *in vitro* πειράματα η δυνατότητα λύσης των υφών του μύκητα. Τα στελέχη αυτά εξετάστηκαν επιπλέον και για την ικανότητά τους να παράγουν τα εξωκυτταρικά ένζυμα κυτταρινάση, χιτινάση και ξυλανάση σε υγρές καλλιέργειες χρησιμοποιώντας ποικιλία μέσων καλλιέργειας. Από τα αποτελέσματα προέκυψε ότι η αναστολή της ανάπτυξης της *Rhizoctonia solani* οφείλεται σε διηθητούς παράγοντες που παράγονται από τα βακτήρια, οι οποίοι σε κάποιες περιπτώσεις φαίνονται να είναι ένζυμα ενώ στις υπόλοιπες η βιοχημική τους φύση είναι υπό εξέταση.

ISOLATION OF *Rhizoctonia solani*: ANTAGONISTIC STREPTOMYCETES FROM DIVERSE GREEK HABITATS: POTENTIAL USE AS BIOCONTROL AGENTS

Kanini G.S., Delatola E.N., Katsifas E.A., Hatzinikolaou D.G. & A.D. Karagouni

Department of Botany, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of Athens,
Panepistimiopolis, 157 84 Athens - Greece

Biological control of diseases and pests of crops using microbial inoculants is receiving increased attention providing an environmentally friendly alternative to the use of chemical control agents. Attempts have been made to develop *Streptomyces* species in order to control fungal root diseases, since *Streptomyces* spp. are capable of producing a remarkably wide spectrum of antibiotics as secondary metabolites, as well as a variety of fungal cell wall-degrading enzymes. *Rhizoctonia solani* is a common plant pathogen fungus for a variety of plants including potato, tomato plant, cotton, bean etc. Our aim was to study the antagonism of two fungal pathogens, *Rhizoctonia solani* DSM843 and *Rhizoctonia solani* 1105 by a total of 604 *Streptomyces* strains, isolated from 12 diverse Greek habitats using *in vitro* plate antagonism bioassays. Six *Streptomyces* strains with the highest fungal growth suppression ability were selected and further *in vitro* experiments were done in order to investigate the ability of the fungal hyphae lysis. These strains were also examined for the production of extracellular chitinases, cellulases and xylanases in liquid cultures using a variety of culture media. The results suggest that the suppression of the *Rhizoctonia solani* growth was due to diffusible agents produced by the bacteria which in some cases seem to be enzymes while in the others their biochemical nature is under examination.

**ΜΕΛΕΤΗ ΔΟΜΙΚΩΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΔΙΜΕΡΩΝ ΙΣΤΟΝΩΝ
ΣΤΟ ΝΟΥΚΛΕΟΣΩΜΑ ΑΡΧΑΙΟΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΜΕΣΩ ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗΣ
ΠΡΟΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗΣ****Καπασά Μ.Γ., Αλεξόπουλος Ι.Κ., Παπανδρέου Ν.Χ., Μουδριανάκης Ε.Ν.
και Χαμόδρακας Σ.Ι.**Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 15784, Αθήνα

Οι ιστόνες συμμετέχουν στο πακετάρισμα του DNA σε νουκλεοσώματα καθώς και στη ρύθμιση της έκφρασής του. Οι αρχαιοϊστόνες αποτελούνται από 68 περίπου κατάλοιπα που αντιστοιχούν στην κεντρική περιοχή των ευκαρυωτικών ιστονών με το χαρακτηριστικό δίπλωμα της ιστονικής πτυχής. Οι πειραματικά προσδιορισμένες δομές των αρχαιοϊστονών είναι λίγες σε σχέση με την πληθώρα των καταχωρημένων ακολουθιών τους στο διαδίκτυο. Επίσης, προς διερεύνηση βρίσκεται ακόμα η συγκρότηση του τετραμερούς του αρχαιονουκλεοσώματος από διαφορετικούς συνδυασμούς ομοδιμερών και ετεροδιμερών ιστονών κατά περίπτωση, καθώς και οι αλληλεπιδράσεις που αναπτύσσονται μεταξύ τους. Για να μελετήσουμε τις αλληλεπιδράσεις, συλλέξαμε καταρχάς τις ακολουθίες όλων των αρχαιοϊστονών και με το πρόγραμμα ClustalW διαπιστώσαμε τη μεταξύ τους ομοιότητα σε επίπεδο ακολουθίας. Με τη μέθοδο της Συγκριτικής Προτυποποίησης (Comparative Modelling) και χρησιμοποιώντας ως πρότυπο την πειραματικά προσδιορισμένη δομή διμερούς αρχαιοϊστονών (αρχείο PDB 1KU5), κατασκευάστηκαν μοντέλα διμερών. Στα μοντέλα διμερών που προέκυψαν καθώς και στις πειραματικά λυμένες δομές μετρήθηκαν οι αποστάσεις των καταλοίπων με κατάλληλο λογισμικό που αναπτύχθηκε στο εργαστήριό μας. Με βάση τα αποτελέσματα των μετρήσεων έγινε στατιστική ανάλυση προκειμένου να διαπιστωθεί αν υπάρχει προτίμηση συγκεκριμένων καταλοίπων για τις θέσεις αλληλεπίδρασης των μονομερών προς το σχηματισμό διμερών. Τέλος, μελετήσαμε τη συσχέτιση του αριθμού των αλληλεπιδράσεων στα μοντέλα των δομών των ομοδιμερών και ετεροδιμερών, προκειμένου να διαπιστωθεί σε επίπεδο συγκρότησης διμερών, αν υπάρχει διαφορά στο πακετάρισμα τους, κάτι το οποίο μπορεί να είναι σε άμεση συνάρτηση με τις συνθήκες περιβάλλοντος που αναπτύσσεται το αρχαιοβακτήριο.

STRUCTURAL STUDIES OF THE INTERACTIONS OF HISTONE DIMERS IN THE ARCHAEOAL NUCLEOSOME BY COMPARATIVE MODELLING

**Kapasa M.G., Alexopoulos J.K., Papandreou N.C., Moudrianakis E.N.
& Hamodrakas S.J.**

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens,
Panepistimiopolis 157 84 Zografou Athens Greece

Archaeal histones are proteins participating in DNA packing and transcription regulation. Archaeal histones consist of approximately 68 residues that correspond to the central domain of the so-called histone fold in eukaryal histones. A limited number of archaeal histone crystal structures are currently available due to difficulties in growing protein crystals, while a large number of sequences are available in protein databases. Despite available data, a number of questions remain unanswered concerning the assembly of the tetrameric archaeal nucleosome by either homodimers or heterodimers of histones under specific conditions and also their structural interactions. In order to study these interactions, we collected all the available sequences of archaeal histones and aligned them with ClustalW to find sequence similarities. By Comparative Modelling and an experimentally solved archaeal histone dimer structure as template (PDB code IKU5), we have constructed dimer models of all the archaeal histones whose structures have not yet been solved. The next step was to calculate the distances between the monomers of the constructed dimers and the experimentally solved structures of archaeal histones, using software written in our laboratory. These calculations were used in order to perform statistical analysis and establish if there is a preference of specific residues in the interaction sites. Finally, we tried to detect if there is any correlation between the number of interactions in homodimers and heterodimers and the degree of their packing, a possible outcome that might be closely related to the environmental conditions, where the archaeon lives.

**ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΣΚΕΛΕΤΟΥ
ΤΗΣ ΔΕΣΜΙΝΗΣ ΜΕ ΤΗ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ
ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ, ΤΟΝ ΘΑΝΑΤΟ ΚΑΡΔΙΟΜΥΟΚΥΤΤΑΡΩΝ
ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ****Καπετανάκη Γ.***

Εργαστήριο Βιοχημείας και Κυτταρικής Βιολογίας, Κέντρο Βασικών Ερευνών, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών, Ακαδημία Αθηνών. Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών.

Με τη μέθοδο της γονιδιακής στόχευσης δείξαμε ότι η δεσμίνη - πρωτεΐνη ειδική για τους μύες των ενδιάμεσων νηματίων (IFs) - είναι πολύ σημαντική στη διατήρηση των μυών, η δε απουσία της οδηγεί σε βλάβη σκελετικών και καρδιακών μυών και καρδιακή ανεπάρκεια. Τα χαρακτηριστικά της μυοπάθειας είναι μιτοχονδριακές βλάβες, μυϊκός εκφυλισμός με εκτεταμένη ίνωση και ενασβεστίωση. Δεν είναι ακόμη γνωστοί οι μηχανισμοί με τους οποίους η παρουσία δεσμίνης συμβάλλει στη διατήρηση των μυών, η δε απουσία της οδηγεί σε θάνατο μυοκυττάρων. Οι μέχρι τώρα μελέτες μας έχουν επιβεβαιώσει ότι, η συσχέτιση των IFs της δεσμίνης με τα μιτοχόνδρια έχει μεγάλη σημασία για τη διατήρηση του υγιούς μύος. Μεταξύ των πλέον εμφανών και πρωτοδιαπιστωμένων χαρακτήρων του μηδενικού φαινοτύπου δεσμίνης είναι η απώλεια της φυσιολογικής μορφής και θέσης των μιτοχονδρίων, η εξασθενημένη αναπνευστική λειτουργία και ο μιτοχονδριακός πολλαπλασιασμός, ιδιαίτερα ύστερα από αυξημένο φόρτο. Το μιτοχόνδριο δεν είναι μόνον το εργοστάσιο παραγωγής ενέργειας του κυττάρου, αλλά και το οπλοστάσιό του. Τα μιτοχόνδρια είναι οι κατ'εξοχήν εκτελεστές του κυτταρικού θανάτου που συσχετίζεται τόσο με αποπτωτικές όσο και με μη αποπτωτικές οδούς με ποικίλες, αλληλοεπικαλυπτόμενες όψεις. Υπάρχουν διάφοροι οδοί μέσω των οποίων αυτές οι μιτοχονδριακές ανωμαλίες θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε κυτταρικό θάνατο. Σε αυτές περιλαμβάνονται: (α) εξασθενημένη μιτοχονδριακή λειτουργία, (β) αύξηση οξειδωτικής έντασης, (γ) διαταραχή της ομοιόστασης ασβεστίου, (δ) μεταβολές στη διαπερατότητα της μιτοχονδριακής μεμβράνης και (ε) απελευθέρωση μορίων κυτταρικού θανάτου. Προσπαθούμε να εστιάσουμε σε κάθε μια από αυτές τις δυνατότητες και να διαπιστώσουμε τις πιθανές αλληλοκαλύψεις μεταξύ τους. Οι μελέτες μας υποδηλώνουν πιθανές (δυνατές) αλλαγές στις μιτοχονδριακές θέσεις επαφής απουσία δεσμίνης. Έχουμε δείξει ότι οι παρατηρούμενες μιτοχονδριακές ανωμαλίες είναι πράγματι η πρωταρχική αιτία της παρατηρουμένης μυοκαρδιοπάθειας και ότι αυτές οι βλάβες μπορεί να αποκατασταθούν με υπερέκφραση του bcl-2, μιας αντι-αποπτωτικής πρωτεΐνης που εντοπίζεται στις μιτοχονδριακές

* Προσκεκλημένη ομιλήτρια

θέσεις επαφής. Υπερέκφραση της *bcl-2* σε καρδιές φαινοτύπου «δεσμίνη 0» έχει ως αποτέλεσμα την επιδιόρθωση των μιτοχονδριακών βλαβών, μειωμένη παρουσία ινωτικών ανωμαλιών στο μυοκάρδιο, παρεμπόδιση της καρδιακής υπερτροφίας, αποκατάσταση της δομής των καρδιακών μυοκυττάρων και σημαντική βελτίωση της καρδιακής λειτουργίας. Επιπλέον, έχουμε διαπιστώσει ότι, η απώλεια της δεσμίνης ελαττώνει τη δυνατότητα των μιτοχονδρίων να ανθίστανται στην έκθεση σε ασβέστιο, μια βλάβη η οποία μπορεί να αποκατασταθεί μερικώς με υπερέκφραση της *bcl-2*. Αυτά τα αποτελέσματα συνηγορούν υπέρ μιας καινούργιας λειτουργίας της δεσμίνης στην προστασία των μιτοχονδρίων από την έκθεση σε ασβέστιο τα οποία μπορεί μερικώς να διασωθούν από υπερέκφραση *bcl-2*. Αυτή είναι η πρώτη φορά που η υπερέκφραση της *bcl-2* στην καρδιά παρέχει σημαντική βελτίωση σε μια κληρονομική μορφή καρδιομυοπάθειας, αποκαλύπτοντας τη δυνατότητα του *bcl-2* και ίσως και άλλων γονιδίων στην οικογένεια ως θεραπευτικών παραγόντων για καρδιακές παθήσεις πολλών τύπων, συμπεριλαμβανομένων και κληρονομούμενων μορφών.

**MECHANISMS LINKING DESMIN CYTOSKELETON
TO MITOCHONDRIAL BEHAVIOR AND FUNCTION,
CARDIOMYOCYTE DEATH AND HEART FAILURE****Capetanaki Y.***Biochemistry & Cell Biology Laboratory, Center of Basic Research, Foundation
of Biomedical Research, Academy of Athens; Department of Biology,
University of Patras

Using gene targeting we have demonstrated that desmin, the muscle specific intermediate filament (IF) protein, is very important in muscle maintenance and its absence leads to skeletal and cardiac myopathy and heart failure. The hallmarks of the myopathy are mitochondrial defects, muscle degeneration with extensive fibrosis and calcification. The mechanism by which desmin IFs contribute to maintenance of healthy muscle and the mechanism by which lack of desmin IFs leads to myocyte death remains elusive. Our studies so far have established that the presumed association of desmin IFs with mitochondria is of great significance for the maintenance of healthy muscle. Among the most prominent and early detected features of the desmin null phenotype are loss of normal mitochondrial shape and positioning, compromised respiratory function and mitochondria proliferation especially following work overload. The mitochondrion is not only the cell's powerhouse it is also its arsenal. Mitochondria are the central executioners of cell death linked to both apoptotic and non-apoptotic pathways with several overlapping aspects. There are different ways by which these mitochondrial abnormalities could lead to cell death. These include: a) impaired mitochondrial function; b) increase in oxidative stress; c) perturbation of calcium homeostasis; d) changes in mitochondrial membrane permeability; and e) release of cell death molecules. We are trying to address each one of these possibilities and establish the potential overlap between them. So far, our studies have suggested potential alterations in the mitochondrial contact sites in the absence of desmin. We have demonstrated that the observed mitochondrial abnormalities are indeed the primary cause of the observed cardiomyopathy and that these defects can be ameliorated by overexpression of bcl-2, an antiapoptotic protein located at the mitochondrial contact sites.

* Invited speaker

Overexpression of bcl-2 in the desmin null heart results in correction of mitochondrial defects, reduced occurrence of fibrotic lesions in the myocardium, prevention of cardiac hypertrophy, restoration of cardiomyocyte ultra-structure and significant improvement of cardiac function.

Furthermore, we have found that loss of desmin also diminishes the capacity of mitochondria to resist exposure to calcium, a defect that can be partially restored by bcl-2 overexpression. These results point to a novel function for desmin in protection of mitochondria from calcium exposure that can be partially rescued by overexpression of bcl-2. This is the first time bcl-2 cardiac overexpression has provided significant improvement of an inherited form of cardiomyopathy, revealing the potential for bcl-2, and perhaps other genes in the family, as therapeutic agents for heart disease of many types, including inherited forms.

ΣΤΡΕΠΤΟΜΥΚΗΤΕΣ ΤΟΥ ΕΛΛΑΔΙΚΟΥ ΟΙΚΟΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ**Καραγκούνη Α.Δ.***Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών ,
Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 15784, Αθήνα

Το γένος *Streptomyces* είναι το σημαντικότερο της ομάδας των Ακτινοβακτηρίων, αφού τα μέλη του είναι παραγωγοί του 70% περίπου των μέχρι σήμερα γνωστών αντιβιοτικών. Παράγουν πολλούς δευτερογενείς μεταβολίτες βιοτεχνολογικού ενδιαφέροντος με εφαρμογή στη χημειοθεραπεία (αντικαρκινικές και άλλες βιοενεργές ουσίες), τη βιομηχανία τροφίμων (αμινοξέα), τη βιοκατάλυση, τη βιοαποικοδόμηση κ.λ.π. Η ερευνητική ομάδα της μικροβιολογίας του Τομέα Βοτανικής του Τμήματος Βιολογίας του ΕΚΠΑ είναι από τις ελάχιστες ανά τον κόσμο που ασχολείται με την οικοφυσιολογία του γένους *Streptomyces*. Τα τελευταία 15 χρόνια έχει δημιουργήσει μια τράπεζα σημαντικών στελεχών του γένους, έχει μελετήσει εκτενώς τη ποικιλότητά τους σε τουλάχιστον 55 μικροενδιαιτήματα, έχει αναπτύξει μεθόδους για την εκτίμηση της εδαφικής αναπνοής, της ειδικής ενζυμικής ενεργότητας αρκετών ενζύμων με στόχο τη μελέτη της επιβίωσης και της αύξησης των στρεπτομυκήτων σε κλειστά συστήματα καλλιέργειών και σε μικροκόσμους εδάφους. Επιπλέον, έχει ασχοληθεί με την ανίχνευση της παρουσίας φυσικών πλασμιδίων και συγκεκριμένων καταβολικών και βιοσυνθετικών γονιδίων στα απομονωθέντα ενδογενή στελέχη. Τέλος, έχει ανιχνευθεί η παραγωγή μιας νέας βιοενεργούς ουσίας από στέλεχος του *Streptomyces exfoliatus* το οποίο απομονώθηκε από ριζόσφαιρα του φυτού *Ebenus sibthorpii* η οποία βρίσκεται στο στάδιο ελέγχου αντικαρκινικής δράσης.

* Προσκεκλημένη ομιλήτρια

ACTIVITIES OF STREPTOMYCETES IN GREEK ECOSYSTEMS

Karagouni A.D.*

Department of Botany, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens,
Panepistimiopolis, 15784 Athens -Greece

Streptomyces genus is the most important among the Actinobacteria group, as it is known to produce up to 70% of the antibiotics known so far. They also produce a wide range of secondary metabolites of biotechnological interest, which have applications in chemotherapy (anticancer applications), food industry (amino acids), biocatalysis, bioremediation e.t.c. Our microbiology laboratory of the Botany Department, in the Biology Faculty, NKUA is one of the few worldwide that studies the ecophysiology of the *Streptomyces* genus. During the last 15 years a very important culture collection has been created, while new methods for estimating spores, mycelia, total respiration and several enzymatic activities have been developed to study the survival, growth and other activities in batch cultures and soil microcosms as well as the biodiversity of 55 microhabitats. Furthermore, our laboratory has dealt with the detection of natural plasmids hosted in streptomycete isolates and the detection of specific housekeeping and catabolic genes has been investigated. Finally, a new bioactive compound produced by a *Streptomyces exfoliatus* isolate originated from the rhizosphere of *Ebenus sibirica* plant, is under anticancer investigation.

* Invited speaker

Η ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΜΙΚΡΟΒΙΟΤΕΣΤ DAPHTOXKIT FTM PULEX ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΔΥΟ ΑΓΡΟ-ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ

Καραδήμα Κ., Ρούβαλη Α., Ηλιοπούλου–Γεωργουδάκη Ι.

Εργαστήριο Ρύπανσης και Οικοτοξικολογίας, Τομέας Βιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Πατρών, Ρίο 26500, Πάτρα

Στην Ελλάδα γενικά, αλλά και στο Νομό Αχαΐας ειδικότερα, τα ελαιουργεία και οι μονάδες παραγωγής γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων εκτιμάται ότι, με τα ακατέργαστα απόβλητά τους, συμβάλλουν σημαντικά στη ρύπανση του περιβάλλοντος. Το μεγαλύτερο περιβαλλοντικό πρόβλημα που προκαλείται από τις μονάδες αυτές, είναι η απόθεση μεγάλων ποσοτήτων υγρών ακατέργαστων αποβλήτων κυρίως στα υδάτινα οικοσυστήματα. Τα απόβλητα από τις δύο αγρο-βιομηχανίες περιέχουν υψηλά ποσοστά οργανικού φορτίου, υψηλά επίπεδα νιτρικών και φωσφόρου, φαινολικές ενώσεις και τανίνες με αποτέλεσμα να προκαλούν δυσμενείς επιπτώσεις στους υδάτινους αποδέκτες. Βασικός σκοπός της μελέτης είναι η εκτίμηση της τοξικότητας τόσο των αποβλήτων τυροκομικής μονάδας όσο και ελαιουργείων με τη χρήση του καρκινοειδούς *Daphnia pulex* με τη μορφή του μικροβιοτέστ Daphtoxkit FTM pulex. Λήφθηκαν συνολικά δεκαέξι δείγματα (τέσσερα διπλά δείγματα τυροκομικών αποβλήτων και τέσσερα διπλά δείγματα ελαιουργικών αποβλήτων). Μετρήθηκαν οι σημαντικότερες φυσικοχημικές παράμετροι σε όλα τα δείγματα και εκτιμήθηκε η τοξικότητα σε καθένα από αυτά. Όλοι οι έλεγχοι πραγματοποιήθηκαν σε επανάληψη ώστε να διασφαλιστεί η ακρίβεια των αποτελεσμάτων. Στα τεστ τοξικότητας υπολογίσθηκαν τα EC₅₀ 24h και 48h σύμφωνα με το πρωτόκολλο εργασίας του μικροβιοτέστ. Μετά από την μετατροπή των τιμών αυτών σε τοξικές μονάδες, βρέθηκε ότι αυτές στα μεν τυροκομικά απόβλητα κυμαίνονταν από 16,86 έως 55,86, στα δε ελαιουργικά μεταξύ 1,48 – 3,99. Οι τιμές αυτές κατατάσσουν τα απόβλητα από «τοξικά» έως «πολύ τοξικά». Από τη συσχέτιση με των φυσικοχημικών παραμέτρων με τα EC₅₀ προκύπτει ότι το Daphtoxkit FTM pulex εμφανίζει ευαισθησία και για τα δύο είδη αποβλήτων. Στα τυροκομικά απόβλητα φαίνεται να είναι ιδιαίτερα ευαίσθητο στο BOD₅ και COD καθώς και στα φωσφορικά ιόντα. Από την άλλη, στα ελαιουργικά απόβλητα, το Daphtoxkit FTM pulex επέδειξε μεγαλύτερη συσχέτιση με τις ολικές φαινόλες, γεγονός που ενισχύει την αξιοπιστία του, επομένως και τη χρησιμότητά του για την παρακολούθηση των συγκεκριμένων αποβλήτων. Να σημειωθεί ότι η παρούσα έρευνα είναι η πρώτη μελέτη εκτίμησης της τοξικότητας των συγκεκριμένων αποβλήτων που γίνεται στη χώρα μας, παρ' ότι αυτά διεκδικούν σημαντικό μερίδιο στην επιβάρυνση του περιβάλλοντος. Ελπίζουμε ότι τα αποτελέσματα θα αξιοποιηθούν κατάλληλα από τους θεσμικούς παράγοντες ώστε να οδηγηθούν σε συγκεκριμένη νομοθετική ρύθμιση, όπως άλλωστε αυτό υπαγορεύεται και από την Ευρωπαϊκή Νομοθεσία.

THE USE OF THE MICROBIOTEST DAPHTOXKIT FTM PULEX FOR THE TOXICITY EVALUATION OF TWO AGRO-INDUSTRIAL EFFLUENTS

Karadima C., Rouvalis A., Iliopoulou – Georgudaki J.

Unit of Pollution and Ecotoxicology, Section of Animal Biology, Department of Biology,
University of Patras, Rio 26500, Patras

In Greece in general and subsequently in the Achaia Prefecture, it is estimated that the raw liquid wastes of olive mills and dairy industries are considered to highly contribute to the environmental pollution. The most severe environmental problem caused by these manufacturing units, is considered to be the release of large quantities of liquid raw waste, mainly into aquatic ecosystems. The wastes of these agro-industrial units contain a high amount of organic load, high levels of nitrite and phosphorus, as well as phenolic compounds and tannins, resulting to malign effects on aquatic receivers. The aim of this study is the acute toxicity estimation of the wastewaters from dairy product units and from olive mills by using the crustacean *Daphnia pulex* in the form of the microbiotest Daphtoxkit FTM pulex. Sixteen samples were collected from the units (four duplicate samples from the dairy industry and four duplicate samples from the olive oil mills) and were used to conduct the toxicity tests and the physicochemical parameters. All tests were performed in duplicates in order to ensure the results' credibility. In the toxicity tests, the EC₅₀ in 24 and 48 hours were calculated according to the test's protocol. After the transformation of these values to toxic units, the results for the dairy industry effluents ranged from 16,86 to 55,86. On the other hand, the results for the olive mill wastewaters oscillated from 1,48 – 3,99. These values classify the tested dairy effluents from "toxic" to "highly toxic". From the results of the correlation of the physicochemical parameters with the EC₅₀ values, the Daphtoxkit FTM pulex demonstrated sensitivity to both types of wastewaters. The BOD₅ and COD values, as well as the phosphates, seem to define the toxicity of the dairy industry effluents. On the other hand, Daphtoxkit FTM pulex showed great correlation with the total phenols, which supports its reliability and usefulness for the monitoring of these specific wastewaters. Finally, it must be noted that the present study is the first toxicity evaluation study for agroindustrial wastewaters in our country, even though they play an important role in the environmental pollution. Hopefully, these results shall be properly developed by the institutional officials so that they are led to concrete legislative regulations, as this is also dictated by the European Legislation.

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΑΥΓΩΝ ΤΟΥ *M. scolopax* (Pisces, Centriscidae)**Καραϊσκού Ν., Τριανταφυλλίδης Α., Μαργαρώνη Μ., Καρατζάς Δ.
και Κ. Τριανταφυλλίδης***Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ, 54124 Θεσσαλονίκη, Μακεδονία, Ελλάδα
*E-mail: triant@bio.auth.gr, Τηλ: 2310998309, Fax: 998374

Η αξιοπιστία της εκτίμησης της βιομάζας των εμπορικών ειδών ψαριών με βάση την παραγωγή των αυγών, εξαρτάται άμεσα από την ακριβή ταυτοποίηση του είδους από τα αρχικά στάδια ανάπτυξης των αυγών. Αν και το *M. scolopax* (κοινό όνομα: τρομπέτα, οικογένεια: Centriscidae) δεν ανήκει στα εμπορικά είδη ψαριών, αλληλοεπικαλύπτεται με τα τρία είδη σαυριδίων (*Trachurus. trachurus*, *T. mediterraneus* και *T. picturatus*) στη Μεσόγειο και έχει αυγά όμοια με τα αυγά των σαυριδίων. Για το λόγο αυτό, αναπτύχθηκε γενετική μεθοδολογία που επιτρέπει τη διάκριση-ταυτοποίηση αυγών της τρομπέτας σε σχέση με τα αυγά των σαυριδίων. Η πρωτοταγής δομή προσδιορίστηκε για ένα τμήμα του γονιδίου 16S rRNA σε δείγματα *M. scolopax* που καλύπτουν μεγάλο εύρος της εξάπλωσης του είδους. Από τη σύγκριση των ακολουθιών του *M. scolopax* και των ειδών *Trachurus*, δύο ένζυμα περιορισμού βρέθηκαν ικανά να ταυτοποιούν και να διακρίνουν το είδος *M. scolopax*. Η έλλειψη ενδο-ειδικού πολυμορφισμού επιβεβαιώθηκε με την ανάλυση 85 δειγμάτων για κάθε ένζυμο επιβεβαιώνοντας έτσι την καθολικότητα της μεθοδολογίας PCR-RFLP. Επιπλέον, το γονίδιο 5S rRNA που εμφανίζεται στο γονιδίωμα με τη μορφή πολλαπλών αντιγράφων αποδείχθηκε ικανό για την ταυτοποίηση του *M. scolopax*. Απλή ενίσχυση του γονιδίου και έλεγχος σε πηκτική αгарόζης μπορεί να οδηγήσει στην αξιόπιστη διάκριση του από τα είδη του γένους *Trachurus*. Η χρησιμότητα της μεθοδολογίας εκτιμήθηκε με την ανάλυση μορφολογικά ταυτοποιημένων αυγών του είδους *M. scolopax*. Το πρότυπο που προέκυψε από πέψη του γονιδίου 16S rRNA με τα προαναφερθέντα ένζυμα επιβεβαίωσε τα αποτελέσματα της μορφολογικής ταυτοποίησης των αυγών του είδους *M. scolopax*.

Το πρόγραμμα χρηματοδοτήθηκε από την Ε.Ε.: QLKS-CT 1999-01157

GENETIC IDENTIFICATION OF EGGS OF *M. Scolopax* (Pisces, Centriscidae)

Karaiscou N., Triantafyllidis A., Margaroni M., Karatzas D. & C. Triantaphyllidis*

Dept of Genetics, Development and Molecular Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Macedonia, Greece

*E-mail: triant@bio.auth.gr, Tel: 2310-998309, Fax: 2310-998374

The reliability of stock biomass assessment of commercially important fishes using egg production methods relies upon the accurate identification of species even from the early stages of eggs. Although *M. scolopax* (Centriscidae) is not a commercially important fish species, it overlaps significantly with three *Trachurus* species (*T. trachurus*, *T. mediterraneus* and *T. picturatus*) in southern European waters and has eggs similar to horse-mackerel eggs. For this reason and in the context of the European Union funded programme "MARINEGGS", genetic methodology of identifying eggs similar to horse mackerel eggs was developed. Sequence analysis of a segment at the 5' end of 16S rRNA was determined for individuals of *M. scolopax* from different geographical areas. In searching for different restriction sites that could generate species-specific restriction patterns, two restriction enzymes were found to be cheap and potentially useful for the identification of *M. scolopax*. The absence of intraspecific variability was confirmed by analysing 85 individuals for each restriction enzyme revealing the universality of the PCR-RFLP method. Additionally, the multi-copy 5S rRNA gene seems equally important to identify *M. scolopax* samples and to discriminate them from *Trachurus* species. A simple amplification of the gene and an agarose electrophoresis can lead to unambiguous identification to species. The utility of the developed methodology was assessed by testing morphologically identified *M. scolopax* eggs. Digestion of the amplified 16S rRNA gene with the two enzymes confirm the result of the morphological identification of *M. scolopax* eggs.

This program is financed by the EU: QLKS-CT 1999-01157

ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΘΕΣΕΩΝ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΟΥ ΣΕ ΣΤΕΛΕΧΗ ΠΟΛΙΟΙΩΝ ΕΜΒΟΛΙΑΚΗΣ ΠΡΟΕΛΥΣΗΣ ΑΠΟ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΥΓΙΕΙΣ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΕΝΟΥΣ

Καρακασιλιώτης Ι.^{1,2}, Μαρκουλάτος Π.³, Κατσώρχης Θ.²

¹Εθνικό Κέντρο Αναφοράς Εντεροϊών, Εργ. Ιολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Βασ. Σοφίας 127, Αθήνα 11521. ²Τομέας Βιολ. Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 15784, ³Εργ. Μικροβιολογίας-Ιολογίας, Τμ. Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Παν/μιο Θεσσαλίας

Οι ανασυνδυασμοί στους πολιοϊούς είναι ένα αρκετά συχνό φαινόμενο που παρατηρείται ιδιαίτερα στα στελέχη του εμβολίου (Sabin). Ανασυνδυασμένα στελέχη έχουν βρεθεί στο 50% των περιπτώσεων Εμβολιοσυνδεόμενης Παραλυτικής πολιομυελίτιδας (VAPP) αναδεικνύοντας το φαινόμενο σε μείζον ζήτημα δημόσιας υγείας. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 12 στελέχη πολιοϊών που απομονώθηκαν μετά από χρήση του εμβολίου (OPV) από ασθενείς με VAPP, μηνιγγίτιδα και άλλες ασθένειες όπως και από υγιείς λήπτες του εμβολίου. Αρχικά έγινε εντοπισμός των ανασυνδυασμένων στελεχών με τη βοήθεια της μεθόδου RT-PCR-RFLP, ενώ στη συνέχεια ακολούθησε η αλληλούχηση των ύποπτων προς ανασυνδυασμό τμημάτων. Οι περιοχές του γονιδιώματος που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η 5' UTR, η VP3-VPI, η 2C και η 3C-D. Οι ακριβείς θέσεις ανασυνδυασμού βρέθηκαν με στοίχιση των αλληλουχιών των παραπάνω περιοχών με τις αντίστοιχες περιοχές των προτύπων στελεχών Sabin (1,2 και 3). Από τα 12 κλινικά στελέχη που μελετήθηκαν τέσσερα βρέθηκαν ανασυνδυασμένα σε μία ή περισσότερες περιοχές. Δύο ανασυνδυασμένα στελέχη είχαν ανασυνδυασμό τύπου S2/S1 (δηλαδή ανασυνδυασμό στον οποίο αλληλουχία από το στέλεχος Sabin 2 ακολουθείται από αλληλουχία που ανήκει σε στέλεχος Sabin 1) και εντοπίζεται και στα δύο στην περιοχή 3C-D, ένα στέλεχος είχε ανασυνδυασμό τύπου S3/S2 που εντοπίστηκε στην περιοχή 2C και τέλος ένα στέλεχος βρέθηκε διπλά ανασυνδυασμένο με τύπο ανασυνδυασμού S3/S2/S1 με τις θέσεις ανασυνδυασμού να εντοπίζονται: S3/S2 στην 2C περιοχή, S2/S1 στην 3C-D. Τα αποτελέσματα αυτά συγκρίθηκαν με αποτελέσματα αντίστοιχων μελετών κι επιβεβαιώθηκε η άποψη της επιλογής των S3/S2 ανασυνδυασμών στην 2C περιοχή και των S2/S1 στην 3C-D. Η παρατήρηση πως οι S2/S1 ανασυνδυασμοί εντοπίζονται ως επί το πλείστον στην 3C-D περιοχή σε συνδυασμό με την παρατήρηση πως οι 3D πρωτεΐνες των τριών στελεχών Sabin έχουν σχεδόν πανομοιότυπη αμινοξική σύσταση μας οδήγησε στην υπόθεση πως το επίπεδο στο οποίο γίνεται η επιλογή ίσως είναι αυτό της δευτεροταγούς δομής του RNA. Αυτό σημαίνει πως υπάρχει ανάγκη συνεργασίας τμημάτων RNA για τη δημιουργία λειτουργικής δευτεροταγούς δομής και πως αν οι αλληλουχίες που συνενώνονται σε έναν ανασυνδυασμό δεν συνεργάζονται οδηγούν σε μη βιώσιμο γονιδίωμα.

Βιβλιογραφία:

1. Site analysis of recombinant and mutant poliovirus isolates of Sabin origin from patients and from vaccinees. *Mol Cell Probes*. 2004, **18(2)**: 103-9.

SITE ANALYSIS OF THE RECOMBINATIONS IN VACCINE-DERIVED POLIOVIRUSES FROM PATIENTS AND HEALTHY VACCINEES

Karakasiliotis I.^{1,2}, Markoulatos P.³, Katsorchis Th.²

¹National Enterovirus Reference Center, Virology Lab., Hellenic Pasteur Institute, Vas. Sofias 127, Athens 11521. ²Faculty of Cell Biology and Biophysics, Biology Department, University of Athens

³Microbiology-Virology Lab., Dept of Biochemistry and Iotechnology, University of Thessaly

The recombinations in polioviruses are a very frequent phenomenon observed especially in the vaccine strains (Sabin). Recombinant strains have been identified in 50% of the Vaccine-Associated-Paralytic Poliomyelitis (VAPP) cases raising the phenomenon as a major Public Health issue. In the present study, 12 strains isolated from patients with VAPP, meningitis and other diseases after OPV administration and from healthy vaccinees were investigated. The recombinant strains were identified through RT-PCR-RFLP methods and the sequences found to have potential recombinations were sequenced. The regions of the genome used were the 5'UTR, VP3-VPI, 2C and 3C-D. The exact recombination sites were found through alignment with the respective regions of the reference Sabin strains (1,2 and 3). Four of the 12 included strains were recombinant in one or more regions. Two of the recombinant strains had an S2/S1 recombination (meaning that a Sabin type 2 sequence is followed by a Sabin type 1 sequence), localized in 3C-D region, one strain had an S3/S2 recombination localized in 2C and finally a birecombinant strain was identified having an S3/S2/S1 recombination type, with the two recombinations localized in 2C and 3D regions, respectively. These results confirmed the observation that there is a selection of the S3/S2 recombinations in 2C region whereas the S2/S1 are preferred in 3C-D region. The observation that the S2/S1 recombinations are preferentially localized in 3C-D region along with the observation that the 3D proteins of the three Sabin strains are nearly identical lead as to the hypothesis that the level into which the selection occurs is that of the RNA secondary structure. This means that there must be cooperation between the joined sequences during a recombination for the formation of a functional secondary structure and that if the two sequences can't cooperate the recombination leads to a non-viable genome.

Reference:

1. Site analysis of recombinant and mutant poliovirus isolates of Sabin origin from patients and from vaccinees. *Mol Cell Probes*. 2004, **18(2)**: 103-9.

**ΒΛΑΒΕΣ ΚΑΙ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ ΣΤΟ DNA ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ
ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ****Καρανασάση Γ.^{1,2}, Αναγνωστάκης Ν.^{1,2}, Μεσσήνη-Νικολάκη Ν.²,
Γουργουλιάνης Κ.³, Χρίστου Κ.³, Τσιλιμιγκάκη Σ.¹ και Σ.Μ. Πιπεράκης¹**

¹Εργ. Επιδιορθωτικών Μηχανισμών DNA, Ινστ. Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος, Αθήνα.
²Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 15784, Αθήνα
³Πνευμονολογική Κλινική, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα.

Στη εργασία αυτή μελετήσαμε την ευαισθησία λεμφοκυττάρων ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα στην επίδραση του H₂O₂ και της γ-ακτινοβολίας καθώς και την επιδιορθωτική τους ικανότητα. Με την τεχνική του “comet assay” υπολογίσαμε το ποσοστό των βλαβών στο DNA και την επιδιόρθωση στην παραπάνω ομάδα συγκρίνοντας την με φυσιολογικούς πληθυσμούς. Επιπλέον προσδιορίσαμε τον αριθμό των νεκρωτικών και των αποπτωτικών κυττάρων. Τα αποτελέσματα μας έδειξαν μειωμένη επιδιορθωτική ικανότητα στις βλάβες του DNA σε άτομα που πάσχουν από καρκίνο του πνεύμονα. Αντίθετα η απόπτωση βρέθηκε αυξημένη.

**ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΣΕ ΒΛΑΒΕΣ ΚΑΙ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ DNA,
ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΚΑΙ ΝΕΚΡΩΣΗ ΣΕ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ ΑΠΟ ΠΑΙΔΙΑ ΚΑΙ
ΕΝΗΛΙΚΕΣ****Καρανασάση Γ.^{1,2}, Αναγνωστάκης Ν.^{1,2}, Μεσσήνη-Νικολάκη Ν.²,
Γαζελούλου Ε.³, Τσιλιμιγκάκη Σ.¹ και Σ.Μ. Πιπεράκης¹**

¹Εργ. Επιδιορθωτικών Μηχανισμών DNA, Ινστ. Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος, Αθήνα.
²Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 15784, Αθήνα ³Τμήμα Ινοκυστικής,
Νοσοκομείο Αγία Σοφία, Αθήνα

Καθημερινά όλοι μας εκτιθέμεθα σε σωρεία γενοτοξικών παραγόντων. Τα παιδιά τα οποία βρίσκονται στο στάδιο ανάπτυξης είναι πιο ευπαθή στους περιβαλλοντικούς αυτούς παράγοντες.

Στη μελέτη αυτή με την χρήση του comet assay μετρήσαμε:

1. Την ενδογενή βλάβη που υπάρχει στο DNA δύο πληθυσμών, εκ των οποίων ο ένας αποτελείται από παιδιά (1-5 ετών) και ο άλλος από ενήλικες (40-50 ετών).
2. Την ευαισθησία των πληθυσμών αυτών στην επίδραση H₂O₂ και γ- ακτινοβολίας.
3. Την επιδιορθωτική ικανότητα των παραπάνω πληθυσμών.
4. Το ποσό των αποπτωτικών και νεκρωτικών κυττάρων στους ίδιους πληθυσμούς.

Τα αποτελέσματα μας έδειξαν ότι:

1. Το ποσό της ενδογενούς βλάβης είναι μικρότερη στα παιδιά.
2. Η ευαισθησία των δύο πληθυσμών στους εξωγενείς παράγοντες είναι διαφορετική.
3. Η επιδιορθωτική ικανότητα είναι ποιο αποτελεσματική στα παιδιά.
4. Η απόπτωσης είναι μικρότερη στο πληθυσμό των παιδιών ενώ η νέκρωση είναι η ίδια και στους δύο πληθυσμούς.

DNA DAMAGE AND REPAIR IN LYMPHOCYTES FROM LUNG CANCER PATIENTS

**Karanastasi G.^{1,2}, Anagnostakis N.^{1,2}, Messini-Nikolaki N.², Gourgoulialis K.³,
Christou K.³, Tsilimigaki S.¹ & S.M. Piperakis¹**

¹DNA Repair Lab., Inst. of Biology, NCSR Democritos, Aghia Paraskevi, Athens, Greece

²Department of Cell Biology, Faculty of Biology, University of Athens, Athens, Greece

³Palmonary Department, University of Thessaly, Larissa, Greece

In this study we examined the effects of H₂O₂ and γ -irradiation in lymphocytes from lung cancer patients in comparison to healthy individuals. With the comet assay technique we estimated the DNA damage and the repair capacity of the above populations. We also estimated apoptosis and necrosis in these populations. Our results indicate that lung cancer patients have a reduced DNA repair capacity. Apoptosis was found however to increase in lung cancer patients if compared to healthy individuals.

DNA SENSITIVITY AND REPAIR EFFICIENCY, APOPTOSIS AND NECROSIS IN LYMPHOCYTES FROM CHILD AND ADULT POPULATIONS

**Karanastasi G.^{1,2}, Anagnostakis N.^{1,2}, Messini-Nikolaki N.², Gazelopoulou I.³,
Tsilimigaki S.¹ & S. M. Piperakis¹**

¹DNA Repair Lab., Inst. of Biology, NCSR "Democritos", Aghia Paraskevi, Athens, Greece.

²Department of Cell Biology, Faculty of Biology, University of Athens, Athens, Greece

³Department of Cystic Fibrosis, Aghia Sophia Hospital, Athens, Greece.

In everyday life people get exposed to many genotoxic agents. Children are in a dynamic state of growth, and are therefore more susceptible to environmental threats than adults.

Our study, using the comet assay, investigated:

1. The amount of endogenous DNA damage in human lymphocytes of child (1-5 years old) and adult (40-50 years old) populations.
2. The sensitivity of their lymphocytes to the exposure of increased concentrations of γ -irradiation and H₂O₂.
3. The DNA repair efficiency of these two populations, and finally,
4. The apoptosis and necrosis in the same populations.

Our results indicate that:

1. Endogenous DNA damage is smaller in the child than the adult population.
2. A difference was found in the sensitivity of child and adult lymphocytes after been exposed to γ -irradiation or H₂O₂.
3. DNA repair was more efficient in the child than the adult population, and finally,
4. The apoptotic cells appear to be less in the child than the adult population while the number of necrotic cells seems to be the same.

**ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΔΥΟ
ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΩΝ ΜΕΛΩΝ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ ΜΕΤΑ-ΦΟΡΕΩΝ
ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΚΩΝ ΒΑΣΕΩΝ – ΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ (NAT
TRANSPORTERS)****Καρατζά Π. και Ε. Φριλίγγος**

Εργ. Βιολογικής Χημείας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα 45110

Οι μεταφορείς NAT αποτελούν μια εξελικτικά συντηρημένη οικογένεια πρωτεϊνών διαμεμβρανικής μεταφοράς που χρησιμοποιούν ως υπόστρωμα πουρίνες ή πυριμιδίνες. Οι μεταφορείς της οικογένειας αυτής παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον διότι (α) δομικά ανάλογα των φυσιολογικών τους υποστρωμάτων χρησιμοποιούνται ως φάρμακα και (β) στην ίδια οικογένεια ανήκουν οι μεταφορείς ασκορβικού οξέος (βιταμίνης C) SVCT-1 και SVCT-2 των θηλαστικών. Το καλύτερα μελετημένο μέλος της οικογένειας NAT είναι η πρωτεΐνη UapA, ένας εξειδικευμένος μεταφορέας ουρικού οξέος και ξανθίνης στον ασκομύκητα *Aspergillus nidulans*. Στόχος μας ήταν να χαρακτηρίσουμε δύο βακτηριακά ομόλογα της UapA, τα οποία εμφανίζουν μεγάλη συντήρηση αλληλουχίας προς αυτή (30% ταυτότητα καταλοίπων). Πρόκειται για τα γονίδια *Ygfo* και *Yice*, οι αλληλουχίες των οποίων προέκυψαν από την ανάλυση γονιδιώματος της *E. coli* K-12. Δημιουργήθηκαν κατάλληλα βακτηριακά στελέχη *E. coli* με υπερέκφραση των *Ygfo* και *Yice* εξωχρωμοσωμικά, μέσω του επαγόμενου συστήματος του υποκινητή του οπερονίου λακτόζης (*lacZ* p/o) σε μορφή όπου το καρβοξυτελικό τους άκρο να περιέχει κατάλληλο επίτοπο για παρακολούθηση των επιπέδων έκφρασης με ανοσοαποτύπωση. Τα στελέχη αυτά στη συνέχεια χαρακτηρίστηκαν λειτουργικά ως προς την ενεργότητα πρόσληψης ξανθίνης και άλλων πιθανών υποστρωμάτων (υποξανθίνη, ουρακίλη, ουρικό) με την κλασική δοκιμασία μέτρησης διαμεμβρανικής μεταφοράς μικρομορίων με ταχεία διήθηση (rapid filtration assay). Οι πρωτεΐνες *Ygfo* και *Yice* εδείχθη ότι εκφράζονται στη μεμβράνη της *E. coli* και ότι λειτουργούν ως εξειδικευμένοι, υψηλής συγγένειας (K_m περί τα 8-10 μ M), μεταφορείς ξανθίνης ενώ δεν μεταφέρουν υποξανθίνη, ουρικό οξύ ή ουρακίλη. Η αδυναμία μεταφοράς ουρικού διακρίνει σαφώς τις βακτηριακές *Ygfo* και *Yice* από τις ομόλογες UapA και UapC του *A. nidulans*.

CLONING AND FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF TWO BACTERIAL HOMOLOGS OF THE NUCLEOBASE-ASCORBATE TRANSPORTER (NAT) FAMILY

Karatza P. & S. Frillingos

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

Nucleobase-ascorbate transporters (NAT) encompass an evolutionarily conserved family of secondary active transporters with special interest, because (a) their substrate analogs include drugs, such as allopurinol or 5-fluoro-uracil, (b) they are homologous to the mammalian ascorbate (vitamin C) transporters SVCT-1 and SVCT-2. To date, the best-studied member of NAT family is UapA, a high-affinity xanthine/uric acid transporter from the ascomycote *Aspergillus nidulans*. Our research aims at characterizing two bacterial NAT homologs, that are most closely related to UapA (~30% identity of residues); these homologs derive from the whole genome analysis of *E. coli* K-12 and correspond to genes *Ygfo* and *Yice*. *Ygfo* and *Yice* were cloned from the genome, engineered with a carboxyl-terminal epitope to allow immunoblotting, and overexpressed extrachromosomally under control of an IPTG-inducible promoter (*lacZ* p/o) to establish new strains of *E. coli*. These *Ygfo*⁺ and *Yice*⁺ strains were assayed for uptake of xanthine and a number of other nucleobases, using the method of rapid filtration. It was shown that the gene products Ygfo and Yice are expressed in the inner plasma membrane of *E. coli* and function as specific, high-affinity transporters for xanthine (K_m of about 8-10 μ M); neither Ygfo nor Yice transports uracil, hypoxanthine, or uric acid. Strikingly, inability to uptake uric acid makes a clear distinction between the NAT transporters of *E. coli* (Ygfo or Yice) and the NAT transporters of *A. nidulans* (UapA or UapC).

ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΟΥ ΒΑΤΡΑΧΟΨΑΡΟΥ (*Halobatrachus didactylus* Schn., 1801), ΣΤΙΣ ΑΚΤΕΣ ΤΗΣ Δ. ΕΛΛΑΔΟΣ**Κασπίρης Π.**

Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, Πάτρα

Το Δεκέμβριο του 2002 ένα άτομο του είδους *Halobatrachus didactylus* Schn, 1801, αλιεύτηκε με δίχτυα βόρεια των εκβολών του Αχελώου, πλησίον των Εχινάδων νήσων σε βάθος 30 περίπου μέτρων. Το είδος αυτό είναι γνωστό και αλιεύεται αρκετά συχνά στη δυτική λεκάνη της Μεσογείου και ειδικότερα στις Πορτογαλικές ακτές. Λίγες αναφορές υπάρχουν για την εμφάνισή του στα Ιταλικά ύδατα ενώ την παρουσία του στις Ελληνικές θάλασσες αναφέρουν στους καταλόγους της ελληνικής ιχθυοπανίδας οι κ. Ι. Όντριας, 1971, Π. Οικονομίδης, 1973 και Γ. Παπακωνσταντίνου 1988. Πηγή των πληροφοριών μέχρι σήμερα αποτελούσε μια αναφορά του Belloc 1948 περί της ανευρέσεως του είδους στην αγορά της Κέρκυρας χωρίς να δίδονται στοιχεία προέλευσης του ατόμου. Η ανεύρεση του είδους στις δυτικές παράκτιες περιοχές της Δ. Ελλάδος επιβεβαιώνει την παρουσία του στα ελληνικά ύδατα, ενώ οι έμπειροι ψαράδες της περιοχής υποστηρίζουν ότι για πρώτη φορά συναντούν αυτό το είδους ψαριού.

PRESENCE OF TOADFISH (*Halobatrachus didactylus* Schn; 1801) ON THE COAST OF WESTERN GREECE**Kaspiris Panayiotis**

Department of Biology, University of Patras, Patras, Greece

In December 2002, a female specimen of the species *Halobatrachus didactylus* Schn; 1801, was captured with nets, north of the estuaries of the Achelooos River, close to Echinades Islands and in a depth of about 30 meters. The species is common and fished out quite often in the western Mediterranean basin, especially next to the Portuguese coasts. There are some reports about its' presence in the Italian waters and its' presence in the Greek waters is recorded in the catalogues of the Greek fish fauna by Ondrias (1971), Economides (1973) and Papaconstantinou (1988). The source of those records was until today, a reference made by Belloc in 1948. Belloc reported the presence of a specimen in the fish market of Corfu but gave no information about its origin. The recovery of the species in the western coastal waters of W. Greece, verifies its presence in the Greek seas, even if local and experienced fishermen had their first encounter with the species.

Το CD-ROM αυτό αποτελεί τον πρώτο ελληνικό ηλεκτρονικό οδηγό των Θηλαστικών της Ελλάδας και το πρώτο μέρος από τη προσπάθεια παρουσίασης με την τεχνολογία των πολυμέσων της φυσικής μας κληρονομιάς.

Επιστημονική επιμέλεια:
Δρ. Ευστράτιος Δ. Βαλάκος, Επίκουρος Καθηγητής, τομέας φυσιολογίας ζώων και ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστημίου Αθηνών
Αφήγηση:
Αλέξης Κωστάλας

Αγγλικό-Ελληνικό-Αγγλικό
ΧΡΥΣΗ ΕΚΔΟΣΗ

Αγγλικό-Ελληνικό-Αγγλικό
ΒΑΣΙΚΗ ΕΚΔΟΣΗ

Γερμανικό-Ελληνικό-Γερμανικό

Ιταλικό-Ελληνικό-Ιταλικό

Γαλλικό-Ελληνικό-Γαλλικό

Αγγλικό-Ελληνικό-Αγγλικό όρων
Ιατρικής-Βιολογίας

Αρχαία-Νέα-Αρχαία Ελληνικά

Ελληνικό Ερμηνευτικό-Εγκυκλοπαιδικό

Γραμματοσειρές
Unicode No 1

Γραμματοσειρές
Unicode No 2

Γραμματοσειρές
Unicode No 3

Γραμματοσειρές
Unicode No 4

MATZENTA
Εμμ. Μπενάκη 59 - 106 81 Αθήνα
Τηλ.: 801 11 711711 - Φαξ: 210 3891861
www.magenta.gr - info@magenta.gr

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΤΑ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΑ
ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ ΤΩΝ MAPKs ΚΑΙ NFκB ΣΕ ΣΚΕΛΕΤΙΚΟΥΣ
ΜΥΟΒΛΑΣΤΕΣ****Κεφαλογιάννη Ε., Χατζοπούλου Α., Γαϊτανάκη Κ., Μπέης Ι.**Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 15784, Αθήνα

Μελετήθηκε η επίδραση οξειδωτικών παραγόντων στην ενεργοποίηση των σηματοδοτικών μονοπατιών των MAPKs και του NFκB, καθώς και η πιθανή αλληλεπίδρασή τους, σε σκελετικούς μυοβλάστες. Βρέθηκε ότι 1mM H₂O₂ ενεργοποιεί την p38-MAPK (~2 φορές σε σχέση με το μάρτυρα) καθώς και τις ERKs (~2,8 φορές). Η ενεργοποίηση αυτή εξαρτάται από τη συγκέντρωση και μεγιστοποιείται στα 10 mM H₂O₂ (έως 8,8 φορές για την p38-MAPK και 12,2 και 20 φορές για τις p42- και p44-ERK, αντίστοιχα). Μέγιστη ενεργοποίηση σημειώνεται μετά από 5 λεπτά στην περίπτωση της p38-MAPK και μετά από 15 λεπτά για τις ERKs. Εξέταση της υποκυτταρικής κατανομής των κινασών αυτών έδειξε ότι η φωσφορυλιωμένη τους μορφή εντοπίζεται κυρίως στο κυτταρόπλασμα και λιγότερο στον πυρήνα. Παρουσία ασκορβικού οξέος, ως αντιοξειδωτικού παράγοντα, παρατηρήθηκε μείωση της επαγόμενης από H₂O₂ ενεργοποίησης των MAPKs. Με τη χρησιμοποίηση ενός δότη ριζών μονοξειδίου του αζώτου (SNAP) παρατηρήθηκε μικρότερη (έως ~1,7 φορές), δοσο-εξαρτώμενη ενεργοποίηση της p38-MAPK, ενώ δεν σημειώθηκε ενεργοποίηση των ERKs. Καθώς υπάρχουν ενδείξεις ότι η ενεργοποίηση των MAPKs από το οξειδωτικό στρες μπορεί να οδηγεί σε απόπτωση μέσω του μονοπατιού των κασπασών, εξετάστηκε η ενεργοποίηση της κασπάσης 3 από το H₂O₂. Δεν παρατηρήθηκε πρωτεολυτική διάσπαση της κασπάσης 3 ακόμη και μετά από 24 ώρες επίδρασης. Η φωσφορυλιωμένη p65 υπομονάδα του NFκB εντοπίζεται στον πυρήνα, όπου μεγιστοποιείται μετά από επίδραση 1mM H₂O₂, ενώ παρατηρείται μείωσή της σε υψηλότερες συγκεντρώσεις του οξειδωτικού παράγοντα. Ο IκB, κυτταροπλασματικός αναστολέας του NFκB, βρέθηκε ότι επίσης φωσφορυλιώνεται μετά από επίδραση H₂O₂. Προκαταρκτικά πειράματα με τη χρησιμοποίηση ειδικών αναστολέων της p38-MAPK (SB203580) και των ERKs (PD098059) υποδηλώνουν ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των σηματοδοτικών μονοπατιών των MAPKs και του NFκB.

Η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από την Γ.Γ.Ε.Τ. (ΠΕΝΕΔ 01ΕΔ5)

THE EFFECT OF OXIDATIVE STRESS ON THE MAPKs AND NFκB SIGNALLING PATHWAYS IN SKELETAL MYOBLASTS

Kefaloyianni E., Hatzopoulou A., Gaitanaki C., Beis I.

Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, National & Kapodistrian
University of Athens, Panepistimiopolis 157 84, Zografou, Athens Greece

We have studied the effect of two oxidative factors on the activation of the MAPKs and NFκB signalling pathways, as well as their possible interactions, in skeletal myoblasts. 1mM H₂O₂ activates both the p38-MAPK (~2-fold relative to control) and the ERKs (~ 2.8-fold). This activation is enhanced by increasing concentrations (up to 10 mM) of H₂O₂ (up to 8-fold for p38-MAPK and up to 12.2- and 20- fold for the p42- and p44- ERK, respectively). Maximal activation of p38-MAPK is observed after 5 min and the one of ERKs after 15 min of treatment. The activated forms of these kinases are mainly localised in the cytoplasm rather than the nucleus. Using ascorbic acid as an antioxidant reagent, the H₂O₂ induced activation of the MAPKs was decreased. Treatment with SNAP (a NO-donor) led to a modest (1.7-fold) dose-dependent activation of the p38-MAPK, whereas there was no activation of ERKs. There are indications that the activation of MAPKs by oxidative stress may induce apoptosis through the caspase pathway. Therefore, the activation of caspase 3 was examined. Even after 24 hours treatment with H₂O₂ the caspase 3 proteolytic cleavage was not observed. The phosphorylated form of the p65 subunit of NFκB was localised in the nucleus. 1mM H₂O₂ maximises the level of this form in the nucleus. H₂O₂ also increases the phosphorylation (and thus the inactivation) of IκB, the cytoplasmic inhibitor of NFκB. Preliminary experiments, where the specific inhibitors of p38-MAPK (SB203580) and ERKs (PD098059) were used, indicate that there is cross-talk between the signalling pathways of the MAPKs and NFκB.

This work was supported by a grant from the G.S.R.T. (PENED 01ED5)

**ΒΙΟΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ^{137}Cs ΣΕ ΚΑΡΠΟΦΟΡΟΥΣ ΒΑΣΙΔΙΟΜΥΚΗΤΩΝ
ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ****Κιούπη Β.¹, Φλώρου Ε.², Γκόνου-Ζάγκου Ζ.¹ και Ε. Καψανάκη-Γκότση¹**¹Τομέας Οικολογίας & Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 15784, Αθήνα²ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», Ινστιτούτο Πυρηνικής τεχνολογίας-Ακτινοπροστασίας,
Εργαστήριο Ραδιενέργειας Περιβάλλοντος, Αγία Παρασκευή 153 10 Αττική.

Οι μακρομύκητες έχουν την ικανότητα να βιοσυσσωρεύουν το τεχνητό ραδιονουκλίδιο ^{137}Cs , όπως έχει βρεθεί από μελέτες σε διάφορες χώρες ιδίως μετά τη ραδιενεργό επιβάρυνση του περιβάλλοντος από το ατύχημα του Chernobyl. Η έρευνα στον Ελλαδικό χώρο άρχισε το 2000 από το Πανεπιστήμιο Αθηνών σε συνεργασία με το ΕΚΕΦΕ «Δ».

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η βιοσυσσώρευση του ^{137}Cs σε είδη Βασιδιομυκήτων της Ελλάδας. Συλλέχθηκαν 32 δείγματα βασιδιοκαρπιών από περιοχές κυρίως της κεντρικής Ελλάδας, τα οποία ανήκουν σε 30 είδη Βασιδιομυκήτων. Μετά από κατάλληλη επεξεργασία του υλικού, μετρήθηκε η συγκέντρωση ^{137}Cs τόσο στα βασιδιοκάρπια όσο και σε δείγματα χώματος από κάθε περιοχή, με το σύστημα γ-φασματομετρίας.

Παρατηρήθηκε ευρεία διακύμανση τόσο στη συγκέντρωση του ^{137}Cs από ≤ 0.1 (όριο ανίχνευσης συστήματος) έως 87,2 Bq/kg νωπού βάρους, όσο και στους παράγοντες μεταφοράς (TF) του ^{137}Cs που κυμαίνονται από 0,0005 έως 0,2780. Τη μεγαλύτερη βιοσυσσώρευση ^{137}Cs εμφανίζουν οι Βασιδιομύκητες *Ramaria* sp., *Hydnellum conrescens* και *Russula delica*. Από την ανάλυση των δεδομένων διαπιστώνεται ότι ο κύριος παράγοντας που καθορίζει τη βιοσυσσώρευση του ^{137}Cs , είναι το είδος του Βασιδιομύκητα. Από οικολογική άποψη παρουσιάζει ενδιαφέρον ότι οι μυκορριζικοί Βασιδιομύκητες έχουν υψηλότερους TF του ^{137}Cs σε σχέση με τους σαπροτροφικούς της ίδιας περιοχής. Η αξιολόγηση των δεδομένων αυτών επιτρέπει την επιλογή ειδών Βασιδιομυκήτων ως βιοδεικτών για την ανίχνευση ραδιενεργού ρύπανσης από ^{137}Cs .

BIOACCUMULATION OF ¹³⁷Cs IN FRUITBODIES OF BASIDIOMYCETES IN GREECE

Kioupi V.¹, Florou E.², Gonou-Zagou Z.¹ & E. Kapsanaki-Gotsi¹

¹ Department of Ecology & Systematics, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimioupolis, GR-157 84 Athens

² NCSR "Demokritos", Institute of Nuclear Technology – Radiation Protection, Environmental Radioactivity Laboratory, Aghia Paraskevi 153 10 Attiki

Macromycetes have the ability to accumulate the artificial radionuclide ¹³⁷Cs, as it has been found from studies in several countries, especially after the Chernobyl accident. A few data are available from Greece. In this study, the accumulation of ¹³⁷Cs in several species of Basidiomycetes from Greece is presented. A total of 32 specimens were collected, mainly from central Greece, which represent 30 species of Basidiomycetes. After appropriate treatment of the samples, the concentrations of ¹³⁷Cs were measured in the fruitbodies and in the soil samples collected from each site as well, in a HpGe γ -spectrometry system.

The ¹³⁷Cs concentrations range from ≤ 0.1 (system detection limit) to 87,2 Bq/kg fresh weight and the Transfer Factors (TF) for ¹³⁷Cs range from 0,0005 to 0,2780. Higher accumulation of ¹³⁷Cs was detected in the Basidiomycetes *Ramaria* sp., *Hydnellum concrescens* and *Russula delica*. Evidence of species specific bioaccumulation of ¹³⁷Cs is strongly supported by the analyses of data. It is also noteworthy that concerning the same region, the mycorrhizal Basidiomycetes have higher TFs for ¹³⁷Cs compared to the saprotrophic ones. Consequently, Basidiomycetes could be used as bioindicators for early detection of ¹³⁷Cs radioactive pollution.

**ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΟΞΕΙΑΣ ΦΑΣΗΣ ΚΑΙ Η ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥΣ ΩΣ
ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΕΚΡΟΗΣ
ΤΟΥ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΥ ΑΣΤΙΚΩΝ ΛΥΜΑΤΩΝ****Κοντάνα Α., Περούλης Ν., Κουρελής Α., Σαμαράς Π.¹ και Μ. Γιάγκου**Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ.
¹Τμήμα Τεχνολογίας Αντιρύπανσης ΤΕΙ Δυτικής Μακεδονίας

Η βιοπαρακολούθηση της απόδοσης του βιολογικού καθαρισμού αστικών λυμάτων με τη χρησιμοποίηση ανώτερων οργανισμών είναι ελάχιστα μελετημένος. Όλοι οι ανώτεροι οργανισμοί διαθέτουν φυσικούς μηχανισμούς άμυνας που έχουν ως στόχο την επαναφορά του οργανισμού στην αρχική ομοιόσταση. Η πρωτεΐνες οξείας φάσης (APR) επάγονται ως ενεργοποίηση σε διάφορους φυσικούς ή χημικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες stress όπως οι λοιμώξεις, τα βαριά μέταλλα και η θερμοπληξία με τη μεσολάβηση διαφορετικών ρυθμιστικών μηχανισμών. Προσδιορίστηκαν τα επίπεδα των APR της αΙ-όξινης γλυκοπρωτεΐνης (AGP) και της αΙ-αντιτρυψίνης (AT) στον ορό αρουραίων οι οποίοι έπιναν για δύο εβδομάδες νερό που είχε υποστεί πλήρη δευτεροβάθμια επεξεργασία και είχαν συγκεκριμένα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά. Τα αποτελέσματα έδειξαν σταδιακή αύξηση των επιπέδων των APR της AGP στον ορό των αρουραίων ενώ της AT ήταν σταθερά. Επιπλέον, τα επίπεδα της αλβουμίνης η οποία μειώνεται κατά την κλασική APR βρέθηκαν να αυξάνονται σημαντικά. Τα επίπεδα των πρωτεϊνών αυτών στον ορό μειώνονται σημαντικά όταν στους αρουραίους χορηγηθεί νερό το οποίο διηθήθηκε από απλούς ηθμούς. Οι αρουραίοι δεν έδειξαν φαινόμενα υπερλιπιδαιμίας αφού τα επίπεδα της χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων ήταν ανεπηρέαστα. Τα παραπάνω αποτελέσματα δείχνουν ότι τα αστικά λύματα επάγουν τις κάποιες APRs μέσω κάποιου μηχανισμού ο οποίος είναι ανεξάρτητος από τυχόν λοιμώξεις και την έκκριση κυτοκινών και προσομοιάζει με το μηχανισμό ενεργοποίησης από τα βαριά μέταλλα ή το θερμικό πλήγμα. Ακόμη περισσότερο δείχνει ότι οι APRs αλλά και η αλβουμίνη του ορού μπορεί να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες για την εκτίμηση της ποιότητας του νερού που παράγεται κατά το βιολογικό καθαρισμό αστικών λυμάτων.

BIOMONITORING OF DOMESTIC WASTEWATER TREATMENT PLANT OUTFLOW USING ACUTE PHASE PROTEINS AS BIOMARKERS

Kontana A., Kourelis A, Peroulis N, Samaras A.¹ & M. Yiangou

Dept. Genet., Dev. & Mol. Biol., School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki,
¹Sch. Technology, TEI West Macedonia

In response to several physical or chemical stress stimuli eukaryotes possess natural defence mechanism by which restorative processes are initiated. Acute phase protein genes belong to a distinct family of genes that responds to inflammatory agents, infections, heavy metals and heat shock. Several stress proteins they have been suggested as biomarkers for biomonitoring domestic wastewater plant outflow. In this study we determined the levels of the α 1-acid glycoprotein and α 1-antitrypsin in the serum of rats that were drinking for at least 2 weeks with secondary treated domestic wastewater. Our data showed gradual increase of AGP while AT levels were unaffected. Filtering of wastewater resulted in about 50% reduction of AGP or AT serum levels. Albumin that belongs to the negative APRs also increased in serum of rats drinking secondary treated wastewater. Furthermore, no sign of hyperlipidemia observed in any group of rats. The above data indicate that wastewater induced some APRs by mechanism that resembles that of heavy metals or hyperthermia and not inflammation. Additionally our data suggest that APRs may serve as sensitive biomarkers for biomonitoring wastewater plant outflow.

**ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΣΕ ΒΛΑΒΕΣ ΚΑΙ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ DNA
ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΠΟ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΑΠΝΟΙΑ****Κοντογιάννη Κ.^{1,2}, Μεσσήνη-Νικολάκη Ν.², Χρίστου Κ.³, Παστάκα Χ.³,
Γουργουλιάνης Κ.Ι.³, Τσιλιμιγκάκη Σ.¹ και Σ.Μ. Πιπεράκης¹**

¹Εργ. Επιδιορθωτικών Μηχανισμών DNA, Ινστ. Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος, Αθήνα
²Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 15784, Αθήνα
³Πνευμονολογική Κλινική, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα

Στην εργασία αυτή με την τεχνική του comet assay μελετήσαμε την ευαισθησία του DNA λεμφοκυττάρων από ασθενείς με άπνοια στην γ -ακτινοβολία και το H_2O_2 , καθώς και την επιδιορθωτική τους ικανότητα. Επίσης προσδιορίσαμε τον αριθμό των φυσιολογικών, αποπτωτικών και νεκρωτικών κυττάρων. Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων βρέθηκε μια μεγαλύτερη ευαισθησία του DNA των ασθενών με άπνοια στην επίδραση των εξωτερικών αυτών παραγόντων (γ -ακτινοβολία και H_2O_2) σε σύγκριση με αυτή των φυσιολογικών ατόμων. Επιπλέον η απόπτωση σε ασθενείς με άπνοια φαίνεται να είναι μεγαλύτερη από αυτή των φυσιολογικών ατόμων.

DNA DAMAGE AND REPAIR IN APNEA PATIENTS' LYMPHOCYTES**Kontogianni K.^{1,2}, Messini-Nikolaki N.², Christou K.³, Pastaka Ch.³,
Gourgoulisanis K.I.³, Tsilimigaki S.¹ & S.M. Piperakis¹**

¹DNA Repair Laboratory, Institute of Biology, NCSR Demokritos, Aghia Paraskevi, Athens
²Department of Cell Biology, School of Biology, University of Athens, Athens
³Palmory Department, University of Thessaly, Larisa.

In this study we examined with the comet assay on a population of patients with apnea the DNA damage caused by γ -irradiation and H_2O_2 . Furthermore, we studied apoptosis and necrosis. Analysis of our results indicates that apnea patients are more sensitive to the effects of external factors. Apoptosis was also found to be somehow higher in apnea patients.

MATZENTA

Εμμ. Μπενάκη 59 - 106 81 Αθήνα
Τηλ.: 801 11 711711 - Φαξ: 210 3891861
www.magenta.gr - info@magenta.gr

Ranamed – Μιχαήλ Κ. Τσικαλάκης

Εμπορία – Εισαγωγές – Επισκευές Η/Υ & Ιατρικών
Μηχανημάτων
Άρτης 22 – Αμπελόκηποι 115 23 Αθήνα
Τηλ. 210 – 69 82 918



ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΚΔΟΣΕΙΣ

ΜΑΡΙΑ ΓΡ. ΠΑΡΙΣΙΑΝΟΥ

ΝΑΥΑΡΙΝΟΥ 20 – 10680 ΑΘΗΝΑ
ΤΗΛ. 210- 36.10.519 – 36.15.047
ΤΗΛ/ΦΑΧ: 210-36.36.424

ΠΑΡΙΣΙΑΝΟΥ Α.Ε.

ΧΑΡ. ΤΡΙΚΟΥΠΗ 47-49
10681 ΑΘΗΝΑ
ΤΗΛ/ΦΑΧ: 210-330.68.80

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΟΞΙΝΩΝ ΡΙΒΟΣΩΜΙΚΩΝ Ρ-ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ
ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΟΥΣ ΣΤΟ ΜΥΔΙ *Mytilus galloprovincialis* ΚΑΙ ΣΤΟΝ
ΜΕΤΑΞΟΣΚΩΛΗΚΑ *Bombyx mori***

Κουγιανού-Κουτσούκου Σ., Κουμαριανού Π. και Β. Πέττα

Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 15784, Αθήνα

Ο ευκαρυωτικός ριβοσωμικός μίσχος αποτελείται από ένα πενταμερές από τις πρωτεΐνες P0 (P1)₂(P2)₂, (P-πρωτεΐνες), που αλληλεπιδρά με τους παράγοντες επιμήκυνσης και ρυθμίζει την ριβοσωμική ενεργότητα κατά την πρωτεϊνοσύνθεση. Στο παρόν πρόγραμμα πραγματοποιήθηκε ο βιοχημικός χαρακτηρισμός των συστατικών του μίσχου στο μύδι *M. galloprovincialis* και στον μεταξοσκώληκα *Bombyx mori*, με απομόνωση ριβοσωμάτων και συγκριτική ανάλυση με SDS ηλεκτροφόρηση, ανοσο-μεταφορά κατά Western με ειδικό μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του καρβοξυτελικού άκρου των ευκαρυω-τικών Ρ-πρωτεϊνών, καθώς και με ηλεκτροφόρηση ισοεστίασης παρουσία αμφολυτών pH 2.5-5. Οι όξινες πρωτεΐνες P1/P2 του *M. galloprovincialis* και του *B. mori* έδειξαν παρόμοιο MB, περίπου 14 KDa, αντίθετα με την *Mg* P0 του μυδιού, η οποία ήταν ελαφρώς μεγαλύτερη από την *Bm*P0 του μεταξοσκώληκα. Κατεργασία των ριβοσωμάτων με 0.5M NH₄Cl οδήγησε στην απελευθέρωση των όξινων πρωτεϊνών P1/P2, αντίθετα από την πρωτεΐνη P0, η οποία παρέμεινε στενά συνδεδεμένη στα ριβοσώματα. Μελέτη της φωσφορυλίωσης των όξινων ριβοσωμικών πρωτεϊνών P1/P2 έδειξε ότι -αντίθετα με την πρωτεΐνη P1- η πρωτεΐνη P2 βρίσκεται πολυφωσφορυλιωμένη στα ριβοσώματα και στα δύο είδη. Τμήμα της πρωτεΐνης P0 του μυδιού *M. galloprovincialis* κατασκευάστηκε με τη μέθοδο PCR. Ως μήτρα χρησιμοποιήθηκε γενωμικό DNA του *M. galloprovincialis* και ως εναρκτές συνθετικά ολιγονουκλεοτίδια παρόμοια με τις πλέον συντηρητικές περιοχές του γονιδίου P0 άλλων ευκαρυωτικών ειδών. Το προϊόν PCR, που παρουσιάζει αξιοσημείωτη ομολογία με άλλα ευκαρυωτικά P0 γονίδια, θα χρησιμοποιηθεί ως ανιχνευτής για την απομόνωση του cDNA μορίου της *Mg* P0 πρωτεΐνης από μία cDNA βιβλιοθήκη του *M. galloprovincialis*.

Το πρόγραμμα αυτό χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΛΚΕ, 70/4/5707 στην Σ.Κ).

**STUDY OF THE ACIDIC RIBOSOMAL PROTEINS AND
THEIR GENES IN THE MUSSEL *Mytilus galloprovincialis*
AND THE SILKWORM *Bombyx mori***

Kouyanou-Koutsoukou S., Koumarianou P. & V. Petta

Department of Genetics and Biotechnology, Faculty of Biology, University of Athens,
Panepistimiopolis 15784, Athens

The eucaryotic ribosomal stalk consists of a pentameric group of P0 (PI)₂(P2)₂ proteins, (P-proteins), that interacts with the elongation factors and regulates the ribosomal activity during protein synthesis. We present here the biochemical characterisation and comparison of the stalk components of the mussel *Mytilus galloprovincialis* and the silkworm *Bombyx mori*; that was done by SDS electrophoresis and Western blot analysis of purified ribosomes with a specific monoclonal antibody against the carboxyl terminus of eukaryotic P-proteins, as well as, by isoelectrofocusing in the presence of ampholines pH 2.5-5. The acidic PI/P2 proteins of both *M. galloprovincialis* and *B.mori* showed a similar M.W. of approximately 14 KDa, in contrast to the mussel MgP0 protein, that was slightly bigger than the silkworm BmP0 protein. Treatment of purified ribosomes with 0.5M NH₄Cl released the acidic PI / P2 proteins, in contrast to the P0 protein, that remained tightly bound to the ribosomes. Study of the phosphorylation of the acidic PI/P2 by treatment of purified ribosomes with alkaline phosphatase and isoelectrofocusing showed that the P2 protein –in contrast to PI protein- is polyphosphorylated on the ribosomes of both species. Part of the mussel *M.galloprovincialis* MgP0 protein was produced by PCR, using as template genomic DNA of *M. galloprovincialis* and primers of synthetic oligonucleotides, similar to the most conservative regions of the P0 gene of other eukaryotic species. The PCR product, that showed remarkable homology to other eukaryotic P0 genes, will be used as probe for the isolation of the MgP0 cDNA from a cDNA library of *M. galloprovincialis*.

This project has been supported by the Special Account for Research Grants of Athens University (SARG, 70/4/5707 to SK).

**ΜΕΘΟΔΟΣ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΠΡΩΤΟΓΕΝΟΥΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ
ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΑΣΤΟΥ**

Κουλούκουσα Μ.¹, Αμαwi Κ.¹, Δρόσος Γ.², Μαρίνου Χ.¹, Χαβάκη Σ.¹,
Παναγοπούλου Ε.¹, Βολουδάκη-Μπαλτατζή Ε.³, Γούτας Ν.⁴, Βλαχοδημητρόπουλος
Δ.⁴, Βασίλαρος Σ.⁵, Αλεπόρου-Μαρίνου Β.², Κίττας Χρ.¹, Μαρίνος Ε.¹

¹Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιατρική Σχολή, Εργαστήριο Ιστολογίας και Εμβρυολογίας,
²Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας,
³Αντικαρκινικό Νοσοκομείο “Άγιος Σάββας”, Ερευνητικό Κέντρο Ογκολογίας
“Γ.Παπανικολάου”, Τμήμα Ηλεκτρονικού Μικροσκοπίου και Κυτταρικής Βιολογίας,
⁴Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιατρική Σχολή, Εργαστήριο Ιατροδικαστικής & Τοξικολογίας,
⁵Ιατρικό Κέντρο Διάγνωσης και Παρακολούθησης «Πρόληψη»

ΕΙΣΑΓΩΓΗ: Οι πρωτογενείς καλλιέργειες καρκινικών κυττάρων υπερτερούν έναντι των κυτταρικών σειρών διότι εκφράζουν σε μεγάλο βαθμό τον αυθεντικό φαινότυπο (*in situ*). Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιούνται πρωτογενείς καλλιέργειες καρκινικών κυττάρων μαστού για τη μελέτη της κινητικότητας των κυττάρων σε στερεό υπόστρωμα. **ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ:** Λαμβάνονται ιστοτεμάχια από βιοψία καρκίνου του μαστού, τεμαχίζονται και τοποθετούνται σε φλάσκες με καλλιεργητικό υλικό RPMI 1640 με 10% FBS. **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:** Σε διάστημα 48h τα κύτταρα του όγκου αρχίζουν να μεταναστεύουν πάνω στο πλαστικό υπόστρωμα. Το σχήμα τους μεταβάλλεται από υποστρόγγυλο σε ατρακτοειδές και σταδιακά αυξάνουν σε μέγεθος. Στο τέλος της 3^{ης} εβδομάδας, ο αριθμός των κυττάρων είναι ικανοποιητικός και η μορφολογία τους είναι ενδεικτική της επιθηλιακής τους προέλευσης. Τα κύτταρα χρησιμοποιούνται για τις εξής εφαρμογές: 1/Μορφολογική και ανοσοϊστοχημική μελέτη στο επίπεδο του φωτομικροσκοπίου καθώς και του ΗΜ διέλευσης και σάρωσης και 2/ Βιοχημικές και μοριακές μελέτες. **ΣΥΖΗΤΗΣΗ:** Με βάση τη μορφολογία των καρκινικών κυττάρων φαίνεται ότι αυτά είναι κατάλληλα για τη μελέτη της κυτταρικής προσκόλλησης, της επαγωγής απόπτωσης και της μελέτης της δυναμικής του κυτταροσκελετού.

METHODOLOGY AND APPLICATIONS OF BREAST CANCER CELLS PRIMARY CULTURES

Kouloukoussa M.¹, Amawi K.¹, Drossos I.², Marinou Ch.¹, Havaki S.¹,
Panagopoulou E.¹, Voloudaki-Baltatzi I.³, Goutas N.⁴, Vlachodimitropoulos D.⁴,
Vassilaros S.⁵, Aleporou-Marinou V.², Kittas Chr.¹, Marinos E.¹

¹University of Athens, Medical School, Laboratory of Histology and Embryology, ²University of Athens, Biology Department, Division of Genetics and Biotechnology, ³Saint Savas Anticancer Hospital, Research Center of Oncology "G. Papanikolaou", Department of Electron Microscopy and Cell Biology, ⁴University of Athens, Medical School, Laboratory of Forensic Medicine & Toxicology, ⁵Breast Diagnostic Center "Prolipsis".

INTRODUCTION: Primary cultures of cancer cells predominate over cell lines because they express more genuinely the *in situ* phenotype. In the present work primary breast cancer cell cultures are used for the study of cell motility onto a solid substrate. **MATERIALS AND METHODS:** The explants from the biopsies are sliced and placed in flasks containing RPMI 1640 supplemented with 10% FBS. **RESULTS:** Within 48h the tumor cells start to spread on the plastic substrate. Their shape changes from rounded to spindle-like and gradually increase in size. At the end of the 3d week, their number is sufficient and their morphology is indicative of their epithelial origin. The cells are used for the following applications: 1/ morphological and immunohistochemical study at the level of light as well as transmission and scanning electron microscopy and 2/ biochemical and molecular studies. **DISCUSSION:** Based on the observed cell morphology, it becomes clear that the cells are the appropriate ones for the study of the cellular attachment, the induction of apoptosis and the study of the cytoskeletal dynamics.

***Bactrocera oleae*: ΜΕΛΕΤΗ ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ****Κουνατίδης Η.¹, Αγγιανίδης Α.¹, Παπαδόπουλος Ν.², Μαυραγάνη – Τσιπίδου Π.¹**¹Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 541 24 Θεσσαλονίκη²Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας Φυτόκου Ν.Ιωνία Μαγνησίας 384 46

Το έντομο *Bactrocera oleae*, ο κοινός δάκος της ελιάς, θεωρείται ως ένα από τα πλέον βλαβερά έντομα με τεράστιες οικονομικές απώλειες για τη χώρα μας. Οι μέθοδοι καταπολέμησης και οι γενικότερες προσπάθειες για τον έλεγχο του εντόμου προϋποθέτουν την γνώση της βιολογίας και της δημογραφίας του. Στη παρούσα μελέτη έγινε καταγραφή των δημογραφικών παραμέτρων δύο εργαστηριακών στελεχών δάκου: 1) στέλεχος «Aghia Triada-82», το οποίο προέρχεται από το Ερευνητικό Ινστιτούτο «Δημόκριτος» και διατηρείται στο εργαστήριο μας τα τελευταία 15 χρόνια και 2) στέλεχος «Chalkidiki», το οποίο δημιουργήθηκε στο εργαστήριο μας, από τη συλλογή ατόμων από την περιοχή Σκιώνη Χαλκιδικής. Το στέλεχος αυτό διατηρείται σε σταθερές εργαστηριακές συνθήκες, τον τελευταίο χρόνο. Συγκεκριμένα, στην παρούσα μελέτη έγινε καταγραφή α) της διάρκειας ζωής των ενήλικων αρσενικών ατόμων σε ατομικούς κλωβούς β) της διάρκειας ζωής των θηλυκών ατόμων παρουσία και απουσία τεχνητού υποστρώματος ωοαπόθεσης και γ) της διάρκειας ζωής των θηλυκών και αρσενικών ατόμων σε ατομικές διασταυρώσεις. Επιπλέον, υπολογίστηκε ο ρυθμός ωοαπόθεσης τόσο των παρθένων όσο και των συζευγμένων θηλυκών ατόμων. Η μέση διάρκεια ζωής των μεμονωμένων αρσενικών και θηλυκών ατόμων βρέθηκε να είναι σημαντικά μεγαλύτερη από την αντίστοιχη των ατόμων στις διασταυρώσεις. Ο ρυθμός ωοαπόθεσης ανά ημέρα των συζευγμένων θηλυκών ατόμων είναι μεγαλύτερος από τον αντίστοιχο των παρθένων.

***Bactrocera oleae*: DEMOGRAPHIC PARAMETERS OF LABORATORY POPULATIONS**

Kounatidis I.¹, Agrianidis A.¹, Papadopoulos N.², Mavragani-Tsipidou P.¹

¹Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University, Thessaloniki, Greece

²Department of Agriculture Crop Production and Rural Environment University Thessaly Phytokou St.N. 384 46 N.Ionia Magnisias

Bactrocera oleae is one of the most serious insect pests causing great economic damages in all olive producing countries. Methods for the biological control of this pest demand the study of its biology and demography. In the present study the demographic parameters of the following two laboratory strains were studied: a) strain «Aghia Triada-82», obtained from the Democritos Nuclear Research Center and maintained in our laboratory for more than 15 years, and b) strain «Chalkidiki», originating from a mass reared strain from Skioni, Chalkidiki. This strain has been maintained in our laboratory, under laboratory conditions, for the last year. In particular, here, we studied the life expectancy of adult males and females and the female oviposition rates. Our results show that the average lifespan of isolated males and females is higher than in pairs. The daily egg production is higher in females kept in pairs than in virgin females.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΟΝΤΟΓΕΝΕΣΗΣ ΤΟΥ *DIPLODUS PUNTAZZO* ΜΕ ΤΗ
ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΓΕΩΜΕΤΡΙΚΗΣ ΜΟΡΦΟΜΕΤΡΙΑΣ****Κουττούκη Σ.¹, Γεωργακοπούλου Ε.¹, Κουμουνδούρος Γ.¹, Divanach P.²,
Κασπίρης Π.¹**¹Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26110 Πάτρα, Ρίο, e-mail: koumound@upatras.gr²ΕΛΚΕΘΕ, Ινστιτούτο Υδατοκαλλιεργειών, Λιμάνι Ηρακλείου, Τ.Θ. 2214, 71003 Ηράκλειο
Κρήτη

Το *Diplodus puntazzo* (κοινώς μυτάκι) ανήκει στους θαλάσσιους τελεό-
στεους ιχθύες και παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τον κλάδο της
Ιχθυοκαλλιέργειας. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν οι οντογενετικές
αλλαγές του σχήματος του *D. puntazzo*, με τη μέθοδο της γεωμετρικής
μορφομετρίας. Για το σκοπό αυτό, συνολικά εξετάστηκαν 167 άτομα *D.*
puntazzo, ολικού μήκους (TL) 2.6–33.0 mm, τα οποία λήφθηκαν από
ιδιωτικό ιχθυογεννητικό σταθμό. Για την ανάλυση του σχήματος, 15
μορφομετρικά σημεία (landmarks) τοποθετήθηκαν ψηφιακά σε
αντίστοιχου αριθμού διακριτές ανατομικές περιοχές. Η πορεία μεταβολής
του σχήματος υπολογίστηκε με τη μέθοδο της Relative Warp Analysis.
Βάσει της τεχνικής της γεωμετρικής μορφομετρίας, οι διαφορές στο
σχήμα του σώματος μεταξύ των οντογενετικών σταδίων, διαφαίνονται ως
πλέγματα παραμόρφωσης.

Παρατηρήθηκε ότι το σχήμα του σώματος στο μυτάκι, μεταβάλλεται
σημαντικά στα πρώιμα νυμφικά στάδια (2.6-10.0 mm), ενώ κατά τη
μεταμόρφωση τείνει να σταθεροποιηθεί. Τα πλέγματα παραμόρφωσης
δείχνουν καθαρά ότι, οι νύμφες αρχικά παρουσιάζουν ένα επίμηκες σχήμα
σώματος, το οποίο σταδιακά αυξάνει κατά το νωτοκοιλιακό άξονα. Η
μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε, επιτρέπει την οπτική απεικόνιση των
αλλαγών του σχήματος του σώματος, σε σχέση με το μέγεθος των ατόμων
κατά τα διάφορα στάδια της οντογενετικής διαδικασίας. Καθορίζεται έτσι
το οντογενετικό αλλομετρικό πρότυπο αύξησης του *D. puntazzo*, το οποίο
συμβάλλει στη μελέτη του είδους και επιτρέπει τη σύγκριση με άλλα τέτοια
πρότυπα, φυλογενετικά και οικολογικά συγγενών ειδών.

GEOMETRIC MORPHOMETRICS IN THE STUDY OF ONTOGENETIC SHAPE CHANGES OF *Diplodus puntazzo*

Kouttouki S.¹, Georgakopoulou E.¹, Koumoundouros G.¹, Divanach P.², Kaspiris P.¹

¹Lab. of Zoology, Dept. of Biology, University of Patras, 26110 Patras, Rio,
E-mail: koumound@upatras.gr

²HCMR, Institute of Aquaculture, Port of Heraklio, P.O. Box 71003, Heraklio, Crete

The sharpsnout sea bream (*Diplodus puntazzo*) is a marine teleost widely distributed in the Mediterranean coastal waters representing a promising candidate for aquaculture. In this study geometric morphometrics have been used to characterize the ontogenetic shape changes of reared *D. puntazzo*. A total of 15 landmarks were placed on the digital images of 167 specimens (range of 2.6-33.0 mm TL) obtained from a private hatchery. Shape changes between the ontogenetic stages were visualized as splines. Growth trajectories were computed using Relative Warp Analysis. The graphical representation shows that shape change is fast during the early larval stages (up to 10.0 mm TL), while in the later stages it tends to TL-independancy. The deformation grids can clearly indicate that shape changes in the observed developmental range (2.6-33.0 mm TL) concern an overall broadening along the dorsoventral axis. The followed approach allows for the visualization of size-related shape changes during ontogeny and defines the ontogenetic allometric growth pattern of *D. puntazzo*. This contributes to the further understanding of the species biology and the comparison of different allometric growth patterns in ecologically and phylogenetically related species.

**ΣΥΣΤΕΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ: ΜΕΘΟΔΟΣ ΔΙΑΧΕΙΡΗΣΗΣ
ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑΣ****Κωνσταντή Ο.^{1,2}, Δευτερέος Σ.¹, Ανδρονής Χ.¹ και Α. Περισίδης¹**

¹ΒΙΟVISTA, Systems Intelligence Corporation, Ροδοπόλεως 51, 16777, Ελληνικό, Αθήνα
²Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 15784, Αθήνα

Η πλήρης κατανόηση του περιεχομένου και ο συσχετισμός των δεδομένων αποτελούν σημαντικό ανασταλτικό παράγοντα, κατά την ανάλυση της σειράς των βιολογικών εννοιών και δεδομένων. Η Συστημική Ανάλυση Βιβλιογραφίας (ΣΑΒ) είναι η βιβλιογραφική μορφή της Βιολογίας Συστήματος και καταγίνεται αποκλειστικά με το περιεχόμενο των συμπερασμάτων του μεγάλου συνόλου των πειραματικών διαδικασιών. Η βιβλιογραφία, μέσω της Συστημικής Ανάλυσης Βιβλιογραφίας (ΣΑΒ,) αντιμετωπίζεται ως ένα δίκτυο αλληλοσυνδεόμενων εννοιών (γονίδια, δίκτυα, μονοπάτια, ασθένειες, αντιδραστήρια κ.λ.π.) και χρησιμοποιούνται «έξυπνα» εργαλεία ώστε να εξαχθούν νέοι συσχετισμοί και συνδέσεις. Βρίσκεται σε αναλογία με ένα πείραμα Βιολογίας Συστήματος, στο οποίο το κύτταρο αντιμετωπίζεται ως ένα σύστημα και εφαρμόζονται τεχνολογίες ανάλυσης πολλαπλών επιπέδων με βάση υπάρχοντες συσχετισμούς (π.χ. yeast two hybrid κ.λ.π.). Στόχο έχει τη χαρτογράφηση των βιολογικών διεργασιών εντός του κυττάρου. Με τη Συστημική Ανάλυση Βιβλιογραφίας γίνεται δυνατή η δυναμική επεξεργασία της γνώσης όπως αποτυπώνεται σε εκατομμύρια επιστημονικών άρθρων έτσι ώστε να αποδοθεί περιεχόμενο σε δεδομένα που αναδεικνύονται μέσα από την βιολογική έρευνα. Με την ΣΑΒ είναι επίσης δυνατή η επιστημονική Ανακάλυψη Βασισμένη στη Βιβλιογραφία, όπου τα φάρμακα και οι πιθανοί στόχοι ιεραρχούνται βάση συσχετισμών και της δυναμικής επιρροής που παρουσιάζουν σε μία ασθένεια ή ένα βιολογικό μονοπάτι.

SYSTEMS LITERATURE ANALYSIS: A METHOD FOR MANAGING THE BIOLOGICAL INFORMATION

Konstandi O.^{1,2}, Deftereos S.¹, Andronis X.¹ & A. Persidis¹

¹BIOVISTA, Systems Intelligence Corporation, Rodopoleos, 51 16777, Heliniko, Athens.

²Dept. of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens

A major bottleneck in array analysis is a clear understanding of the context and relevance of the output. Systems Literature Analysis (SLA) is the literature version of systems biology and directly addresses the context issues of high throughput experiments. SLA treats the literature as a system of millions of interconnected terms (genes, networks, pathways, diseases, reagents etc.) and uses advanced data mining to extract relationships and connections. This is analogous to a systems biology experiment that takes a cell as a system and uses arrays and other relationship-based readout technologies (yeast two hybrid etc.) to map events at multiple levels inside the cell. With SLA, it is possible to leverage the knowledge embedded in millions of scientific papers to provide context on the data that arise from biological research. With SLA, it is also possible to perform literature-based discovery (LBD), where drugs and candidate compounds are ranked by relevance and potential to impact a pathway or disease.

ΜΙΑ ΜΕΤΑΛΛΑΞΗ ΤΗΣ ΦΩΣΦΑΤΑΣΗΣ *SAL6* ΤΗΣ ΖΥΜΗΣ ΕΠΗΡΕΑΖΕΙ ΤΗΝ ΠΙΣΤΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΜΕΤΑΦΡΑΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΝ ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ ΕΝΑΝΤΙ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ**Κωνσταντινίδης Χ.Θ. και Δ. Συνετός**

Εργ. Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26110 Πάτρα

Η αντιστρεπτή φωσφορυλίωση αμινοξικών καταλοίπων ρυθμίζει πολλές κυτταρικές διαδικασίες όπως τη μετάφραση. Εξετάσαμε τη δράση επί της μεταφραστικής πιστότητας, της *sal6*, μιας μετάλλαξης μετατόπισης πλαισίου ανάγνωσης στην πλούσια σε σερίνη/θρεονίνη καταλυτική περιοχή της φωσφατάσης *SAL6*, στο *Saccharomyces cerevisiae*. Η μετάλλαξη συνεκφράστηκε είτε με τη μεταφραστική κατασταλτική μετάλλαξη *sup45* είτε με την αντικατασταλτική μετάλλαξη *asu9* μαζί με τη *sup45*. Η *sal6sup45* αύξησε την συχνότητα λάθους που προκαλεί η *sup45* από 144 σε 346 λανθασμένες ενσωματώσεις λευκίνης ανά 10000 κωδίκια. Επίσης προκάλεσε αύξηση κατά 43% σε σχέση με τη *sup45*, της ικανότητας πρόσδεσης Phe-tRNA στην ριβοσωματική Α-περιοχή, ένδειξη επιρρεπούς σε λάθη μετάλλαξης. Η ευαισθησία της έναντι της παρομομυκίνης, ενός αμινογλυκοζίτη που προκαλεί αύξηση των λαθών, ήταν παρόμοια με εκείνη της *sup45*. Ακολούθως, η *sal6* μελετήθηκε σε συνδυασμό με τις *asu9* και *sup45*. Η *asu9sup45* εξασθένησε την κατασταλτική δράση της *sup45* μειώνοντας πέντε φορές τη συχνότητα ενσωμάτωσης λευκίνης. Έδειξε, επίσης, το 90% της ικανότητας πρόσδεσης στην Α-περιοχή έναντι της μετάλλαξης *sup45* και υψηλή ανθεκτικότητα στην παρομομυκίνη, ενδεικτικό υπερακριβών μεταλλάξεων. Είναι ενδιαφέρον ότι η τριπλή μετάλλαξη *sal6asu9sup45* διατήρησε χαμηλή συχνότητα ενσωμάτωσης λευκίνης, ελαφρώς υπέρτερη εκείνης της *asu9sup45* και παρουσίασε ευαισθησία έναντι παρομομυκίνης μέσω της δοκιμασίας αντίστασης έναντι αντιβιοτικών επί φίλτρου. Άρα, η φωσφατάση *SAL6* επηρεάζει τη διαδικασία αποκωδικοποίησης της γενετικής πληροφορίας ανάλογα με τα επίπεδα φωσφορυλίωσης των στόχων της *SAL6*. Επιπλέον, η τριπλή μετάλλαξη επέδειξε εξαιρετικά υψηλή ευαισθησία έναντι του κυκλοεξιμιδίου, ενός αναστολέα του σταδίου της μετατόπισης: η αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης κατά 50% επήλθε στα 7 μg/L κυκλοεξιμιδίου έναντι 32 μg/L για την *asu9sup45* και 165 μg/L για την *sup45*. Ερευνάται περαιτέρω η υπόθεση ότι η *SAL6* επηρεάζει το στάδιο της μετατόπισης της πρωτεϊνοσύνθεσης.

Χρηματοδοτήθηκε από το ερευνητικό πρόγραμμα «Ηράκλειτος» του ΥΠΕΠΘ.

AN ALLOSUPPRESSOR MUTATION IN YEAST PHOSPHATASE SAL6 AFFECTS TRANSLATIONAL FIDELITY AND RESISTANCE TO ANTIBIOTICS

Konstantinidis C.Th. & D. Synetos

Lab. of Biochemistry, School of Medicine, University of Patras, 26110 Patras, Greece

Reversible phosphorylation of certain serine/threonine residues acts as a key regulator in many cellular processes including protein synthesis. We examined the effect of a frameshift mutation, *sal6*, in the serine/threonine rich catalytic domain of SAL6 phosphatase on translational fidelity in *Saccharomyces cerevisiae*. Mutation *sal6* was co-expressed either with the translational suppressor mutation *sup45* or with the antisuppressor mutation *asu9* together with *sup45*. Mutation *sal6* enhanced misreading caused by *sup45* to 346 misincorporated leucine codons per 10,000 translated codons compared to 144 for *sup45*. The *sal6sup45* mutant exhibited a 43% higher Phe-tRNA binding capacity to ribosomal A-site compared to *sup45*, indicative of error prone mutants. Its sensitivity towards the error inducing aminoglycoside antibiotic paromomycin was similar to that of the paromomycin sensitive *sup45* mutant. Subsequently, *sal6* was studied in combination with mutations *asu9* and *sup45*. Mutation *asu9* impaired *sup45* suppressor efficiency causing a five-fold reduction in the rate of leucine misincorporation. The *asu9sup45* mutant displayed also 90% of *sup45*'s A-site binding capacity and high resistance to paromomycin, typical of error restrictive mutants. Interestingly, the triple mutant *sal6asu9sup45* retained a low rate of leucine misincorporation, only slightly higher to that of *asu9sup45*, and exhibited slightly decreased resistance to paromomycin as shown by the antibiotic disc assay; in the presence of the drug, the distance of the triple mutant cells from the discs was longer than that of the double mutants. In conclusion, SAL6 phosphatase may affect decoding of genetic information depending on the levels of phosphorylation of the target(s) of SAL6. Furthermore, the triple mutant showed extremely high sensitivity towards the translocation inhibitor cycloheximide: 50% inhibition of cell growth was observed at 7 µg/L cycloheximide compared with 32 µg/L for *asu9sup45* and 165 µg/L for *sup45*. Thus, SAL6 phosphatase may also affect the translocation step of protein synthesis, a hypothesis that is under study.

This work was supported by a grant from the "Herakleitos" Research Program of the Ministry of Education of Greece.

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΖΕΠΑΜΗΣ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΤΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΚΩΝ ΟΡΜΟΝΩΝ ΣΤΟΝ ΕΝΗΛΙΚΟ ΕΓΚΕΦΑΛΟ ΕΠΙΜΥΟΣ

Κωνσταντίνου Κ.¹, Μπόλαρης Σ.², Βαλκανά Θ.¹ και Μ. Μαργαρίτη¹

¹Εργ. Φυσ. Ανθρώπου και Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα 26500

²Τμήμα Ανθρώπινης Αναπαραγωγής, Νοσ. «Ελ. Βενιζέλου», Πλ. Βενιζέλου 2, Αθήνα 11521

Στόχος αυτής της εργασίας ήταν να διευκρινισθεί εάν η χορήγηση διαζεπάμης – ενός από τα πλέον χρησιμοποιούμενα ηρεμιστικά φάρμακα – ασκεί οποιαδήποτε επίδραση στον μηχανισμό δράσης των θυρεοειδικών ορμονών (ΤΗ) και συγκεκριμένα στην *in vitro* πυρηνική δέσμευση της T_3 , στα σχετικά επίπεδα έκφρασης των υποδοχέων των ΤΗ (TR) όπως και στην ενδοκυτταρική διαθεσιμότητα των ορμονών αυτών στα κεντρικά εγκεφαλικά ημισφαίρια ενηλικού επιμυός 24 ώρες μετά την ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση αυτού του φαρμάκου (25mg/kg ΒΣ). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η διαζεπάμη, αν και δεν επιδρά στη διαθεσιμότητα των ΤΗ τόσο στην κυκλοφορία του αίματος όσο και στο συναπτοσωμικό κλάσμα, προκαλεί μείωση (30%) στην ολική πυρηνική δέσμευση της T_3 , μέσω μείωσης της μέγιστης πυρηνικής δεσμευτικής ικανότητας της T_3 (T_3 Bmax). Επιπλέον, δεν παρατηρήθηκαν αλλαγές στα σχετικά επίπεδα έκφρασης καμιάς εκ των T_3 -δεσμευτικών ισομορφών των TR (TRα1, TRβ1), ενώ τροποποίηση επήλθε στα επίπεδα του mRNA της TRα2 ισομορφής (μη δεσμευτική της T_3) (↑30%), η οποία ήταν ίση και αντίστροφη της παρατηρούμενης μείωσης στο T_3 Bmax. Τα δεδομένα αυτά επιβεβαιώνουν προηγούμενη πρότασή μας ότι συναγωνιστική δέσμευση μεταξύ των T_3 -δεσμευτικών και μη δεσμευτικών ισομορφών των TR καθορίζει τον αριθμό των πυρηνικών θέσεων δέσμευσης της T_3 . Επιπλέον, τα ευρήματά μας υποδεικνύουν ότι η επαγόμενη από την διαζεπάμη καταστολή της εγκεφαλικής λειτουργίας θα μπορούσε να οδηγήσει σε εξασθένηση της T_3 -εξαρτώμενης γονιδιακής έκφρασης. Δηλαδή, η αντικατάσταση των T_3 -δεσμευτικών ισομορφών των TR από την TRα2 ισομορφή (μη δεσμευτική της T_3) απελευθερώνει την ρύθμιση συγκεκριμένων γονιδίων-στόχων της T_3 από την ορμόνη αυτή – καθώς είναι γνωστό ότι η TRα2 ισομορφή δεν δεσμεύει την T_3 . Συνεπώς, η ανωτέρω προτεινόμενη αντικατάσταση μπορεί να προάγει την σταθερή, T_3 -ανεξάρτητη μεταγραφική δραστηριότητα αυτών των γονιδίων παρουσία ευθυρεοειδικών, ενδοκυτταρικών επιπέδων της ενεργού ορμόνης.

DIAZEPAM AFFECTS CELLULAR AND MOLECULAR ASPECTS OF THE THYROID HORMONE MECHANISM OF ACTION IN ADULT RAT BRAIN

Constantinou C.¹, Bolaris S.², Valcana T.¹, & M. Margarity¹

¹Lab. of Human and Animal Physiology, Dept of Biology, University of Patras, Patras, GR-265 00 ²Dept of Human Reproduction, "Helena Venizelou" Hospital, 2 Venizelou Sqr. Athens, GR-115 21

The object of this work was to delineate whether there is any effect of diazepam – one of the most prescribed tranquillizers in current use – on the molecular mechanism of action of thyroid hormones (TH) and especially on the *in vitro* T₃ nuclear binding, on relative expression of all thyroid hormone receptors (TRs) and on the cellular availability of TH in adult rat cerebral hemispheres 24h after a single intraperitoneal dose (25mg/kg BW) of this tranquillizer. The results show that although diazepam does not affect the availability of TH either in blood circulation or in the synaptosomal fraction, a decrease (30%) in the *in vitro* T₃ nuclear binding was observed, which was due to a decrease in the T₃ maximal binding density (B_{max}). Furthermore, no changes in the relative expression of any of the T₃-binding isoforms of TRs (TRα1, TRβ1) was observed, while the TRα2 variant mRNA levels (non T₃-binding isoform) were altered (↑30%) inversely proportionally to the observed decrease in the T₃ B_{max}. These data confirm our previous proposal that reciprocal binding between the T₃- and the non T₃-binding isoforms of TRs determines the number of nuclear T₃ binding sites. Furthermore, these findings suggest that the effect of diazepam-induced repression of brain function on the molecular mechanism of action of TH could lead to a decline in the T₃-dependent gene expression. That is, the competitive substitution of the T₃-binding isoforms of TRs by the TRα2 variant on chromatin, abolishes the regulation of specific T₃-target genes by T₃ –inasmuch as the TRα2 variant does not bind T₃. Consequently, this substitution can promote stable T₃-independent transcriptional activity of these genes in the presence of euthyroid intracellular levels of T₃.

ΑΠΟΤΟΞΙΝΩΤΙΚΑ ΕΝΖΥΜΑ ΤΟΥ ΒΑΤΡΑΧΟΥ *Rana ridibunda* ΩΣ ΠΙΘΑΝΟΙ ΒΙΟΜΑΡΤΥΡΕΣ ΡΥΠΑΝΣΗΣ ΑΠΟ ΒΑΡΕΑ ΜΕΤΑΛΛΑ**Κωσταρόπουλος Ι., Καλμαντή Δ., Θεοδωροπούλου Β., Λουμπουρδής Ν.**Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124
Θεσσαλονίκη

Σκοπός της εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης βαρέων μετάλλων (κάδμιο και χρώμιο) σε δύο αποτοξινωτικά ένζυμα του είδους *Rana ridibunda*: την τρανσφεράση της γλουταθειόνης (GST) και τη μονο-οξυγενάση του κυτοχρώματος P450 (P450-MO).

Τα ζώα χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες και εκτέθηκαν για 14 ημέρες σε αποκλωριωμένο νερό βρύσης (ομάδα ελέγχου), σε 10 ppm χρωμίου ή σε μίγμα χρωμίου – καδμίου (συγκέντρωσης 10 ppm το καθένα). Κατόπιν, προσδιορίστηκε η ειδική δραστηριότητα των παραπάνω ενζύμων στο ήπαρ, στους νεφρούς και στο έντερο των ζώων.

Ένα αξιοσημείωτο εύρημα ήταν ότι στα ζώα που εκτέθηκαν στο μίγμα χρωμίου - καδμίου, τα επίπεδα της ειδικής δραστηριότητας της GST στο ήπαρ παρουσίαζαν αρνητική συσχέτιση με τη συγκέντρωση των δύο βαρέων μετάλλων στον ίδιο ιστό. Αυτό ίσχυε και για το P450-MO.

Η αρνητική συσχέτιση μεταξύ της δραστηριότητας των ενζύμων και της συγκέντρωσης των βαρέων μετάλλων υποδηλώνει μια πιθανή χρήση της GST και του P450-MO ως ποσοτικού συστήματος για τον προσδιορισμό της επιβάρυνσης των υδρόβιων οργανισμών με βαρέα μέταλλα. Επομένως, θα μπορούσαν να χρησιμεύσουν ως πιθανοί δείκτες (βιομάρτυρες) ρύπανσης των οικοσυστημάτων των γλυκών υδάτων. Μια τέτοια προοπτική θα άξιζε να διερευνηθεί περισσότερο αφού, ως γνωστόν, πολλά ποτάμια στη Β. Ελλάδα είναι ιδιαίτερα βεβαρημένα με βαρέα μέταλλα και άλλους ρυπαντές.

DETOXIFICATION ENZYMES IN THE FROG *Rana ridibunda* AS POSSIBLE BIOMARKERS OF HEAVY METAL POLLUTION

Kostaropoulos I., Kalmanti D., Theodoropoulou B., Loumbourdis N.

Dept of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-54124
Thessaloniki

The effect of two heavy metals, cadmium and chromium, on two detoxification enzymes, namely glutathione S-transferase (GST) and cytochrome P450-dependent monooxygenases (P450-MO), of the frog *Rana ridibunda* was studied.

The animals were divided into three groups and were exposed to dechlorinated tap water (control group), to 10 ppm of chromium or to a mixture of chromium - cadmium (10 ppm each) for 14 days. Then, the specific activity of the above mentioned enzymes were determined in the liver, kidneys and gut.

A noteworthy finding was that the hepatic GST specific activity in mixture-exposed animals negatively correlated with the concentration of both heavy metals in the same tissue. That was also true for P450-MO.

The negative correlation between enzyme activities and heavy metal concentrations suggests the possible use of GST and P450-MO as a tool for obtaining quantitative data about heavy metal intoxication of aquatic animals. Thus, these two enzymes could be used as biomarkers of pollution of freshwater ecosystems. This perspective merits further investigation, since many rivers in Northern Greece are loaded with environmental contaminants, including heavy metals.

**ΟΙ ΜΕΤΑΛΛΟΘΕΙΟΝΕΪΝΕΣ ΩΣ ΑΜΥΝΤΙΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΤΟΥ
ΒΑΤΡΑΧΟΥ *Rana ridibunda* ENANTI ΤΩΝ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ****Κωσταρόπουλος Ι., Θεοδωροπούλου Β., Καλμαντή Δ., Λουμπουρδής Ν.**Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124
Θεσσαλονίκη

Οι μεταλλοθειονεΐνες (MTs) είναι πρωτεΐνες μικρού μοριακού βάρους, πλούσιες σε κυστεΐνη. Αποτελούν σημαντικό μηχανισμό άμυνας του κυττάρου έναντι των βαρέων μετάλλων αφού τα δεσμεύουν, ιδίως το κάδμιο (Cd), και τα καθιστούν αδρανή. Μελέτες δείχνουν αύξηση της συγκέντρωσης των MTs σε ψάρια, βατράχους και θηλαστικά μετά από επίδραση βαρέων μετάλλων. Σκοπός της εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης δύο βαρέων μετάλλων (κάδμιο και χρώμιο) στα επίπεδα των MTs στο βάτραχο *Rana ridibunda*. Τα ζώα χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες και εκτέθηκαν για 14 ημέρες σε αποκλωριωμένο νερό βρύσης (ομάδα ελέγχου), σε 10 ppm χρωμίου (Cr) ή σε μίγμα χρωμίου - καδμίου (συγκέντρωση 10 ppm το καθένα). Κατόπιν, προσδιορίστηκε η συγκέντρωση του χρωμίου, του καδμίου και των MTs στο ήπαρ, στους νεφρούς και στο έντερο των ζώων. Και τα δύο μέταλλα συσσωρεύτηκαν κυρίως στους νεφρούς. Η συσσώρευση του Cr δεν φαίνεται να επηρεάζεται από την ταυτόχρονη παρουσία του Cd στο ήπαρ και στο έντερο. Στους ίδιους ιστούς υπήρχε θετική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης των δύο μετάλλων στα ζώα που εκτέθηκαν στο μίγμα. Η επίδραση Cr δεν επηρέασε τα επίπεδα των MTs αλλά το μίγμα προκάλεσε αύξηση της συγκέντρωσης τους κατά 2-6 φορές σε όλους τους ιστούς. Επιπλέον, η συγκέντρωση των MTs παρουσίασε θετική συσχέτιση με τη συγκέντρωση τόσο του Cd όσο και του Cr στο ήπαρ και το έντερο των ζώων που εκτέθηκαν στο μίγμα. Η αυξημένη συγκέντρωση των MTs στο έντερο ίσως δρα ως φράγμα εμποδίζοντας τα βαρέα μέταλλα που έχουν εισχωρήσει στο γαστρεντερικό σωλήνα να εισέλθουν στην κυκλοφορία του αίματος. Οι MTs φαίνεται να προστατεύουν τον οργανισμό από το κάδμιο αλλά όχι από το χρώμιο.

METALLOTHIONEINS AS A DEFENCE MECHANISM AGAINST HEAVY METAL INTOXICATION IN THE FROG *Rana ridibunda*

Kostaropoulos I., Theodoropoulou B., Kalmanti D., Loumbourdis N.

Dept of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-54124
Thessaloniki

Metallothioneins (MTs) are cysteine-rich, low molecular weight proteins. They are considered as an important cellular defence mechanism against heavy metal intoxication. MTs bind heavy metals, especially cadmium (Cd), making them inactive. Elevated concentration of MTs in fish, frogs and mammals after exposure to heavy metals has been reported. In the present paper, the effect of two heavy metals, cadmium and chromium, on the concentration of MTs in the frog *Rana ridibunda* was studied. The animals were divided into three groups and were exposed to dechlorinated tap water (control group), to 10 ppm of chromium (Cr) or to a mixture of chromium - cadmium (10 ppm each) for 14 days. Then, the concentration of Cd, Cr and MTs was determined in the liver, kidneys and gut. Both metals accumulated mainly in the kidney. Cr accumulation in the liver and gut was not affected by the presence of Cd. This was also suggested by the positive correlation between Cd and Cr concentrations in the same tissues of the mixture-exposed animals. MTs concentration did not increase after Cr treatment, but it increased in all tissues of mixture-exposed frogs. Furthermore, MTs concentration positively correlated with Cr and Cd concentrations in both the liver and gut of the same animals. Elevated MTs concentration in the gut could act as a barrier preventing ingested heavy metals from entering the blood stream. MTs seem to protect the organism against Cd intoxication but not against Cr.

**ΣΥΝΔΕΣΗ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΗ ΛΑΜΙΝΙΝΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΟΥ ΑΤΡ.
ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΜΕΤΑΞΥ ΔΙΑΒΗΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΤΟΜΩΝ****Κωστίδου Ε. , Κολιάκος Γ., Τσάπας Α., Θεοδωρή Β., Παλέτας Κ.**Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας και Εργαστήριο Μελέτης Μεταβολικών Νοσημάτων. Β
Παθολογική Κλινική, Τμήμα Ιατρικής ΑΠΘ.

Τα μονοκύτταρα διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο στην ανάπτυξη της αθηρωμά-τωσης, μιας πάθησης που είναι συχνή σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη. Στην παρούσα μελέτη ανθρώπινα μονοκύτταρα που προέρχονταν από 10 υγιείς εθελοντές και 10 ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη επισημάνθηκαν με ³⁵S μεθειονίνη μετά από την ολονύκτια επώαση. Η σύνδεση μονοκυττάρων στη λαμινίνη μελετήθηκε μετά από προσκόληση της λαμινίνης σε στερεά φάση σε πλάκες ELISA. Η σύνδεση μονοκυττάρων στη λαμινίνη εξετάστηκε επίσης παρουσία ATP (5mM) και παρουσία του αναστολέα των πρωτεϊνικών κινασών K252 β. Τα μονοκύτταρα που προέρχονταν από τους ασθενείς με διαβήτη παρουσίαζαν αυξημένη σύνδεση στη λαμινίνη σε σύγκριση με αυτά που προέρχονταν από φυσιολογικά άτομα (p=0.037). Η παρουσία του ATP αύξησε την ικανότητα σύνδεσης των μονοκυττάρων που προέρχονταν από φυσιολογικά άτομα στη λαμινίνη (p=0.002) ενώ ο αναστολέας των πρωτεϊνικών κινασών K252b εμπόδιζε αυτήν την επίδραση του ATP (p=0,0130). Αντίθετα η σύνδεση στη λαμινίνη των μονοκυττάρων που προέρχονταν από διαβητικούς ασθενείς δεν επηρεάζονταν από την παρουσία του ATP. Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν ότι κάποιες εκτοπρωτεϊνικές κινάσες στην επιφάνεια των μονοκυττάρων σχετίζονται με την ικανότητα σύνδεσης των κυττάρων αυτών στη λαμινίνη και μας επιτρέπουν να υποθέσουμε ότι οι μηχανισμοί αυτοί μπορεί να σχετίζονται με την ανάπτυξη αθηροσκλή-ρωσης στον διαβήτη.

MONOCYTE ATTACHMENT TO LAMININ IN THE PRESENCE OF ATP. DIFFERENCES BETWEEN DIABETICS AND CONTROLS

Kostidou E., Koliakos G., Tsapas A., Theodori V., Paletas K.

Laboratory of Biological Chemistry and Laboratory of study of metabolic illnesses.
B' Internal Medicine, Medical School, AUTH

Monocytes play a central role in the development of atherosclerosis, a condition that is common in patients with diabetes mellitus. In the present study human monocytes derived from 10 healthy volunteers and 10 patients with diabetes mellitus were labeled with ³⁵S methionine after overnight incubation. Monocyte attachment to laminin was then investigated using a solid phase assay. Monocyte attachment to laminin was also tested in the presence of ATP (5mM) and in the presence of the ectoprotein kinase inhibitor K252 b. Monocytes derived from patients with diabetes showed increased attachment to laminin in comparison to the controls (p=0.037). The presence of ATP increased the binding capacity of control monocytes to laminin (p=0.002) and protein kinase inhibitor K252b abolished this effect of ATP (p=0,0130). The attachment to laminin of monocytes derived from diabetic patients was not significantly influenced by the presence of ATP. These results indicate the involvement of monocyte ectokinases on laminin attachment and suggest a relation of these mechanisms to atherosclerosis development in diabetes.

ΤΑ ΓΟΝΙΔΙΑ ΦΥΛΟΚΑΘΟΡΙΣΜΟΥ ΣΤΟ ΕΝΤΟΜΟ *Bactrocera oleae***Λαγός Δ., Μαρίνογλου Κ., Παππάς Β. και Κ. Κομητοπούλου**Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 15784, Αθήνα

Η απομόνωση των ομολόγων γονιδίων του φυλοκαθοριστικού μονοπατιού, *Sxl* (*Sex-lethal*), *tra* (*transformer*), *tra2* (*transformer-2*) και *dsx* (*doublesex*), στο έντομο *B. oleae* (Δάκος της ελιάς), πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια cDNA βιβλιοθηκών ενήλικων ατόμων και μίας γενωμικής βιβλιοθήκης. Τα γονίδια *BoSxl*, *Botra2* και *Bodsx* απομονώθηκαν με RT-PCR και σάρωση βιβλιοθηκών με κριτήριο την υψηλή ομολογία με τα αντίστοιχα γονίδια της *Drosophila melanogaster*. Το γονίδιο *Botra* απομονώθηκε με χρήση ως ανιχνευτή ενός πολύ συντηρημένου γονιδίου I(3)73Aη το οποίο είναι γειτονικό του *tra* σε όλα τα έντομα που έχουν μελετηθεί.

Τα αποτελέσματα μας έδειξαν ότι το γονίδιο *BoSxl* έχει μεγάλη ομοιότητα στην αλληλουχία με το γονίδιο *Sxl* της *Drosophila melanogaster* (*DmSxl*), όμως αντίθετα με αυτό παράγει το ίδιο προϊόν και στα δύο φύλα, χάνοντας έτσι την θεμελιώδη λειτουργία του καθορισμού του φύλου. Το γονίδιο *Botra* εκφράζει φυλο-ειδικά mRNA μεγέθους 1.6 kb στα θηλυκά και 2.1 και 2.2 kb στα αρσενικά άτομα αλλά μόνο στα θηλυκά άτομα παράγεται λειτουργική πρωτεΐνη *BoTRA*. Το *Botra* θεωρείται ότι είναι το κύριο γονίδιο φυλοκαθορισμού στη μεσογειακή μύγα και στο δάκο της ελιάς. Το γονίδιο *Botra2* παράγει ένα mRNA μεγέθους 1.6 kb και στα δύο φύλα και αντίστοιχα ένα πολυπεπτιδίο 251 αμινοξέων. Επίσης παράγει δύο επιπλέον mRNA στα αρσενικά άτομα που πιθανόν σχετίζονται με τον μηχανισμό αυτορύθμισης του γονιδίου *Botra2*. Τα προϊόντα των γονιδίων *Botra* και *Botra2* ενεργοποιούν την φυλο-ειδική έκφραση του γονιδίου *Bodsx*. Το *Bodsx* καταλαμβάνει μία χρωμοσωμική περιοχή 55 kb, οργανώνεται σε 8 εξώνια – 7 εσώνια και παράγει φυλοειδικά μηνύματα κατά το πρότυπο της *D. melanogaster*. Το γονίδιο *Bodsx* παράγει μια πρωτεΐνη *DSX^F* στα θηλυκά άτομα και μια πρωτεΐνη *DSX^M* στα αρσενικά άτομα. Η αλληλουχία των φυλο-ειδικών πολυπεπτιδίων παρουσιάζει πολύ μεγάλη ομοιότητα με τις αντίστοιχες αλληλουχίες των *C. capitata* και *B. tryoni*.

Το πρόγραμμα αυτό χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΛΚΕ, 70/4/5706 στην ΚΚ).

**THE *Bactrocera oleae* HOMOLOGUES OF *Drosophila melanogaster*
SEX-DETERMINING GENES**

Lagos D., Marinoglou K., Pappas V. & K. Komitopoulou

Dept. of Genetics & Biotechnology, School of Biology, University of Athens,
Panepistimiopolis 15784 Athens Greece

We are studying the homologous sex determining genes, Sxl (Sex-lethal), tra (transformer), tra-2 (transformer-2) and dsx (doublesex) in the insect *B. oleae*. Fragments of the BoSxl, Botra-2 and Bodsx genes were isolated with RT-PCR. Genomic and cDNA clones were then obtained by screening *B. oleae* genomic and adult cDNA libraries respectively. Botra was isolated by screening the genomic library with l(3)73Ah, a very conservative gene found to be mapped close to tra genes in many insects. Expression analysis of the BoSxl gene with RT-PCR and Northern blots, confirmed the presence of the same SXL polypeptide of 339 amino acids in both female and male adult flies. The BoSXL polypeptide shares a high degree of similarity in sequence with its *Drosophila* homologue, loosing its regulatory role as sex-determining gene. The tra gene holds a region of about 3.9 kb and is organized in 6 exons – 5 introns. It produces sex-specific transcripts of 1.6 kb in females and 2.1, 2.2 kb in males but a BoTRA functional polypeptide of 422 amino acids exists only in females. Botra-2 holds a region of 4.3 kb organized in 8 exons -7 introns. Analysis of cDNA clones revealed a transcript of 1.6 kb, equally expressed in both sexes. The transcript's predicted polypeptide of 251 amino acids has an RNA recognition motif and two flanking serine-arginine regions, also present in the *Drosophilidae* TRA-2 isoforms. Expression analysis by RT-PCR, showed two more transcripts predominantly in males. One of those "male-specific" transcripts was isolated and found to code for a truncated form of the BoTRA2²⁵¹, probably participating in the gene's auto regulation. The complex BoTRA/TRA2 appears to activate the sex-specific expression of the Bodsx gene. Bodsx expands in a chromosomal region of 55 kb, with 6 exons -5 introns producing different sex-specific mRNAs, similarly to the *Drosophila* model. The studied cDNA clones share a very high degree of identity to the homologues of *C. capitata* and *B. tryoni*. The Bodsx gene produces two sex-specific polypeptides, DSX^F in females and DSX^M in males.

This project has been supported by the Special Account for Research Grants of Athens University (SARG, 70/4/5706 to KK).

**ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ AMES' ΓΙΑ ΤΟΝ ΕΝΤΟΠΙΣΜΟ
ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ ΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗΣ της ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ
ΜΕΤΑΞΥ ΞΕΝΟΒΙΩΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ****Λαζάρου Δ. και Α. Παπαδόπουλος**

Εργαστήριο Φυσιολογίας – Τμήμα Βιολογίας – Σ.Θ.Ε., Α.Π.Θ.

Η μέθοδος Ames' μπορεί να ανιχνεύσει ουσίες με καρκινογόνο ή/και μεταλλαξιγόνο δράση χρησιμοποιώντας μεταλλαγμένα στο οπιοερόνιο της ιστιδίνης στελέχη του βακτηρίου *Salmonella typhimurium*. Στην παρούσα εργασία έγινε προσπάθεια χρησιμοποίησης της μεθόδου για τον εντοπισμό ουσιών με μεταλλαξιγόνο δράση που πιθανά να αδρανοποιούνται από το ένζυμο της τρανσφεράσης της γλουταθειόνης (GST) μέσω σύζευξης με το τριπεπτίδιο της γλουταθειόνης. Χρησιμοποιήθηκαν τα στελέχη TA98 και TA100 με τα οποία εντοπίζεται είτε μετάλλαξη του αναγνωστικού πλαισίου (TA98), είτε υποκατάσταση βάσεων (TA100). Συγκεκριμένα προσδιορίστηκε η μείωση της μεταλλαξιγόνου δράσης του υποστρώματος 1-chloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) της GST μετά την επώασή του με το ένζυμο. Τα αποτελέσματα είναι πολύ ενθαρρυντικά και πιστεύεται ότι δίδουν τη δυνατότητα εντοπισμού υποστρωμάτων της GST μεταξύ πυρηνόφιλων ξενοβιωτικών ουσιών, υποκαθιστώντας μεθοδολογίες όπως χρωματογραφία υψηλής πιστότητας (HPLC) ή αέρια χρωματογραφία (GC).

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτείται από την ΓΓΕΤ (ΠΕΝΕΔΟΙΕΔ439) και την εταιρεία τροφίμων Αφοί Χαϊτογλου ΑΒΕΕ.

USE OF AMES' TEST FOR THE DETECTION OF GST SUBSTRATES AMONGST NUCLEOPHILIC XENOBIOTICS

Lazarou D. & A. Papadopoulos

Laboratory of Animal Physiology, School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle
University of Thessaloniki Greece

The Ames' test detects carcinogens and mutagens through mutated strains of *Salmonella typhimurium*. Each tester strain contains a different type of mutation in the histidine operon.

In the present study, it was attempted to investigate whether Ames' test can be used for the detection of glutathione transferase activity against different substrates, which act as mutagens on their own. Two different strains were used, TA98 and TA100 which detect various frameshift mutagens (the former), and mutagens that cause base-pair substitutions (the latter). It was examined the activity of GST against CDNB, the most common substrate of GST.

The results are promising indicating that this approach may offer the opportunity to detect possible substrates of GST among nucleophilic xenobiotics substances without need of methods such as HPLC and GC.

Supported by a grant from GSRT (ΓΕΝΕΑ 01ΕΔ439) and Haitoglou Bros.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΙΤΑΣ ΜΕ ΣΗΣΑΜΙ ΣΕ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥΣ
ΑΠΟΤΟΞΙΝΩΣΗΣ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΙΘΑΝΟΛΙΚΟΥ
ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΣΗΣΑΜΙΟΥ ΠΛΟΥΣΙΟΥ ΣΕ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ****Λαζάρου Δ. και Α. Παπαδόπουλος**

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Σ.Θ.Ε., Α.Π.Θ.

Το σησάμι (*Sesamum indicum* L) αποτελεί σημαντικό διατροφικό παράγοντα για τον άνθρωπο σε διάφορα μέρη του κόσμου. Κατά τα τελευταία χρόνια έχει διαπιστωθεί η ύπαρξη στο σησάμι βιοδραστικών συστατικών με πλούσια αντιοξειδωτική αντιμεταλλαξιγόνο και υποχολιστερολαιμική δράση.

Στην παρούσα εργασία αναφέρεται προσπάθεια για τη μελέτη της επίδρασης της διατροφής με σησάμι στο ένζυμο της τρανσφεράσης της γλουταθειόνης που αποτελεί σημαντικό συντελεστή της φάσης II της αποτοξίνωσης καθώς επίσης και προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης εκχυλίσματος του σησαμιού.

Σε ομάδα αρσενικών αρουραίων Fisher ηλικίας 3 εβδομάδων, χορηγήθηκε σησάμι σε ποσοστό 30% της συνολικής τροφής για 8 εβδομάδες. Στη συνέχεια απομονώθηκε η ηπατική κυτοπλασματική τρανσφεράση της γλουταθειόνης (GST) με χρωματογραφία συγγένειας και προσδιορίστηκαν οι κινητικές παράμετροι (K_m και V_{max}). Με τη βοήθεια υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC), διαχωρίστηκαν οι ισομορφές του ενζύμου. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μεταβολή στις τιμές των κινητικών παραμέτρων της κυτοπλασματικής GST σε σύγκριση με φυσιολογικά εκτρεφόμενα πειραματόζωα, παρατηρήθηκε όμως διαφορά στο ισοενζυμικό πρότυπο.

Σε *in vitro* πειράματα, μελετήθηκε η αντιοξειδωτική δράση στη λιπιδική υπεροξειδωση LPO, η επίδραση στο ένζυμο GST (I_{50} , K_m και V_{max}) καθώς και η αντιμεταλλαξιγόνος δράση με τη βοήθεια του Ames' test σε μείγμα πολυφαινολών από εκχύλισμα σησαμιού.

Το μίγμα πολυφαινολών έχει έντονη αντιοξειδωτική δράση καθώς αναστέλλει την LPO και μάλιστα σε μικρότερες συγκεντρώσεις από τη σισαμόλη. Δεν διαπιστώθηκε αντιμεταλλαξιγόνος δράση του εκχυλίσματος διαπιστώθηκε όμως ανασταλτική *in vivo* δράση έναντι της GST, γεγονός πολύ σημαντικό κατά τη χορήγηση αντικαρκινικών φαρμάκων σε καρκινικούς όγκους,

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτείται από την ΓΓΕΤ (ΠΕΝΕΔΟΙΕΔ439) και την εταιρεία τροφίμων Αφοί Χαϊτογλου ABEE.

EFFECT OF SESAME DIET ON DETOXIFICATION MECHANISMS AND CHARACTERISTICS OF SESAME ETHANOL EXTRACT RICH IN POLYPHENOLS

Lazarou D. & A.I. Papadopoulos

Laboratory of Animal Physiology, School of Biology, Faculty of Sciences, A.U.TH

Sesame seed (*Sesamum indicum* L) an oilseed plant is cultivated on a worldwide basis for both oil and protein. Many bioactive compounds have been detected in sesame with hypolipidemic and antioxidative activity.

In the present study, we examined the effect of sesame diet upon the enzyme of phase II of detoxification, glutathione S transferase, as well as the antioxidative activity of polyphenol extract from sesame seeds.

A group of Fisher rats were fed for 8 weeks with a special diet containing 30% sesame and subsequently were investigated the kinetic parameters (K_m and V_{max}) of cytosolic glutathione transferase GST in the liver. Normally fed male rats of the same age were used as control. HPLC was used for the isolation of isoforms of cytosolic GST from both groups of rats. The kinetic parameters of cytosolic GST were unchanged in the two groups of animals, however according to the results from HPLC, the isoenzyme pattern was altered in the experimental group.

With *in vitro* experiments, was examined the effect of isolated ethanolic extract of sesame seeds rich in polyphenols. It exhibited strong antioxidative activity while it inhibited GST *in vitro*. Furthermore, Ames' test failed to show antimutagenic effect of these extracts

Supported by a grant from GSRT (ΠΕΝΕΔ 01ΕΔ439) and Haitoglou Bros.

**ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ STRESS ΚΑΙ ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΣΤΑ ΚΑΡΔΙΟΜΥΟΚΥΤΤΑΡΑ:
ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΡΥΘΜΙΣΗΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ
ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ Bcl-2****Λάζου Α. ***

Εργ. Φυσιολ. Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ. Θεσσαλονίκη 54124

Κατά την ισχαιμία, η καρδιά στερείται οξυγόνου και αυτό έχει ως αποτέλεσμα την διατάραξη της συσταλτικής και μεταβολικής της λειτουργίας και τη δημιουργία οξειδωτικού stress. Οξειδωτικό stress προκαλείται τόσο κατά την φάση της ισχαιμίας όσο και κατά την ακολουθούμενη επαναιμάτωση. Τα καρδιομυοκύτταρα είναι τελικά διαφοροποιημένα κύτταρα και έτσι ο θάνατός τους, ο οποίος μπορεί να συμβεί είτε με νέκρωση είτε με απόπτωση, έχει σημαντικές επιπτώσεις στη λειτουργία της καρδιάς. Η απόπτωση είναι μία ελεγχόμενη διαδικασία η οποία απαιτεί ενέργεια και προκαλεί αποσύνθεση και απορρόφηση των κυτταρικών συστατικών χωρίς φλεγμονή. Αν και υπάρχει αρκετή διχογνωμία, θεωρείται ότι απόπτωση εμπλέκεται σε αρκετές από τις παθολογικές καταστάσεις της καρδιάς συμπεριλαμβανομένης και της ισχαιμίας.

Υπάρχουν δύο κύρια αποπτωτικά μονοπάτια: το εξωτερικό το οποίο λειτουργεί μέσω των υποδοχέων θανάτου και το εσωτερικό το οποίο αρχίζει από οργανίδια και κυρίως τα μιτοχόνδρια. Το μιτοχονδριακό μονοπάτι θανάτου σχετίζεται με την απελευθέρωση του κυτοχρώματος c, την απώλεια του δυναμικού της μεμβράνης των μιτοχονδρίων, την ενεργοποίηση των κασπασών και την αποκοδόμηση του DNA. Τα γεγονότα αυτά παρατηρούνται στα καρδιακά μυοκύτταρα τα οποία έχουν υποβληθεί σε υποξία/επανεμποτισμό ή σε οξειδωτικό stress. Είναι αξιοσημείωτο ότι ο θάνατος με απόπτωση ανιχνεύεται κατά τον επανεμποτισμό των καρδιομυοκυττάρων παρά κατά την υποξία ή ισχαιμία. Το γεγονός ότι η ισχαιμία σχετίζεται με μη αποπτωτικό θάνατο υποδεικνύει ότι η διαδικασία θανάτου αρχίζει αλλά, λόγω έλλειψης οξυγόνου δεν υπάρχει αρκετή ενέργεια για την απόπτωση. Οι πρωτεΐνες της οικογένειας Bcl-2 είναι σημαντικοί ρυθμιστές της διαδικασίας θανάτου μέσω των μιτοχονδρίων. Η Bcl-2 και η Bcl-xL εντοπίζονται στα μιτοχόνδρια και η υπερέκφραση αυτών των πρωτεϊνών φαίνεται ότι παρέχει προστασία στα κύτταρα. Αντίθετα, η Bax και η Bad μετακινούνται μεταξύ του κυτταροπλάσματος και των μιτοχονδρίων και η μετακίνηση στα μιτοχόνδρια προκαλεί απόπτωση. Η φωσφορυλίωση της Bad σε τρία κατάλοιπα σερίνης ((Ser-112, Ser-136 and Ser-155) ενισχύει την αλληλεπίδρασή της με τις πρωτεΐνες I4-3-3 και αποτρέπει την μετακίνησή της στα μιτοχόνδρια. Επειδή είναι πιθανό ότι η διαδικασία της απόπτωσης

* Προσκεκλημένη ομιλήτρια

αρχίζει κατά την ισχαιμική φάση και επειδή οι πρωτεΐνες της οικογένειας Bcl-2 ρυθμίζουν αυτή τη διαδικασία, εξετάσαμε τις επιδράσεις της ισχαιμίας αλλά και του επανεμποτισμού στην έκφραση των πρωτεϊνών Bcl-2, Bcl-xL, Bax και Bad.

Η έκφραση της Bcl-2 (τόσο τα επίπεδα της πρωτεΐνης όσο και του mRNA), αυξήθηκε 2-3 φορές κατά την ισχαιμία αλλά επανήλθε στα επίπεδα του μάρτυρα κατά τον επανεμποτισμό. Το κυκλοξιμίδιο ανέστειλε αυτή την αύξηση στην έκφραση της Bcl-2 υποδηλώνοντας ότι αυτή αντανακλά de novo σύνθεση πρωτεΐνης και όχι μεταβολή στη διαμόρφωσή της. Τα επίπεδα του mRNA των Bcl-xL, Bax και Bad καθώς επίσης και η πρωτεΐνη των Bcl-xL και Bax δεν μεταβλήθηκαν στην καρδιά κατά την ισχαιμία. Παρόλα αυτά, η ισχαιμία προκάλεσε αύξηση στην Bad, όσον αφορά στα επίπεδα της πρωτεΐνης.

Η σημαντικότερη οδός μεταγωγής σημάτων που ενεργοποιείται κατά την ισχαιμία είναι αυτή p38-MAPK. Η αύξηση στην έκφραση της Bcl-2 αναστέλλεται από τον αναστολέα της p38-MAPK, SB203580 και πιθανόν αυτή η κινάση να παίζει ρόλο στην έκφραση της Bcl-2 μέσω του μεταγραφικού παράγοντα CREB. Η σημασία της αυξημένης έκφρασης της Bcl-2 κατά την ισχαιμία δεν είναι ξεκάθαρη καθώς η πρωτεΐνη χάνεται κατά τον επανεμποτισμό. Παρόλα αυτά μπορεί να αντιπροσωπεύει μια προσπάθεια να ενισχυθεί η επιβίωση του καρδιομυοκυττάρου πιθανόν με μεταβολή της λειτουργίας των μιτοχονδρίων.

Συμπερασματικά, αρκετές πρωτεΐνες και σηματοδοτικά μονοπάτια μεταβάλ-λονται στα καρδιομυοκύτταρα ως απόκριση στο οξειδωτικό stress. Η ισορροπία μεταξύ των προστατευτικών πρωτεϊνών/μηχανισμών (π.χ ERK, PI3K, Bcl-2) και των αποπτωτικών μηχανισμών (JNKs, Bax) καθορίζουν την τύχη του κυττάρου. Η ισχαιμία της καρδιάς του αρουραίου προκαλεί αύξηση της έκφρασης της πρωτεΐνης Bcl-2 και πιθανόν μεταβάλλει τη διαμόρφωση της Bad. Αυτές οι μεταβολές μπορεί να έχουν σημαντική επίδραση στη διαδικασία θανάτου των καρδιομυοκυττάρων κατά την ισχαιμία και τον ακόλουθο επανεμποτισμό.

Η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από προγράμματα της ΕΕ (IHP, Marie Curie Development Host Fellowships) και της Royal Society of London.

OXIDATIVE STRESS AND APOPTOSIS IN CARDIAC MYOCYTES: SIGNALLING PATHWAYS FOR THE REGULATION OF Bcl-2 FAMILY PROTEINS

Lazou Antigone*

Lab. of Animal Physiology, Dept of Zoology, Sch of Biology, Aristotle University of
Thessaloniki, Thessaloniki 54124

During a myocardial infarction (heart attack), the heart is deprived of oxygen and this disrupts the normal contractile and metabolic function of the heart. This results in the generation of oxidative stress. Oxidative stresses are produced during the ischemic phase (i.e. reduction or cessation of blood flow to the heart) but is increased during any subsequent reperfusion of the infarcted area. Contractile cardiac myocytes are terminally-differentiated cells, so myocyte cell death, as occurs (for example) following ischemia and/or reperfusion, has a significant impact on cardiac function. Cells may die either by necrosis or apoptosis. Apoptosis is highly regulated, requires ATP and induces progressive dismantling of cellular contents for absorption into surrounding tissues in the absence of any inflammatory response. There has been much debate about the precise degree of apoptosis which occurs in different cardiac pathologies but the emerging consensus is that cardiac myocyte programmed cell death contributes to many cardiac diseases including ischemic heart disease.

There are two principal apoptotic pathways: an extrinsic pathway, which operates through death receptors and an intrinsic pathway, which is initiated by organelles, particularly the mitochondria. The mitochondrial death pathway is associated with release of cytochrome c, loss of mitochondrial membrane potential, activation of caspases and DNA degradation, events that are seen in cardiac myocytes subjected to hypoxia/reoxygenation, or oxidative stress. It is notable that apoptotic cell death is detected on reoxygenation of myocytes, or reperfusion of whole hearts rather than during hypoxia/ischemia. However, hypoxia/ischemia is associated with non-apoptotic cell death, indicating that death pathways are probably initiated but, in the absence of O₂, there is insufficient ATP for apoptosis.

The Bcl-2 family proteins are key regulators of the mitochondrial death pathway. Bcl-2 and Bcl-xL are localized at the mitochondria, and overexpression of these proteins is cytoprotective. In contrast, Bad and Bax shuttle between the cytosol and mitochondria and translocation to the mitochondria promotes apoptosis. In cardiac myocytes, oxidative stress-induced apoptosis is associated with translocation of Bad and Bax to the mitochondria, which may trigger the apoptotic response. Phosphorylation

* Invited speaker

of Bad on up to 3 residues (Ser-112, Ser-136 and Ser-155) promotes its interaction with 14-3-3 proteins, preventing translocation to the mitochondria, and phosphorylation of these residues in cardiac myocytes is associated with cytoprotection. Since it is probable that the cell death pathway is initiated during the ischemic phase and Bcl-2 family proteins regulate this process, we examined the effects of ischemia on Bcl-2, Bcl-xL, Bax and Bad.

Bcl-2 immunoreactivity and mRNA levels were increased during ischemia, but this declined to basal levels on reperfusion. Cycloheximide inhibited the increase in Bcl-2 protein during ischemia, indicating that the response reflects de novo protein synthesis, rather than a conformational change in the protein. Bcl-xL, Bax or Bad mRNA levels did not change in perfused hearts during ischemia, nor was there any significant change in Bcl-xL or Bax protein. However, ischemia induced an increase in Bad immunoreactivity.

Probably the most significant signaling pathway to be activated during ischemia is the p38-mitogen-activated protein kinase (p38-MAPK) cascade. Upregulation of Bcl-2 protein and mRNA was inhibited by the p38-MAPK inhibitor, SB203580. This is consistent with previous studies, which have also demonstrated a role for p38-MAPKs in the regulation of Bcl-2 expression through the transcription factor CREB. The significance of Bcl-2 upregulation during ischemia is not clear, particularly as the protein is lost on reperfusion. However, it may represent an attempt to promote myocyte survival, possibly by altering mitochondrial function.

In conclusion, a number of proteins and intracellular signalling pathways are modulated in cardiac myocytes by oxidative stress. The balance of protective proteins/pathways (e.g. ERK, PI3K, Bcl-2) vs pro-apoptotic proteins pathways (e.g. Bax, JNKs) determines the overall fate of the cell. Global ischemia of adult rat hearts increases the expression of Bcl-2, and probably induces a conformational change in Bad. These changes may have a significant impact on the progression of cardiac myocyte cell death during ischemia and on subsequent reperfusion.

The work was supported by grants from EU (IHP, Marie Curie Development Host Fellowships) and the Royal Society of London.

ΠΡΟΣΛΗΨΗ LPS, *E. coli* ΚΑΙ ΕΛΑΣΤΙΚΩΝ ΣΦΑΙΡΙΔΙΩΝ ΑΠΟ ΤΑ ΑΙΜΟΚΥΤΤΑΡΑ ΤΗΣ ΜΥΓΑΣ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΟΥ: Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ MAP ΚΙΝΑΣΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ ΕΚΚΡΙΣΗΣ**Λάμπρου Ε., Τσάκας Σ., Θεοδώρου Γ.*, Καρακάντζα Μ.*,
Λαμπροπούλου Μ., Μαρμάρας Β.**Εργαστήριο Βιολογίας - Τμήμα Βιολογίας, *Εργαστηριακή Αιματολογία-Αιμοδοσία -
Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών

Η αναγνώριση και η πρόσληψη των μικροοργανισμών από τα μακροφάγα είναι μια βασική λειτουργία της εγγενούς ανοσοαπόκρισης, η οποία είναι συντηρημένη από τα έντομα ως τον άνθρωπο. Στην εργασία αυτή μελετήθηκε η πρόσληψη της ενδοτοξίνης (LPS) των Gram(-) βακτηρίων, της *E.coli* και ελαστικών σφαιριδίων (latex beads), από τα αιμοκύτταρα του 3^{ου} προνυμφικού σταδίου της μύγας της Μεσογείου. Οι παραπάνω παράγοντες ήταν συζευγμένοι με FITC. Η παρατήρηση της κυτταροφαγίας έγινε σε μικροσκόπιο φθορισμού και η ποσοτικοποίηση του φαινομένου, με κυτταρομετρία ροής. Τόσο ο LPS όσο και η *E.coli* επάγουν την έκκριση στα αιμοκύτταρα. Με τη χρήση αναστολέων της έκκρισης διαπιστώθηκε ότι μειώνεται η κυτταροφαγία της *E.coli*, όχι όμως και των ελαστικών σφαιριδίων. Το γεγονός αυτό δείχνει μια βασική διαφορά στους δύο μηχανισμούς πρόσληψης. Για να βρούμε κάποια σημεία διαφοροποίησης των δύο αυτών μηχανισμών κυτταροφαγίας, διερευνήθηκε ο ρόλος των MAP κινασών στην έκκριση των αιμοκυττάρων και στην κυτταροφαγία. Διαπιστώθηκε ότι η ERK και η p38 ρυθμίζουν την έκκριση των αιμοκυττάρων που επάγεται από LPS/*E.coli*. Κάτι που όμως δεν συμβαίνει με την JNK. Επιπλέον διαπιστώθηκε ότι η κυτταροφαγία της *E.coli* και των ελαστικών σφαιριδίων ρυθμίζεται από όλες τις MAP κινάσες. Τα πειράματα αυτά δείχνουν ότι όλες οι MAP κινάσες ρυθμίζουν την κυτταροφαγία ανεξάρτητα από την έκκριση. Ο επαγόμενος μηχανισμός της έκκρισης από LPS/*E.coli* φαίνεται ότι ρυθμίζεται από την ERK και την p38 και συμβάλλει στη κυτταροφαγία της *E.coli*, πιθανότατα ενεργοποιώντας παράγοντες της κυτταρικής επιφάνειας των αιμοκυττάρων.

UPTAKE OF LPS, *E. coli* AND LATEX BEADS FROM THE HEMOCYTES OF THE MEDFLY: THE ROLE OF MAP KINASES AND SECRETION

**Lamprou I., Tsakas S., Theodorou G.*, Karakantza M.*,
Lampropoulou M., Marmaras V.**

Lab of Biology - Dept of Biology, *Laboratory Hematology -Transfusion Medicine - Dept of Medicine, University of Patras

The recognition and uptake of microorganisms from the macrophages is a basic process of the immune response, which has been conserved from insects to human species. In the present study, the uptake of the Gram(-) bacterial endotoxin (LPS), *E.coli* and latex beads, from the 3rd instar larvae hemocytes of the Medfly, was investigated. All three agents were conjugated with FITC. Phagocytosis was observed under fluorescent microscope and was quantified with flow cytometry. LPS as well as *E.coli* induce the secretion in the hemocytes. It was shown that secretion inhibitors reduce the phagocytosis of *E.coli*, but not the phagocytosis of latex beads. This appears to be a fundamental difference between the two mechanisms of uptake. To find out certain points that separate these two mechanisms of phagocytosis, the role of MAP kinases on the secretion and phagocytosis was investigated in the hemocytes. It was revealed that ERK and p38 regulate the LPS/*E.coli* induced secretion of hemocytes. JNK seemed that is not involved in these mechanisms. In addition, it was shown that phagocytosis of both *E.coli* and latex beads is regulated by all types of MAP kinases. The results showed that all MAP kinases play a major role in the regulation of phagocytosis, in a way that does not depend on the hemocyte secretion. The secretion that is induced from LPS/*E.coli* appears to be regulated by ERK and p38 and also to contribute in the phagocytosis of *E.coli*, possibly via activation of surface agents, which are present on the hemocyte plasma membrane.

**ΑΚΟΛΟΥΘΩΝΤΑΣ ΤΟΝ ΗΛΙΟ: ΤΑ ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΤΟΥ
ΔΙΑ-ΗΛΙΟΤΡΟΠΙΣΜΟΥ****Λεβίζου Ε.¹ και Α. Κυπαρίσσης²**¹Εργαστήριο Φυσιολογίας Φυτών, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών²Εργαστήριο Βοτανικής, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο
Ιωαννίνων

Το μεσογειακό φυτό *Malva sylvestris* εκτελεί κατά τη διάρκεια της ημέρας μία σειρά κινήσεων που τελικό αποτέλεσμα έχουν να διατηρούν το έλασμα των φύλλων συνεχώς κάθετο στις ηλιακές ακτίνες. Αποτελεί, λοιπόν, κλασικό παράδειγμα δια-ηλιοτροπικού φυτού. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να διερευνηθούν τόσο τα πλεονεκτήματα αυτού του προσαρμοστικού προτύπου σε ότι αφορά τη φωτοσύνθεση όσο και τα πιθανά μειονεκτήματα σε ότι αφορά τη φωτοαναστολή και επομένως την ανάγκη αυξημένης φωτοπροστασίας. Ο πειραματικός σχεδιασμός περιελάμβανε μία σειρά μετρήσεων σε φύλλα που αφέθηκαν ελεύθερα να κινηθούν κατά το ημερήσιο πρότυπο του ηλιοτροπισμού και φύλλα των ίδιων φυτών που «εξαναγκάστηκαν» να παραμείνουν ακίνητα σε οριζόντια θέση καθ' όλη τη διάρκεια της ημέρας. Καταγράφηκε σε ημερήσια βάση η καθαρή φωτοσύνθεση των δύο ομάδων φύλλων καθώς και παράμετροι του *in vivo* φθορισμού της χλωροφύλλης, όπως η φωτοχημική απόδοση του φωτοσυστήματος II, η ταχύτητα ροής των ηλεκτρονίων και ο βαθμός μη φωτοχημικής απόσβεσης της περίσσειας ενέργειας. Από τα αποτελέσματα γίνεται φανερό ένα πολύ σημαντικό κέρδος στη φωτοσύνθεση των κινούμενων φύλλων, το οποίο σε ημερήσια βάση ανέρχεται σχεδόν στο 50%. Ταυτοχρόνως, ο βαθμός της μη φωτοχημικής απόσβεσης, άρα της φωτοπροστατευτικής λειτουργίας δεν είχε σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων φύλλων. Φαίνεται λοιπόν ότι παρ' ότι τα κινούμενα φύλλα δέχονταν εξαιρετικά υψηλές εντάσεις φωτός δεν αντιμετώπιζαν πρόβλημα φωτοαναστολής. Τα αποτελέσματα αυτά σε συνδυασμό με αντίστοιχες θετικές επιπτώσεις του δια-ηλιοτροπισμού στις υπόλοιπες παραμέτρους του φθορισμού αλλά και στη θερμοκρασία του φύλλου, υποδεικνύουν ότι με την κίνηση αυτή παρέχεται στο φυτό η δυνατότητα της μεγιστοποίησης της αύξησής του στους λίγους μήνες που διαρκεί η αναπτυξιακή του περίοδος.

FOLLOWING THE SUN: THE BENEFITS OF DIAHELIOTROPISM

Levizou E.¹ & A. Kyparissis²

¹Laboratory of Plant Physiology, Department of Biology, University of Patras

²Laboratory of Botany, Department of Biological Applications and Technology,
University of Ioannina

The Mediterranean plant *Malva sylvestris* exhibits a daily pattern of diaheliotropic leaf movements. As a result, leaves are oriented perpendicular to the sunrays, maximizing the intercepted solar irradiance throughout the day. The aim of the present study was to explore the benefits of this movement pattern on photosynthesis and the possible disadvantages concerning photoinhibition and the resulting enhanced demand for photoprotection. The experimental design included measurements of leaves that were left free to move according to the diaheliotropic pattern and leaves that were “forced” to stay immobile in a horizontal position for the whole day. In these two leaf groups, net photosynthesis and *in vivo* chlorophyll fluorescence parameters (i.e. quantum yield of photosystem II, electron transport rate and non-photochemical excess energy dissipation) were measured. The results clearly show a significant gain in photosynthesis of moving leaves, accounting for a 50% increase on a daily basis. Additionally, only subtle differences on non-photochemical quenching and therefore photoprotective function were recorded between the two leaf groups. Hence, even though moving leaves receive extremely high irradiances, do not seem to suffer any photoinhibitory stress. These results and corresponding positive effects on other fluorescence parameters and leaf temperature, suggest that diaheliotropic leaf movement offers *M. sylvestris* the possibility to maximize photosynthetic performance during its short growth period.

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ α-ΕΛΙΚΟΕΙΔΩΝ
ΔΙΑΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ, ΔΥΟ ΠΑΘΟΓΟΝΩΝ
ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *Chlamydia*****Λιμήτσιου Ο.Κ., Προμπονάς Β.Ι. και Χαμόδρακας Σ.Ι.**Τομέας Βιολ. Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 157 84, Αθήνα

Τα είδη του γένους *Chlamydia* αποτελούν υποχρεωτικά, αρνητικά κατά gram, βακτηριακά παράσιτα. Συγκεκριμένα, τα είδη *Chlamydia trachomatis* και *Chlamydia muridarum* είναι δύο πολύ συγγενικά είδη αυτού του γένους, παθογόνα για τον άνθρωπο. Προσβάλλουν κυρίως το ουρογεννητικό σύστημα και προκαλούν σοβαρές μολύνσεις και οφθαλμικές παθήσεις με οξύτατα συμπτώματα. Η μολυσματική τους δράση και η μεγάλη τους εξάπλωση σε ανθρώπινους πληθυσμούς, επιβάλλει τη συστηματική τους μελέτη. Οι σημαντικές ιδιότητες των α-ελικοειδών διαμεμβρανικών (α-TM) πρωτεϊνών και η ανεπαρκής μελέτη τους στους παραπάνω οργανισμούς, μας οδήγησε στη δημιουργία ενός πρωτοκόλου για τη Συγκριτική Υπολογιστική Ανάλυση των α-TM πρωτεϊνών σε πλήρως προσδιορισμένα γονιδιώματα. Το πρωτόκολο αυτό εφαρμόστηκε στην περίπτωση των παραπάνω γονιδιωμάτων. Αρχικά, εντοπίσαμε τις ακολουθίες εκείνες που αντιστοιχούν σε α-TM πρωτεΐνες με κατάλληλο συνδυασμό μεθόδων που αναπτύχθηκαν από την ομάδα μας (PRED-CLASS, PRED-TMR). Στη συνέχεια, αντιστοιχίσαμε τις α-TM πρωτεΐνες των δύο γονιδιωμάτων με βάση την ομοιότητά τους σε επίπεδο ακολουθίας. Για το σκοπό αυτό, χρησιμοποιήσαμε το λογισμικό BLAST, θεωρώντας αντίστοιχες τις ακολουθίες εκείνες που εμφάνιζαν στατιστικά σημαντική ομοιότητα (E-value < 10^{-10} , Identities > 30%, Μήκος Στοίχισης > 80 κατάλοιπα). Με τη μελέτη αυτή, διαπιστώθηκε η μικρή διαφοροποίηση του περιεχομένου των δύο γονιδιωμάτων σε α-TM, καθιστώντας εφικτή την στοχευμένη μελέτη τους, για τη διαλεύκανση της παθογονικότητας και των ιδιοτήτων αυτών των ειδών. Το πρωτόκολο που προτείνουμε επιτρέπει τη συγκριτική ανάλυση οποιουδήποτε ζεύγους γονιδιωμάτων και είναι δυνατόν να επεκταθεί και σε άλλες οικογένειες πρωτεϊνών, όπως οι TM πρωτεΐνες της εξωτερικής μεμβράνης των αρνητικών κατά gram βακτηρίων που διαπερνούν τη μεμβράνη με δομή β-βαρελίων.

**COMPARATIVE COMPUTATIONAL ANALYSIS OF α -HELICAL
TRANSMEMBRANE PROTEINS FROM TWO PATHOGENIC
BACTERIA OF THE GENUS *Chlamydia***

Limitsiou O.K., Promponas V.J. & Hamdrakas S.J.

Dept of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, National & Kapodistrian
University of Athens, Panepistimiopolis, 157 84, Athens - Greece

Chlamydiae are obligate intracellular gram-negative bacterial parasites. Particularly, *Chlamydia trachomatis* and *Chlamydia muridarum* are two very closely related species, both pathogens of humans. They provoke serious infections of the urogenital system, cause severe inter-systemic infections and ocular infections sometimes leading to blindness. Their high human pathogenesis and wide spread into human populations demands a comprehensive and systematic study. Furthermore, the importance of α -helical transmembrane (α -TM) proteins and the insufficient knowledge about α -TM proteins in these two species, lead us to the establishment of a protocol for the Comparative Computational Analysis of α -TM proteins in completely sequenced genomes. This protocol has been employed for the study of the aforementioned organisms. The first step of this analysis was the detection of α -TM proteins, applying a proper combination of PRED-CLASS and PRED-TMR (algorithms developed in our lab). In a second step, we identified homologous sequences between the two species based on sequence similarity. For this task we used the well-known BLAST algorithm, counting as homologous a pair of sequences with statistically significant similarity (E-value $< 10^{-10}$, Identities $> 30\%$, Alignment Length > 80 residues). Our results indicate that only small differences exist in the content of these two genomes in α -TM proteins, thus enabling their targeted study for the further elucidation of pathogenesis and biology of these species. The proposed protocol facilitates the comparative analysis between any pair of genomes and may be extended for other protein families, for instance β -barrel outer membrane proteins of gram-negative bacteria.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ GA₃ ΚΑΙ NaCl ΣΤΗΝ ΒΛΑΣΤΗΣΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ
ΤΩΝ *Pimpinella anisum* L. ΚΑΙ *Rosmarinus officinalis* L.****Λιόπα-Τσακαλίδη Α.¹, Δρόσου Μ.², Ζακυνθινός Γ.³**

¹ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε., Ινστιτούτο Προστασίας Φυτών Πάτρας, Τ.Θ. 5149, 26004 Πάτρα. ²ΤΕΙ Καλαμάτας, Τμήμα Θερμοκηπίων Καλλιέργειών και Ανθοκομίας. ³Τ.Ε.Ι. Καλαμάτας, Εργαστήριο Δενδροκομίας-Λαχανοκομίας, Τμήμα Τεχνολογίας Γεωργικών Προϊόντων.

Η επίδραση του NaCl και του GA₃ στη βλάστηση των σπόρων των φυτών του γλυκάνισου (*Pimpinella anisum* L.) και του δεντρολίβανο (*Rosmarinus officinalis* L.) ήταν το αντικείμενο της παρούσας εργασίας. Εξετάσθηκε η επίδραση μιας σειράς διαλυμάτων NaCl και GA₃ σε διάφορες συγκεντρώσεις τόσο ως μοναδικά διαλύματα όσο και σε μεταξύ τους συνδυασμούς τους στην βλάστηση των σπόρων των παραπάνω φυτών. Η μελέτη έγινε σε ελεγχόμενες συνθήκες, σε κλιματιζόμενο θάλαμο ανάπτυξης φυτών σε τριβλία με 50 σπόρους για κάθε φυτό. Σε κάθε τριβλίο περιείχετο ως υπόστρωμα βλάστησης και ανάπτυξης 5ml διαλύματος. Τα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν ως υπόστρωμα ήταν: H₂O, GA₃ των 50,100, 200, 400 ppm, 0,05 mol/l NaCl, 50 ppm GA₃+0,05 mol/l NaCl, 100 ppm GA₃+0,05 mol/l NaCl, 200 ppm GA₃+0,05 mol/l NaCl, 400 ppm GA₃+0,05 mol/l NaCl. Ο έλεγχος της βλάστησης και της ανάπτυξης των φυτών γινόταν σε τακτά χρονικά διαστήματα από την τοποθέτηση των σπόρων στα τριβλία μέχρι την ημέρα που οι σπόροι δεν φύτρωναν πλέον.

Στο γλυκάνισο το ποσοστό των σπόρων που βλάστησαν κυμάνθηκε από 40-60% ανάλογα με το υπόστρωμα και ολοκληρώθηκε σε 24 ημέρες. Το NaCl φάνηκε να μην επηρεάζει την βλάστηση του γλυκάνισου αλλά να παρεμποδίζει την ανάπτυξη των φυταρίων σε σχέση με τον μάρτυρα (H₂O). Το GA₃ φάνηκε να καθυστερεί την βλάστηση των σπόρων, αλλά και να επιταχύνει την αύξηση του μήκους των φυταρίων.

Στο δεντρολίβανο το ποσοστό των σπόρων που βλάστησαν κυμάνθηκε χαμηλά και δεν ξεπέρασε το 12%. Η βλάστηση ξεκίνησε μετά από 7 ημέρες και η ανάπτυξη των φυταρίων διήρκησε σχεδόν ένα μήνα. Ο συνδυασμός NaCl και GA₃ φαίνεται να επηρεάζει την βλάστηση των σπόρων του δεντρολίβανου αλλά να έχει θετική ανταπόκριση στην ανάπτυξη των φυταρίων. Τα αποτελέσματα οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι όλα τα στάδια της ανάπτυξης των φυτών επηρεάζονται άμεσα ή έμμεσα από την επίδραση του NaCl και του GA₃.

**EFFECT OF GA₃ AND NaCl ON GERMINATION AND GROWTH OF
Pimpinella anisum L. AND *Rosmarinus officinalis* L.**

Liopa-Tsakalidis A.¹, Drosou M.², Zakynthinos G.³

¹N.AG.RE.F.-Plant Protection Institute of Patras, P.O. Box 5149, 26004 Patras

²Technological Education Institute of Kalamata, Dept of Greenhouse Crops and Floriculture

³Technological Education Institute of Kalamata, Dept of Technology of Agricultural Products, Laboratory of Pomology and Vegetable Crops,

The effect of NaCl and GA₃ on seed germination and plantlet growth of plants, anise (*Pimpinella anisum* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L) was the object of the present work. Fifty seed of each of the above mentioned plants were taken place into dishes petri. As germination substrates were used the solutions: H₂O, 50,100, 200, 400 ppm, GA₃, 0,05 mol/l NaCl, 50 ppm GA₃+ 0,05 mol/l NaCl, 100 ppm GA₃+0,05 mol/l NaCl, 200 ppm GA₃+0,05 mol/l NaCl, 400 ppm GA₃+0,05 mol/l NaCl. The dishes petri were taken place into growth chamber conditions. The monitoring of seed germination and plantlets growth was taking place in regular time intervals from the placement of seed in dishes petri up to the day where the seed were not germinated or growing up more.

The germination of anise seed was completed in 24 days. The germination percentage was averaged from 40 to 60%, depending on solution substrate. The NaCl solution appeared to have no influence in seed germination but to impede the later stage of plantlets growth in relation to the control solution (H₂O). The GA₃ delayed the germination of anise seed and it was accelerated to the increase of plantlets length.

The germination percentage of rosemary seed oscillated low and did not exceed more than 12%. The germination began after a incubation period of 7 days and the plantlets growth had a duration of one month. The combination solutions of NaCl and GA₃ influenced negatively the germination of rosemary seed, but it had positive correspondence to the later stage of plantlets growth. The results led to the conclusion that all the stages of seed germination and growth plantlets are directly or indirectly influenced by the effect of NaCl and GA₃.

**ΧΡΗΣΗ PROFILE HMMs ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΤΟ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟ
ΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΥΠΟΥ I ΚΑΙ ΤΥΠΟΥ II****Λίτου Ζ.Ι., Μπάγκος Π.Γ. και Χαμόδρακας Σ.Ι.**Τομέας Βιολ. Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 17584, Αθήνα

Οι πρωτεΐνες που διαπερνούν μόνο μία φορά την κυτταρική μεμβράνη, ταξινομούνται σε δύο κατηγορίες. Τις τύπου I μεμβρανικές πρωτεΐνες που έχουν το καρβοξυτελικό τους άκρο στο κυτταρόπλασμα και περιέχουν ένα πεπτιδίο οδηγητή, το οποίο αποκόπτεται, και τις τύπου II που έχουν το καρβοξυτελικό τους άκρο εξωκυτταρικά και έχουν το αμινοτελικό τους άκρο αγκυροβολημένο στη μεμβράνη ως διαμεμβρανικό τμήμα. Το διαμεμβρανικό τμήμα στις τύπου II πρωτεΐνες, είναι στην ουσία ένα πεπτιδίο οδηγητής, από το οποίο λείπει η ακολουθία που αναγνωρίζει η πεπτιδάση, ώστε να το αποκόψει. Η κατανομή των θετικά φορτισμένων καταλοίπων στις περιοχές εκατέρωθεν του διαμεμβρανικού τμήματος και η σύσταση του πεπτιδίου οδηγητή (είτε κόβεται είτε παραμένει αγκυροβολημένο στη μεμβράνη κατά την ενσωμάτωση του σ' αυτήν) είναι οι βασικοί παράγοντες που επηρεάζουν τον τελικό προσανατολισμό των πρωτεϊνών τύπου I και II στη μεμβράνη. Οι περιοχές αυτές, είναι επίσης σημαντικές στη σταθεροποίηση της διαμεμβρανικής έλικας. Σ' αυτή την εργασία, συλλέχθηκαν αξιόπιστα σύνολα μεμβρανικών πρωτεϊνών τύπου I και τύπου II και παρουσιάζεται μια εφαρμογή του πακέτου HMMER για την δημιουργία μιας προγνωστικής μεθόδου για αυτούς τους δύο τύπους πρωτεϊνών. Τα μοντέλα που κατασκευάστηκαν δείχνουν ότι μπορεί να γίνει πρόγνωση των πρωτεϊνών αυτών με ικανοποιητική ακρίβεια, κάτι που μέχρι τώρα ήταν αρκετά δύσκολο λόγω των παρόμοιων φυσικών ιδιοτήτων μεταξύ διαμεμβρανικών τμημάτων, πεπτιδίων οδηγητών και αγκυροβολημένων αμινοτελικών τμημάτων (signal-anchors). Η μέθοδός μας προσφέρει έναν ακριβή διαχωρισμό και υπερτερεί σε σύγκριση με τους γενικούς αλγόριθμους πρόγνωσης τοπολογίας που ήδη υπάρχουν. Στόχος μας είναι η δημιουργία ενός εργαλείου ιδιαίτερα χρήσιμου στη βιοπληροφορική και την πρωτεομική.

PROFILE HMMs FOR THE PREDICTION AND DISCRIMINATION OF TYPE I AND TYPE II MEMBRANE PROTEINS

Litou Z.I., Bagos P.G. & Hamodrakas S.J.

Dept of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University
of Athens, Panepistimiopolis, 15784 Athens - Greece

Proteins that span the cell membrane with a single transmembrane helix, can be classified into type I and type II membrane proteins. Type I membrane proteins have a signal sequence, which is cleaved and their C-terminal is located in the cytoplasm. Type II membrane proteins have a N-terminal signal-anchor, which acts as the membrane-spanning domain and also as a stop-transfer sequence, whereas their C-terminal is extracellular. The orientation (topology) of type I and II membrane proteins is determined by their amino acid sequence. The distribution of positively charged residues in the sequences flanking (overall flanking charges) the transmembrane domain and the signal sequence (cleaved off or retained as a transmembrane anchor during membrane insertion) are major factors, which influence the final orientation of a membrane protein. Flanking charged regions are also important for stabilizing the transmembrane helix having a stop-transfer function. In this work, we have collected up-to-date sets for type I and type II membrane proteins and we have applied the HMMER package to produce a reliable prediction method for these two types of membrane proteins. The models constructed, show that type I and II membrane proteins can be predicted with high accuracy. Until now, it was very difficult, to discriminate signal peptides from type II signal-anchors, and transmembrane segments, due to their similar physical properties; however, our method enables a robust and accurate discrimination. The superiority of this approach is apparent even when comparing against the top-scoring transmembrane topology prediction algorithms and may turn out to be a very useful tool in bioinformatics and proteomics research.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΥΔΡΟΞΥΟΥΡΙΑΣ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΕΝΗΛΙΚΟΥ: ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΠΟΥ ΕΜΠΛΕΚΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΑΥΞΗΣΗ ΤΗΣ ΕΜΒΡΥΪΚΗΣ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ

Λυκούση Σ.¹, Πατεράκης Γ.², Κούμπη Δ.³, Τσέργα Α.¹, Παπαδάκης Μ.⁴, Καρακατσάνης Ι.⁵, Ανδρούτσος Γ.⁶, Σέκερη Κ.⁷, Κλέτσας Δ.⁵, Κατελανή Μ.⁸, Βαμβακόπουλος Ν.¹, Μέριανου Β.⁹, Κόλλια Π.¹

Εργ. Βιολογίας, Ιατρική Σχολή, Παν/μιο Θεσσαλίας, Λάρισα. Εργ. Κυτταρομετρίας, Νοσοκ. "Γ. Γεννηματάς", Αθήνα. Α' Παθολογική Κλινική, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ. Μονάδα Προγεννητικού Ελέγχου, Λαϊκό Νοσ., Αθήνα. Εργ. Κυττ. Ανάπτυξης & Γήρανσης, Ινστ. "Δημόκριτος", Αθήνα. Αιματολογικό Εργ., Νοσ. "Γ. Γεννηματάς", Αθήνα. Εργ. Βιοχημείας Ιστών, Ινστ. "Δημόκριτος", Αιματολογικό Εργ., Γεν. Νοσοκομείο "Αγία Ολγα", Αθήνα. Μον. Μεταγίσεων, Γεν. Νοσοκ. "Αγία Ολγα", Αθήνα.

Η υδροξυουρία (HU) χορηγείται τα τελευταία χρόνια ως θεραπευτικό μέσο σε ασθενείς με δρεπανοκυτταρική αναιμία και β-θαλασσαιμία με σκοπό τη βελτίωση των κλινικών τους συμπτωμάτων μέσω της αύξησης της εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης (HbF). Η δράση της HU έχει μελετηθεί σε διάφορα συστήματα κυτταροκαλλιέργειών. Παλιότερες μελέτες έχουν δείξει ότι η HU στα K562 ερυθρολευχαιμικά κύτταρα καθώς και στα ανθρώπινα ερυθροκύτταρα ενηλίκου (hAEC) αυξάνει τη μεταγραφή των χαμηλής έκφρασης γονιδίων σφαιρίνης καθώς και την αποτελεσματικότητα του ματίσματος των μη ώριμων μεταγράφων. Ο σκοπός της εργασίας αυτής είναι να μελετηθεί ο ρόλος της HU στην ερυθροποίηση καθώς και οι κυτταρικοί και μοριακοί μηχανισμοί που συμμετέχουν στην αύξηση της HbF. Στη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκε υγρή καλλιέργεια ερυθροκυττάρων ενηλίκου δύο φάσεων, όπου στη δεύτερη φάση τα κύτταρα ωριμάζουν προς την ερυθρά σειρά μετά την προσθήκη ερυθροποιητίνης. Την 5^η ημέρα της φάσης II (στάδιο της προερυθροβλάστης) χορηγείται HU (100 και 300 μM) είτε συνεχώς για 1-4 ημέρες είτε διακεκομμένα (pulse treated) [αρχικά έκθεση στην HU για 1-3 ημέρες, κατόπιν πλύση και συλλογή κυττάρων την 8-14^η ημέρα της φάσης II]. Η επίδραση της HU στον αριθμό των κυττάρων μετρήθηκε με κυτταρομετρία ροής και δείχθηκε ότι η συνεχής έκθεση των κυττάρων στην HU είχε μια δόσο- και χρόνο- εξαρτώμενη επίδραση στον αριθμό τους σε αντίθεση με τη διακεκομμένη έκθεση (pulse treated). Ο αριθμός των F⁻κυττάρων προσδιορίστηκε με κυτταρομετρία ροής και με ανοσοκυτταροχημική χρώση (StreptAB-Complex/AP- SAP). Την ημέρα 0 της φάσης II κανένα F-κύτταρο δεν ανιχνεύθηκε ενώ μετά την προσθήκη HU (100μM/300μM) για 3 ημέρες ο αριθμός τους διπλασιάστηκε. Η μέτρηση αιμοσφαιρίνης έγινε με HPLC ιοντοανταλλαγής ενώ ο διαχωρισμός και ποσοτικοποίηση των αλυσίδων σφαιρίνης έγινε με HPLC αντίστροφης φάσης χρησιμοποιώντας τη στήλη C-18. Η επίδραση της HU προκάλεσε αύξηση στο ποσοστό HbF ανάλογη της συγκέντρωσής της, χωρίς όμως να επηρεαστεί ο λόγος των αλυσίδων Gγ/Αγ. Η ανίχνευση και ποσοτικοποίηση των γ-mRNA μεταγράφων έγινε με RT-PCR και ποσοτικό RT-PCR, αντίστοιχα, και δείχθηκε ότι η χαμηλότερη συγκέντρωση της HU (100μM) προκαλεί μια σημαντική αύξηση του γ-mRNA (1-4 ημέρες: 2.0 έως 4.0-φορές), ανάλογη του χρόνου έκθεσης των κυττάρων και της συγκέντρωσης του φαρμάκου. Σε αντίθεση, η HU σε συγκέντρωση 300μM οδηγεί σε μικρότερη αύξηση των επιπέδων του γ-mRNA (1.3-1.5-φορές) λόγω της κυτταροτοξικότητας που προκαλεί το φάρμακο. Η επίδραση της HU (100μM HU) στη σταθερότητα των mRNA μεταγράφων του γ-γονιδίου μελετήθηκε μετά την προσθήκη και της ακτινομυκίνης D (5μg/ml) για 1hr - 24hrs. Η προσθήκη της ακτινομυκίνης D για 24 ώρες προκάλεσε αύξηση 1.6-φορές στα επίπεδα των γ- mRNA μεταγράφων ενώ η έκθεση των κυττάρων σε υψηλότερες συγκεντρώσεις HU ή/και παρατεταμένη χορήγησή της οδήγησε σε μείωση των γ-mRNA μεταγράφων και του αριθμού F-κυττάρων. Συμπερασματικά, φαίνεται ότι η HU επηρεάζει την ερυθροποίηση και την παραγωγή εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης. Η δράση αυτή είναι δόσο- και χρόνο- εξαρτώμενη και επιτυγχάνεται μέσω μεταγραφικών και μετα-μεταγραφικών μηχανισμών.

MECHANISMS INVOLVED IN FETAL HEMOGLOBIN ELEVATION IN ADULT ERYTHROID CELL CULTURES TREATED WITH HYDROXYUREA

Likousi S.¹, Paterakis G.², Koumbi D.³, Tserga A.¹, Papadakis M.⁴, Karakatsanis I.⁵,
Androutsos G.⁶, Sekeri K.⁷, Kletsas D.⁵, Katelani M.⁸, Vamvakopoulos N.¹,
Merianou B.⁹, Kollia P.¹

¹Department of Biology, School of Medicine, University of Thessaly, Larissa. ²Flow Cytometry Laboratory, Department of Immunology, General Hospital of Athens "G. Gennimatas" ³First Department of Internal Medicine, Medical School of Athens, Athens. ⁴Unit of Prenatal Diagnosis, Laikon General Hospital, Athens. ⁵Laboratory of Cellular proliferation and Aging, Department of Biology, Demokritos Institute NCSR. ⁶Dept of Haematology, General Hospital of Athens "G. Gennimatas". ⁷Laboratory of Histones Biochemistry, Department of Biology, NCSR Demokritos Institute, Athens. ⁸Hematology Laboratory, General Hospital "Aghia Olga", Athens. ⁹Transfusion Unit, General Hospital "Aghia Olga", Athens

Hydroxyurea (HU) augments the production of fetal hemoglobin (HbF) in most sickle cell patients and is beneficial for some patients with β -thalassemia. Various cell culture systems have been used to elucidate the molecular mechanisms by which HU mediates these effects. We have previously demonstrated in both K562 human erythroleukemic cells and human adult erythroid cells (hAEC) that HU increases the transcription of low-expressed globin genes as well as the splicing efficiency of primary globin transcripts; however, other possible post-transcriptional effects could not be excluded. The aim of this study was to understand further the role of HU in erythropoiesis and the molecular mechanisms involved in gamma globin gene elevation. Erythroid cells in phase II were exposed to HU at day 5 (proerythroblast stage) either continuously (1-4 days) or were pulse treated [initially exposed to HU (1-3 days), then washed and harvested at day 8-14 days of phase II culture] over a range of HU concentrations (100 and 300 μ M). The effect of HU on cell number was measured by flow cytometry. Continuous exposure had a dose- and-time dependent effect on cell number, contrasting pulse treatment. HbF-cell numbers were determined from day 0 of phase II throughout phase II culture by flow cytometry and the immunocytochemical StreptABComplex/AP staining procedure (SAP). At day 0 of phase II no HbF cells were detected by either method; F-cell numbers increased 2-fold in cultures exposed to 100 μ M/300 μ M HU for 3 days. Hemoglobin measurement was done by ion exchange HPLC system while globin chain separation and quantification were done using a C-18 (RP) column on HPLC system. HU treatment caused a dose-dependent increase in HbF percentage but had no significant effect on G γ /A γ globin synthesis rates. Qualitative and quantitative RT-PCR evaluation of gamma-mRNA transcripts in normal hAEC showed that both HU concentrations caused a significant time- and dose-dependent increase in gamma globin mRNA (100 μ M HU, 1- 4 days: 2.0 to 4.0-fold); nevertheless, HU at 300 μ M HU led to a more modest increase in gamma-globin mRNA (1.3 -1.5-fold) because of cytotoxicity. HU effects on the stability of gamma-globin mRNA were analyzed in hAEC cultures-treated with HU and actinomycin-D (5 μ g/ml) for 1hr - 24hrs. Actinomycin D+100 μ M HU-treated hAEC cells exhibited a 1.6-fold increase in gamma globin mRNA at 24 hrs post-actinomycin D addition. Exposure at higher HU concentrations and/or prolongation of treatment had a toxic effect (decrease in both gamma globin mRNA and as well as cell numbers). In conclusion, the present study provides evidence that HU can stimulate erythropoiesis and increase Hb production in a dose- and-time dependent fashion; HU effects are mediated by transcriptional and post-transcriptional modulation of gamma globin gene expression.

ΝΕΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΡΠΕΤΟΠΑΝΙΔΑ ΤΗΣ ΛΙΒΥΗΣ**Λυμπεράκης Π., Καλιοντζοπούλου Α., Μυλωνάς Μ.**

Μουσείο Φυσικής Ιστορίας Κρήτης, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Λ. Κνωσού 71409 Ηράκλειο

Το Μουσείο Φυσικής Ιστορίας Κρήτης στο πλαίσιο της συγκριτικής μελέτης του φυσικού περιβάλλοντος της χώρας μας έχει οργανώσει πολλές ερευνητικές αποστολές σε γειτονικές χώρες. Έτσι το Μάρτιο του 1998 πραγματοποιήθηκε ερευνητική αποστολή στη Λιβύη, με κύριο στόχο τη συγκριτική μελέτη της πανίδας και της χλωρίδας της περιοχής της Κυρηναϊκής. Η χερσόνησος αυτή είναι η μοναδική περιοχή με μεσογειακό χαρακτήρα στην ανατολική Β. Αφρική. Απέχει από την Κρήτη όσο περίπου απέχει η τελευταία από την Αττική. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από τη συλλογή, επεξεργασία και αναγνώριση των δειγμάτων της ερπετοπανίδας. Συνολικά συλλέχθηκαν 128 ερπετά και αμφίβια. Η αναγνώρισή τους έγινε στο Μουσείο Φυσικής Ιστορίας Κρήτης όπου και στη συνέχεια καταλογογραφήθηκαν και κατατέθηκαν στις αντίστοιχες συλλογές. Τα αποτελέσματα της παραπάνω συλλογής προσθέτουν σημαντικά στοιχεία στις γνώσεις μας για την ερπετοπανίδα της περιοχής. Συλλέχθηκε επίσης σημαντικό συγκριτικό υλικό από είδη που υπάρχουν και στην Ελληνική ερπετοπανίδα.

NEW DATA ON THE HERPETOFAUNA OF LIBYA

Lyberakis P., Kaliontzopoulou A., Mylonas M.

Natural History Museum of Crete, University of Crete, Knossos Ave. 71409
Herakleion-Crete

The Natural History Museum of Crete has organized several scientific expeditions to adjacent countries as to collect comparative material for the study of the natural environment of Greece. In this frame during March 1998 an expedition was organized as to collect comparative data on the flora and fauna of Cyrenaica (Libya). This peninsula is the only area with a Mediterranean character in the east part of N. Africa. It's distance from Crete is approximately equal to the distance of the later from Attica. In this work we present the results from the collection, identification and analysis of the samples of the herpetofauna.

We collected in total 128 specimens of amphibians and reptiles. They were identified at the Natural History Museum of Crete where vouchers were deposited. The results from these collections add substantial elements to our overall knowledge of the Libyan herpetofauna as well as valuable comparative material for the study of the herpetofauna of the Eastern Mediterranean.

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΑΣ ΚΑΙ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ *Mauremys rivulata* (Valenciennes, 1833) (Chelonia: Bataguridae) ΣΤΟΝ ΑΛΜΥΡΟ ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ ΚΡΗΤΗΣ.Λυμπεράκης Π.¹, Πουρσανίδης Δ.², Μάντζιου Γ.^{1,3}¹Μουσείο Φυσικής Ιστορίας Κρήτης, Παν/μιο Κρήτης Λ. Κνωσού 71409 Ηράκλειο²Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας (ΠΣΕ:Διαχείριση Γεωργικών Οικοσυστημάτων),
Εσταυρωμένος, Ηράκλειο³Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Βιολογίας, Βασιλικά Βουτών, 71409 Ηράκλειο

Η ποταμοχελώνα *Mauremys rivulata*, είναι από τα είδη που έχουν μελετηθεί ελάχιστα στη χώρα μας (Μάντζιου, 2000). Η παρούσα εργασία έχει ως σκοπό την προσέγγιση δυο βασικών χαρακτηριστικών ενός πληθυσμού του είδους που βρίσκεται στην περιοχή του υγρότοπου Αλμυρού στο Ηράκλειο της Κρήτης. Συγκεκριμένα μελετήσαμε στοιχεία της δημογραφίας και δραστηριότητας του είδους. Η δημογραφία του είδους προσεγγίστηκε με τη μέθοδο της σύλληψης - επανασύλληψης. Η μελέτη της δραστηριότητας έγινε με τη μέθοδο της ραδιοτηλεμετρίας. Η μελέτη διήρκεσε από την 1^η Απριλίου ως τις 30 Ιουνίου 2003. Κατά τη διαδικασία της σύλληψης επανασύλληψης πιάστηκαν συνολικά 203 ζώα ενώ δέκα άλλα ζώα χρησιμοποιήθηκαν για το πείραμα της ραδιοτηλεμετρίας. Τεκμηριώθηκε η άποψη ότι ο Αλμυρός είναι σημαντική περιοχή για τη *M. rivulata* στην Κρήτη, δεδομένου του μεγέθους του πληθυσμού που βρέθηκε.

Όσο αφορά στη δραστηριότητα, τα ζώα περνούν πολύ μεγάλα διαστήματα μέσα στο νερό. Αυτό μπορεί να αποδοθεί είτε στην ανάγκη για εύρεση τροφής, είτε στα πλαίσια αποφυγής της θήρευσης είτε τέλος σε συνδυασμό των παραπάνω. Παρόλα αυτά βλέπουμε ότι τα ζώα έχουν ανάγκη δυο φορές την ημέρα να λιάζονται. Η διαδικασία αυτή συνδέεται με διάφορες λειτουργίες του ζώου (πέψη, σύνθεση βιταμινών, αποπαρασίτωση κ.α. Μάντζιου 2000). Με το προχώρημα της εποχής και τη συνεπακόλουθα αύξηση της θερμοκρασίας, αυξάνει και ο χρόνος δραστηριότητας που περνάνε τα ζώα μέσα στο νερό.

**DATA ON DEMOGRAPHY AND ACTIVITY PATTERNS OF
THE *Mauremys rivulata* (VALENCIENNES, 1833) (CHELONIA:
BATAGURIDAE) IN ALMYROS, HERAKLEION CRETE**

Lyberakis P.¹, Poursanidis D.², Mantziou G.^{1,3}

¹Natural History Museum of Crete, University of Crete, Knossos Ave. 71409
Herakleion – Crete

²School of Agronomic Technology (PSS: Management of Agricultural Ecosystems),
Estavromenos, Herakleion – Crete

³Faculty of Biology, University of Crete, Vassilika Vouton, 71409 Herakleion - Crete

The stripe-necked Terrapin (*Mauremys rivulata*) is a species poorly studied in Greece ((Mantziou 2000). The aim of the present study is to approach two basic characteristics of a population of the species situated in the wetland of Almyros, Irakleio Crete. We studied aspects of the species demography and activity. Demography was studied applying a capture – recapture method. To study the populations' activity we applied a radiotelemetric method. The study began the 1st of April and ended the 30 of June 2003. We captured in total 203 specimens during the capture – recapture procedure and 10 more animals were used for the radiotelemetry experiment.

The estimated population of the area substantiates the view that Almyros is an important area for the conservation of the species. In what concerns activity we found that the animals spend the larger part of their time in the water. This could be attributed to search for food, avoiding predators or a combination of the above. Nevertheless the terrapins devote part of their time to bask twice per day. This activity is connected with vital functions of the species, as digestion, vitamin synthesis, and disinfestations from ectoparasites etc (Mantziou 2000). The time spent in the water increases along with the passing from spring to summer and the consequent increase of temperature.

**ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ Η ΜΙΤΩΣΗ: ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΚΟΜΒΟΙ ΣΤΗ ΜΕΤΑΓΩΓΗ
ΣΗΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΟΔΟ ΤΟΥ RAS****Μάγκουρα Δ.***

Κέντρο Νευροεπιστημών, Ινστιτούτο Ιατρικών & Βιολογικών Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών

Μια κύρια διαφορά μεταξύ προγονικών και διαφοροποιημένων κυττάρων εστιάζεται στην έκφραση και λειτουργία διαφορετικών πρωτεϊνών κατά την ανάπτυξη. Με δεδομένο ότι η γενετική πληροφορία είναι ίδια για όλα τα κύτταρα ενός οργανισμού, η διαφοροποίηση εξαρτάται από τη ρύθμιση της μεταγραφής, την επεξεργασία και μετάφραση του mRNA και τις μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις των πρωτεϊνών. Αρκετά συχνά η μοίρα ενός κυττάρου καθορίζεται από την έκφραση ενός ή περισσότερων γονιδίων των οποίων τα προϊόντα μπορεί στη συνέχεια να ενεργοποιήσουν την έκφραση και άλλων γονιδίων. Η διαδικασία αυτή αποτελεί μια γενετική ιεραρχία η οποία είναι υπεύθυνη για την κυτταρική ανάπτυξη και διαφοροποίηση. Η απόφαση για πολλαπλασιασμό ή διαφοροποίηση *in vivo* λαμβάνεται μεταξύ γειτονικών κυττάρων μέσω εξωκυτταρικών σημάτων, τα οποία είναι εκκρινόμενα μόρια-πεπτίδια και θεωρούνται παράγοντες αύξησης. Σε αρκετές περιπτώσεις οι υποδοχείς των παραγόντων ανάπτυξης είναι τυροσινικές κινάσες και η πρόσδεση του αυξητικού παράγοντα προκαλεί την αυτοφωσφορυλίωση της ενδοκυτταρικής περιοχής της κινάσης του υποδοχέα. Αυτή η φωσφορυλίωση προκαλεί το επόμενο βήμα στον σηματοδοτικό καταρράκτη που, μέσω αλληπάλληλων φωσφορυλίωσεων ή/και αλληλεπιδράσεων πρωτεϊνών, καταλήγει στην ενεργοποίηση ενός ή περισσότερων μεταγραφικών παραγόντων.

Η σηματοδότηση μέσω των EGF-EGFR-Src-Ras-Raf-MEK-MAPK αποτελεί παράδειγμα οδού ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης κατά τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση. Ένα μόριο EFG προσδέεται σε γειτονικούς υποδοχείς με αποτέλεσμα το διμερισμό τους ο οποίος προκαλεί την αυτοφωσφορυλίωση της ενδοκυτταρικής περιοχής της τυροσινικής κινάσης και την αλληλοφωσφορυλίωση με την Src. Αυτές οι φωσφορυλίώσεις πυροδοτούν ένα καταρράκτη αντιδράσεων κατά τον οποίο η πρωτεΐνη προσαρμογέας SHC προσδέεται στον EGFR, ο προσαρμογέας GRB2 προσδέεται στο SHC, το SOS προσδέεται στο GRB2 και ενεργοποιεί το Ras ευοδώνοντας την ανταλλαγή GDP προς GTP στο Ras. Η ενεργοποίηση του Ras προκαλεί την εξαρτώμενη από PKC ενεργοποίηση των Raf κινασών (MAPKKKs), οι οποίες φωσφορυλιώνουν τις MAPK κινάσες (MAPKKs ή MEKs), που με τη σειρά τους φωσφορυλιώνουν την MAP κινάση ERK. Η ενεργοποιημένη ERK μεταναστεύει στον πυρήνα και δρα ως παράγοντας μεταγραφής ή ενεργοποιεί άλλους παράγοντες μεταγραφής όπως οι c-fos και c-jun. Με αυτό τον τρόπο, η οδός EGF-EGFR-Src-PKC-Ras-Raf-MEK-MAPK ελέγχει μια ποικιλία κυτταρικών λειτουργιών από την κυτταρική επιβίωση μέχρι τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση.

Η εξειδίκευση της οδού αυτής αποκτά περισσότερο ενδιαφέρον κατά την ανάπτυξη του ΚΝΣ όπου τα κύτταρα υποβάλλονται σε δραματικές αλλαγές των φαινοτύπων τους. Τα νευρικά προγονικά κύτταρα βαθμιαία οδηγούνται προς

* Προσκεκλημένη ομιλήτρια

τελικώς διαφοροποιημένους νευρώνες και διαφοροποιημένα - αλλά και με δυνατότητα αυτοαναγέννησης - αστροκύτταρα. Ο EFG χρησιμοποιεί την οδό του Ras για να τροποποιήσει το ενδογενές πρόγραμμα διαφοροποίησης των κοινών προγονικών κυττάρων, για να διατηρεί ικανούς αριθμούς κυττάρων, να κινητοποιεί προς ιστογένεση και παράλληλα να προκαλεί μια εντυπωσιακή ποικιλότητα μορφολογικών και λειτουργικών φαινοτύπων στα κύτταρα αυτά. Στην περίπτωση του Ras όλες οι διαδικασίες και αντιδράσεις που περιγράφηκαν παραπάνω λαμβάνουν χώρα στην πλασματική μεμβράνη μέσω αλληλεπιδράσεων με μεμβρανικά λιπίδια και τον μεμβρανικό κυτταροσκελετό. Ο τελευταίος είναι σημαντικός παράγοντας αφού ενορχηστρώνει μέσω προσαρμοστών ή πρωτεϊνικών σκαλωσιών τις ρυθμιστικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των συστατικών των σηματοδοτικών οδών. Ο μεμβρανικός κυτταροσκελετός αποτελείται από ένα ευέλικτο δίκτυο ινώδους ακτίνης (F-ακτίνη) και σπεκτρίνης το οποίο τοποθετείται ακριβώς κάτω από την πλασματική μεμβράνη. Μεγάλος αριθμός αναπτυξιακά-εξαρτώμενων πρωτεϊνών, που αλληλεπιδρούν με την ινώδη ακτίνη έχει εμπλακεί στη ρύθμιση κυτταρικών απαντήσεων σε εξωκυτταρικά ερεθίσματα. Ένα νέο πεδίο έρευνας αναδεικνύεται επομένως στην μεσόφαση μεταξύ των σηματοδοτικών οδών και τις αλληλεπιδράσεις με τον μεμβρανικό κυτταροσκελετό και πολλοί ερευνητές αναζητούν την εξειδίκευση των βιολογικών εκβάσεων των σηματοδοτικών οδών πάνω στις αλληλεπιδράσεις με τον κυτταροσκελετό της F-ακτίνης.

Δύο παραδείγματα που αναδεικνύουν τη διττή δράση του EGF θα συζητηθούν στη συνέχεια. Σε μια σειρά μελετών η οδός EGFR EGF-Src-Ras/Raf/MAPK έχει δείξει να οδηγεί σε διαφοροποίηση σε αστροκύτταρα. Εστιάζοντας στη τυροσινική κινάση Src η οποία αλληλεπιδρά με τον EGFR, αναπτύξαμε μια κυτταρική σειρά αστροκυττάρων C62B τα οποία εκφράζουν σταθερά μια επικρατή ανενεργή μορφή της Src. Η ανάλυση στο επίπεδο του ενός κυττάρου έδειξε σαφείς αλλαγές στην ενεργοποίηση της MAPK, στην πρόσβαση στον πυρήνα και εντέλει έδειξε μια εντυπωσιακή αλλαγή στην έκβαση της σηματοδότησης μέσω EGF από διαφοροποίηση σε μίτωση.

Το δεύτερο παράδειγμα εστιάζει στην σχέση ισορροπίας μεταξύ της έντονης ενεργοποίησης της οδού του Ras και της παράλληλης ενεργοποίησης της οδού της PLCγ η οποία οδηγεί στην εξαρτώμενη από τη PKC αρνητική ανάδραση στο Ras. Ειδικότερα, θα συζητηθούν αποτελέσματα που δείχνουν ότι η εξαρτώμενη από EGF ενεργοποίηση του Ras αναστέλλεται από την νευροϊνιδίνη και την Ras-GAP δραστηριότητά της. Αυτή η δράση της νευροϊνιδίνης εξαρτάται από την PKC και σχετίζεται με την αλληλεπίδρασή της με την F-ακτίνη. Αναλυτικές μελέτες των διαφορετικών επικρατειών της νευροϊνιδίνης υποδεικνύουν ότι η φωσφορυλίωση από την PKC συγκεκριμένων αμινοξικών καταλοίπων έξω από την επικράτεια GRD, ρυθμίζουν τη λειτουργία του μορίου ως RasGAP, οδηγώντας σε μίτωση. Τα δεδομένα που έχουμε συλλέξει υποδεικνύουν ότι η φωσφορυλίωση της νευροϊνιδίνης από την PKC είναι δυνατόν να λειτουργεί ως διακόπτης που οδηγεί σε αναστολή των πλειοτροπικών σηματοδοτικών οδών από τον EGF. Όλα τα παραπάνω οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η δημιουργία, η διαφοροποίηση και αργότερα η διατήρηση της ανατομίας και της φυσιολογίας του εγκεφάλου, ρυθμίζονται από τις αλληλεπιδράσεις των συστατικών στοιχείων της σηματοδότησης με πρωτεΐνες του κυτταροσκελετού της F-ακτίνης.

MITOSIS VERSUS DIFFERENTIATION: MOLECULAR NOTCHES OF SPECIFICITY IN THE RAS SIGNALING CASCADE**Mangoura D.***

Center for Neurosciences, Institute for Medical & Biological Research of The Academy of Athens, Athens, Greece

In development, the difference between progenitor and differentiated cells draws from the expression and functional use of different proteins. As every cell carries the same genetic information and DNA is not generally gained or lost among cells of the same organism, differentiation depends on regulation of transcription, RNA processing in the nucleus, mRNA translation, and posttranslational modifications of their protein products. Often, the initial expression of one gene is responsible for a cell's fate, as its product may then trigger the expression of other genes. This creates a genetic hierarchy responsible for cell development and differentiation. The decision to proliferate or differentiate *in vivo*, and when, is coordinated among neighbouring cells. This occurs through extra-cellular signals, in the form of secreted molecules or peptides, mostly thought as growth factors. Often, growth factor receptor proteins are tyrosine kinases, and the binding of the growth factor molecule to the external domain of the receptor will trigger the autophosphorylation of the internal kinase domain. This phosphorylation will then trigger the next step in the signalling cascade, and a pathway of protein activation via binding or phosphorylation will unfold in what causes the activation of one or more transcription factors.

The EGF-EGFR-Src-Ras-Raf-MEK-MAPK signalling cascade is an example of this kind of differentiation and proliferation gene expression-regulating pathway. An EGF molecule binds to each of two adjacent epidermal growth factor receptor (EGFR) integral membrane proteins, which then dimerize. This dimerization triggers the auto-phosphorylation of the internal tyrosine kinase domain of the receptor and interphosphorylation with Src. Post autophosphorylation, an intracellular activation signalling cascade begins, as SHC adaptor protein binds to EGFR, GRB2 adaptor binds to SHC, SOS binds to GRB2 and activates Ras GTPase, mediating Ras' GDP to GTP exchange. Ras GTPase activation causes the PKC-dependent activation of Raf kinases (MAPKKKs), which then phosphorylate MAPK kinases (MAPKKs or MEKs), which in turn phosphorylate the MAP kinase ERK. Activated ERK migrates into the nucleus and acts as a transcription factor itself, or activates other transcription factors, like c-fos and c-jun. Indeed a EGF-EGFR-Src-PKC-Ras-Raf-MEK-MAPK controls a multitude of cellular process from cell survival and growth to differentiation.

Particularly in CNS development, the specificity of the pathway is more intriguing, as cells undergo fundamental changes in their phenotypes. Neural progenitor cells gradually become restricted to terminally differentiated neurons and differentiated yet self-renewing astrocytes. EGF utilizes the Ras pathway to modify the intrinsic program of these common progenitors, generate adequate cell numbers, mobilize

* Invited speaker

them for histogenesis, and concurrently achieve a remarkable diversity of morphological and functional phenotypes within the two cell lineages.

In the case of Ras, all the key events (initial binding of growth factor and the subsequent autophosphorylation of receptor tyrosine kinases, coupling of SH2 domain-containing adaptor molecules, translocation of nucleotide exchange factors, loading of Ras with GTP and binding and activation of its effectors, i.e., Raf) occur at the plasma membrane via interactions with membrane lipids and the membrane (or cortical) cytoskeleton. The membrane cytoskeleton is a flexible filamentous (F-) actin and spectrin network, which lays beneath the plasma membrane. F-actin binding proteins are also known to control a multitude of cellular responses to extracellular stimuli. More interesting is the fact that the expression of the majority of these proteins increases with development. A number of regulated interactions among specific components of the signaling molecules that initiate a growth factor cascade require interactions with the cortical cytoskeleton, directly or mediated through adaptor or scaffolding proteins. Therefore, a new field of study has emerged, as the interphase of the signaling cascades and its interactions with the cortical cytoskeleton and many scientists seek the specificity signaling cascades towards mitosis or differentiation in their interactions with the F-actin cytoskeleton.

Two paradigms encompassing this dual action of EGF will be discussed. In a series of studies, the EGF- EGFR-Src-Ras-Raf-MAPK pathway was established to signal differentiation in astrocytes. Focusing on elucidating the role of the EGFR partner tyrosine kinase Src, we generated a C62B astrocytoma cell line stably expressing a dominant-negative, kinase-dead, mutant Src. Analysis at the single cell level shows significant changes in the activation of MAP kinase, in the access of the signaling complexes to the nucleus, and finally a profound switch in the biological outcome of EGF signaling from differentiation to mitosis.

The second paradigm focuses on the balance between robust activation of the mitogenic Ras pathway or the concurrently activated PLCgamma pathway, which initiates a PKC-mediated negative feedback on Ras. Specifically, we will discuss evidence that the EGF-dependent stimulation of Ras is decreased by neurofibromin's activity as a Ras-GAP, in a PKC-dependent and actin-association-dependent fashion. Studies analyzing different neurofibromin domains suggest that PKC-phosphorylation of residues beyond the GAP domain regulate neurofibromin's Ras-GAP function, leading to mitosis. Our data suggest that PKC phosphorylation of neurofibromin may serve as the "off" switch in the pleiotropic EGF-generated signaling cascades.

Taken together the genesis, differentiation and later on the maintenance of a tissue intricate anatomy and physiology, is regulated by the interactions of signaling cascades components with the F-actin cytoskeleton proteins.

**ΟΙ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΙΟΥ ΤΩΝ ΑΡΘΡΟΠΟΔΩΝ:
ΜΙΑ ΣΧΕΣΙΑΚΗ ΒΑΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΤΟΥΣ****Μαγκριώτη Χ.Κ., Σπυρόπουλος Γ.Κ., Οικονομίδου Β.Α. και Χαμόδρακας Σ.Ι.**Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 84 Ζωγράφου Αθήνα

Τα Αρθρόποδα αποτελούν το μεγαλύτερο φύλο, σε αριθμό ειδών, στον πλανήτη. Περιλαμβάνουν ομάδες, όπως τα Έντομα, οι Αράχνες, τα Καρκινοειδή κ.α. Το χαρακτηριστικό που κυρίως ευθύνεται για την επικράτησή τους είναι το σκληρό και υδατοστεγές περίβλημά τους, που φέρει την ονομασία δερμάτιο. Το δερμάτιο έχει εντυπωσιακές μηχανικές ιδιότητες, η ερμηνεία των οποίων απαιτεί κατανόηση των κύριων δομικών συστατικών του (ινίδια χιτίνης και πρωτεΐνες) και των αλληλεπιδράσεών τους, σε ατομικό επίπεδο. Εργαζόμενοι προς αυτήν την κατεύθυνση, κατασκευάσαμε μία σχεσιακή βάση δεδομένων των πρωτεϊνών του δερματίου. Αυτή αποτελείται από καθαρά δομικές πρωτεΐνες και πρωτεΐνες ποικίλων λειτουργιών, όπως χιτινάσες, χρωστικές κ.α. Έμφαση δίνεται στις δομικές πρωτεΐνες, εξ' αιτίας της σημασίας τους στο χτίσιμο του δερματίου. Αυτές εμφανίζουν πολλά 'μοτίβα', με πιο σημαντικό το 'μοτίβο' R&R που πρωτοαναγνωρίστηκε από τους Rebers και Riddiford στη μορφή G-x(8)-G-x(6)-Y-x-A-x-E-x-G-Y-x(7)-P-x(2)-P, (όπου x=οποιοδήποτε αμινοξικό κατάλοιπο), και αργότερα τροποποιήθηκε και επεκτάθηκε. Σήμερα, είναι κατατεθειμένο στην Pfam ένα εκτεταμένο 'μοτίβο' 68 α.κ. (PF00379), που θεωρείται υπεύθυνο για την αλληλεπίδραση με τη χιτίνη και ουσιαστικά διακρίνεται σε τρεις τύπους (RR1, RR2, RR3). Προκειμένου να συλλέξουμε την πρωτογενή πληροφορία για τη βάση μας, αρχικά συγκεντρώσαμε από τις βάσεις SwissProt και ENTREZ τις πρωτεΐνες που περιείχαν τη λέξη δερμάτιο στο σχολιασμό τους και στη συνέχεια τις κατηγοριοποιήσαμε με βάση την ύπαρξη ή όχι του εκτεταμένου R&R (PF00379). Επίσης, αναζητήσαμε το μοτίβο PF00379 στα πρωτεώματα των *Anopheles gambiae* και *Drosophila melanogaster*. Για περαιτέρω κατάταξη των πρωτεϊνών, που φέρουν την υπογραφή R&R στους τρεις τύπους RR1, RR2 και RR3, δημιουργήθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν profile Hidden Markov Models.

THE ARTHROPOD CUTICULAR PROTEINS ORGANIZED IN A RELATIONAL DATABASE

Magkrioti C.K., Spyropoulos J.C., Iconomidou V.A. & Hamodrakas S.J.

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens,
Panepistimiopolis, 157 84, Athens - Greece

Arthropods are the largest phylum on Earth. Some of their representatives are Insects, Aranae (spiders), Crustacea etc. Their prevalence can basically be attributed to their stiff and waterproof shell, named cuticle. The cuticle has some very impressive mechanical properties, which will only be understood after having an intimate knowledge of its basic components and their interactions at atomic level: chitin microfilaments and proteins. Working on this direction, we created a relational database of cuticular proteins. This database includes structural proteins and proteins of various functions, such as chitinases, pigments, etc. Emphasis is given on structural proteins. These bear a variety of motifs, the most important of which is the R&R motif, first identified by Rebers and Riddiford in the form G-x(8)-G-x(6)-Y-x-A-x-E-x-G-Y-x(7)-P-x(2)-P, (x=any aminoacid) and later modified and extended. Its extended version, 68 aminoacids long (PF00379), is thought to be responsible for the chitin-protein interaction and can be distinguished in three types (RR1, RR2, RR3). In order to construct our database we used two methods: the collection of all SwissProt and ENTREZ protein entries with the word "cuticle" in their annotation and the search for the existence of the extended version of the R&R motif in the *Anopheles gambiae* and *Drosophila melanogaster* proteomes. The proteins collected were then divided into two categories based on the existence or not of the extended motif (PF00379). For the proteins containing the R&R signature, a further classification was made using profile Hidden Markov Models for the three R&R types.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ ΣΤΑ ΑΙΜΟΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΔΙΠΤΕΡΟΥ
ΕΝΤΟΜΟΥ *Ceratitis capitata*****Μάμαλη Ε., Τσάκας Σ., Μίτσεβα Η.*, Λαμπροπούλου Μ., Μαρμάρας Β.**Εργαστήριο Βιολογίας - Τμήμα Βιολογίας, *Εργαστήριο Αιματολογίας - Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Πατρών

Απόπτωση ονομάζεται ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος και είναι μία θεμελιώδης διαδικασία για την ανάπτυξη των πολυκύτταρων οργανισμών. Είναι ουσιαστικά ένας φυσιολογικός μηχανισμός αυτοκτονίας των κυττάρων που συμβάλει στην οργάνωση και στην ομοιόσταση των οργανισμών. Στην εργασία αυτή μελετήθηκε η απόπτωση στα αιμοκύτταρα του δίπτερου *Ceratitis capitata* κατά το 3^ο προνυμφικό στάδιο ανάπτυξης του εντόμου καθώς και η σχέση της με τις κινάσες FAK, ERK, Src και Akt. Η μελέτη της απόπτωσης πραγματοποιήθηκε με κυτταρομετρία ροής με τη μέθοδο της αννεξίνης, καθώς και με ανοσοϊστοχημική ανίχνευση αποπτωτικών αιμοκυττάρων με την μέθοδο TUNEL. Τα πρώτα αποτελέσματα έδειξαν την ύπαρξη αποπτωτικών αιμοκυττάρων κατά την ανάπτυξη, με μέγιστο στο στάδιο της λευκής νύμφης. Στη συνέχεια διερευνήθηκε ο ρόλος των κινασών, στους μηχανισμούς απόπτωσης. Με SDS-PAGE και ανοσοαποτύπωμα φάνηκε ότι κατά την ανάπτυξη του εντόμου, τα επίπεδα έκφρασης και ενεργοποίησης και των τεσσάρων κινασών μεταβάλλονται. Με παράλληλα πειράματα, παρουσία του ALLN, ενός αναστολέα της πρωτεάσης καλπαΐνης (calpain), διαπιστώθηκε ότι οι κινάσες αυτές ρυθμίζονται από την καλπαΐνη. Από το αναπτυξιακό πρότυπο της απόπτωσης και των ενεργοτήτων των FAK και ERK, συμπεραίνεται ότι τα δύο αυτά μόρια είναι ενδεχόμενο να δρουν ως παράγοντες επιβίωσης και όχι ως παράγοντες απόπτωσης. Η πρωτεόλυση της FAK έχει άμεσο αντίκτυπο στο πρότυπο έκφρασης της ERK, γεγονός που υποδεικνύει και την πιθανή συμμετοχή των δύο κινασών σε κοινό σύμπλοκο. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής, υποδηλώνεται η πιθανή συμμετοχή των κινασών FAK και ERK στην απόπτωση ως παράγοντες επιβίωσης και προτείνεται η ακόλουθη σειρά ενεργοποιήσεων στην οποία συμμετέχουν οι κινάσες αυτές: Calpain → FAK → Src → ERK.

STUDY OF THE APOPTOSIS IN HEMOCYTES OF THE DIPTERA INSECT *Ceratitis capitata*

Mamali I., Tsakas S., Micheva I.*, Lampropoulou M., Marmaras V.

Lab of Biology - Dept of Biology, *Lab of Hematology - Dept of Medicine, University of Patras

The programmed cell death is called apoptosis and it is a fundamental process in the development of multi-cellular organisms. In fact, it is a physiological suicide mechanism, which contributes in homeostasis and development.

In the present study, apoptosis was investigated in the hemocytes of the 3rd instar larvae of the diptera insect *Ceratitis capitata*. The relation of apoptosis with the kinases FAK, ERK, Src and Akt was also examined. Apoptosis was studied with flow cytometry according to Annexin V method and with immunohistochemical detection of apoptotic hemocytes with TUNEL.

Flow cytometry and microscopy showed the existence of apoptotic hemocytes developmentally, with a peak at the white pupa stage. The role of kinases in the regulation of apoptosis was examined with SDS-PAGE and immunoblots. It was revealed that the expression and the activation of all four kinases were altered during development. In addition, the presence of ALLN, a calpain (protease) inhibitor, showed that all these kinases were under calpain regulation. Due to the developmental profile of apoptosis and the activities of FAK and ERK, it is suggested that these two molecules act as surviving agents rather than apoptotic ones. The proteolysis of FAK seemed to cause a direct effect on the expression of ERK, a fact that leads to the hypothesis of the possible participation of the two kinases in a common protein complex.

The results of this study suggest the possible involvement of the kinases FAK and ERK as surviving agents, in the apoptotic process, in the hemocytes. In addition, kinases proposed to be activated according to the following signaling pathway: Calpain → FAK → Src → ERK.

**ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΚΟΡΤΙΖΟΝΗΣ ΣΕ
ΗΠΑΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΕΠΙΜΥΟΣ****Μανιάτη Ε., Κατσώρχης Θ.¹, Μαλούχου-Γκρίμπα Β.**Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο
Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784, Ζωγράφου Αθήνα¹Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784, Ζωγράφου Αθήνα

Το ήπαρ είναι το κεντρικό όργανο του μεταβολισμού που παρεμβάλλεται μεταξύ του τόπου απορρόφησης των θρεπτικών ουσιών και των οργάνων κατανάλωσης τους. Πολυάριθμες μεταβολικές αντιδράσεις επιτελούνται αποκλειστικά σ' αυτό. Η ιδιαίτερη σπουδαιότητα του ήπατος οφείλεται στη λειτουργία του, στην αποτοξίνωση ουσιών που παράγονται στον οργανισμό καθώς και ξένων ουσιών. Στη συγκεκριμένη εργασία γίνεται ιστολογική μελέτη ηπατικού παρεγχύματος από φυσιολογικό επίμυ καθώς και ηπατικού ιστού επίμυ μετά από χορήγηση κορτιζόνης. Η χρώση του ιστού έγινε με χρωστική Toluidine blue σε 1% διάλυμα βορικού νατρίου. Η χρωστική αυτή ανήκει στην κατηγορία των βασικών χρωστικών, οι οποίες αντιδρούν με ανιονικά συστατικά των κυττάρων και των ιστών και έτσι βάφονται η ετεροχρωματίνη και οι πυρηνίσκοι καθώς και διάφορα άλλα κυτταροπλασματικά συστατικά. Για τη μελέτη της επίδρασης της κορτιζόνης στο ζώο, χορηγήθηκαν 30g κορτιζόνης ανά kg βάρους σώματος του ζώου, μετά από τρεις ώρες αυτό θανατώθηκε και αφαιρέθηκε το ήπαρ του. Ιστολογική παρατήρηση και σύγκριση με φυσιολογικό ηπατικό ιστό έδειξε ότι μειώνεται ο αριθμός των ηπατικών κυττάρων ανά οπτικό πεδίο. Τα κύτταρα παρουσιάζουν αλλοιωμένη μορφολογία, σε ορισμένα ο πυρήνας εμφανίζει μικρότερο μέγεθος από το φυσιολογικό και ανώμαλο σχήμα ενώ σε άλλα είναι μεγαλύτερος. Τα αιμοφόρα αγγεία εμφανίζονται διογκωμένα. Επιπλέον παρατηρούμε περισσότερα κύτταρα να βρίσκονται σε φάση διαίρεσης. Κατανοούμε, λοιπόν, ότι η συγκεκριμένη δόση κορτιζόνης προκαλεί απόπτωση ηπατικών κυττάρων ενώ σε άλλα προκαλεί σοβαρές αλλοιώσεις έτσι όπως εκφράζεται στη μορφολογία τους. Λόγω όμως της έντονης αναγεννητικής ικανότητας του ήπατος προκειμένου να αναπληρωθούν οι απώλειες κυττάρων αυξάνεται ο αριθμός των διαιρέσεων, όπως παρατηρήσαμε.

HISTOLOGICAL STUDY OF THE EFFECTS OF CORTISONE ON RAT'S HEPATIC CELLS

Maniati E., Katsorchis Th.¹, Malouhou-Gkrimba V.

Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, National & Kapodistrian
University of Athens, Panepistimioupolis, 15784, Zografou, Athens Greece

¹Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology, National & Kapodistrian
University of Athens, Panepistimioupolis, 15784, Zografou, Athens Greece

The liver is the central organ of metabolism, which interposes between the place where food materials are absorbed and the organs that consume them. The great importance of liver is due to the fact that it contributes in the detoxification of substances, which are produced by the organism itself or come from the environment. This assignment concerns to the comparative histological study between normal hepatic tissue and hepatic tissue of rat after it was given cortisone. The coloring agent Toluidine Blue 1% solution of sodium boric was used to colour the tissue. This substance belongs to the category of basic colour agents that react with anionic substances of the cells. It colours heterochromatin, nucleoli and other cytoplasmic substances.

For the study of the effects of cortisone the animal was given 30g of this substance every 1kg of its weight. After three hours it was killed and its liver was removed. Histological observation and comparison with the normal hepatic tissue showed that the number of hepatic cells reduces. In addition, the hepatocytes seem to have abnormal form and in some of them the nucleus has irregular shape whereas in others it is larger. The sinusoids also seem to be swelled. Furthermore, it can be distinguished that many cells are in the phase of division. We can assume that this certain dose of cortisone was fatal for many hepatocytes and caused several abnormalities to others. Due to the fact that the liver has great regenerative potential in order the number of cell deaths to be increased, the rate of cell division increases, as we observed.

**ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ Χ ΣΕ
ΗΠΑΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΕΠΙΜΥΟΣ****Μανιάτη Ε., Κατσώρχης Θ.¹, Μαλούχου-Γκρίμπα Β., Σπορδίλη Ε.**Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο
Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784, Ζωγράφου Αθήνα¹Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784, Ζωγράφου Αθήνα

Το ήπαρ είναι ο μεγαλύτερος αδένας του σώματος. Η ιδιαίτερη σπουδαιότητα του ήπατος, όμως, οφείλεται στη λειτουργία του στην αποτοξίνωση ουσιών που παράγονται στον οργανισμό καθώς και ξένων ουσιών. Στη συγκεκριμένη εργασία γίνεται ιστολογική μελέτη ηπατικού παρεγχύματος από φυσιολογικό επίμυ καθώς και ηπατικού ιστού επίμυ μετά από επίδραση ακτινοβολίας Χ. Η χρώση του ιστού έγινε με χρωστική Toluidine blue σε 1% διάλυμα βορικού νατρίου. Η χρωστική αυτή ανήκει στην κατηγορία των βασικών χρωστικών, οι οποίες αντιδρούν με ανιονικά συστατικά των κυττάρων και των ιστών και έτσι βάφονται η ετεροχρωματίνη και οι πυρηνίσκοι καθώς και διάφορα άλλα κυτταροπλασματικά συστατικά.

Για τη μελέτη της επίδρασης της ακτινοβολίας Χ, το ζώο ακτινοβολήθηκε με δόση 600 rad, στη συνέχεια αφαιρέθηκε το ήπαρ και μετά από κατάλληλη επεξεργασία έγινε ιστολογική παρατήρηση και σύγκριση με εικόνες φυσιολογικού ηπατικού ιστού. Παρατηρήθηκε στον ιστό που επέδρασε ακτινοβολία Χ ότι ο αριθμός ηπατικών κυττάρων ανά οπτικό πεδίο είναι μικρότερος. Το γεγονός αυτό πιθανόν οφείλεται στο ότι η συγκεκριμένη δόση ακτινοβολίας προκάλεσε το θάνατο πολλών κυττάρων. Παρατηρείται επίσης ότι ορισμένα κύτταρα παρουσιάζουν ανωμαλίες στη μορφολογία τους. Ορισμένα εμφανίζονται διογκωμένα και ο πυρήνας τους παρουσιάζει ανώμαλο σχήμα. Επιπλέον υπάρχει αύξηση των κυτταρικών διαιρέσεων στον ιστό μετά την επίδραση της ακτινοβολίας. Είναι γνωστό ότι το ήπαρ εμφανίζει έντονη αναγεννητική ικανότητα, έτσι λοιπόν έχει τη δυνατότητα με κυτταρικές διαιρέσεις να αποκαταστήσει τις απώλειες των κυττάρων.

HISTOLOGICAL STUDY OF THE EFFECTS OF RADIATION X ON RAT'S HEPATIC CELLS

Maniati E., Katsorchis Th.¹, Malouhou-Gkrimba V., Spordili E.

Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, National & Kapodistrian
University of Athens, Panepistimioupolis, 15784, Zografou, Athens Greece

¹Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology, National & Kapodistrian
University of Athens, Panepistimioupolis, 15784, Zografou, Athens Greece

The liver is the largest gland of the body. The great importance of liver is due to the fact that it contributes in the detoxification of substances, which are produced by the organism itself or come from the environment. This assignment concerns to the comparative histological study between normal hepatic tissue and hepatic tissue of rat after it was radiated. The coloring agent Toluidine Blue 1% solution of sodium boric was used to colour the tissue. This substance belongs to the category of basic colour agents that react with anionic substances of the cells. It colours heterochromatin, nucleoli and other cytoplasmic substances.

For the study of the effects of radiation X the animal was radiated by a dose of 600rads, the animal was killed and its liver was removed. After the necessary procedure, histological observation and comparison with the normal hepatic tissue showed that the number of hepatic cells reduces. This is, probably, due to the fact that the dose of radiation we used was fatal for many cells and also caused several abnormalities in the shape of others. In particular, some of the hepatocytes seem to be swelled and others have irregular shape of the nucleus. Furthermore, it can be distinguished that many cells, in the tissue, which was radiated, are in the phase of division. It is known that the liver has great regenerative potential, so it is able to face the loss of cells by cell divisions.

**ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΑΦΙΔΑΣ *Myzus persicae* ΣΤΟΝ ΚΑΠΝΟ.
ΜΙΑ ΕΞΕΛΙΚΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ****Μαργαριτόπουλος Ι.Τ.¹, Τσιτσιπής Ι.Α.¹, Blackman R.L.², Singehara T.³
και Η. Takada³**

¹Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Οδός Φυτόκου, 384 46, Ν. Ιωνία, Μαγνησία, ²Department of Entomology, The Natural History Museum, Cromwell Road, London SW7 5BD, UK, ³Kyoto Prefectural University, Kyoto, Japan

Απόψεις για τη διαφορετική ταξινομική κατάσταση των πληθυσμών του *Myzus persicae* που τρέφονται στον καπνό διατυπώθηκαν από τις αρχές του προηγούμενου αιώνα. Ωστόσο, απτές αποδείξεις παρουσιάσθηκαν τις δυο περασμένες δεκαετίες κυρίως μέσω μορφολογικών μελετών. Το 1987 ο Blackman απέδειξε τη διαφορετική μορφολογία των πληθυσμών που τρέφονται στον καπνό σε σχέση με αυτούς από άλλους ξενιστές εξετάζοντας δείγματα από διάφορες περιοχές της γης με τη μέθοδο της σωματομετρίας. Επιπρόσθετες αποδείξεις ανακοινώθηκαν πρόσφατα όταν η ίδια μέθοδος εφαρμόσθηκε σε περισσότερες από 350 παρθενογενετικές σειρές που συλλέχθηκαν από περιοχές που καλλιεργείται ή δεν καλλιεργείται καπνός, στην Ελλάδα, στη νότια Ιταλία, στη δυτική Ευρώπη και στην Ιαπωνία και εκτράφηκαν σε όμοιες συνθήκες. Τα νέα δεδομένα έδειξαν ότι οι πληθυσμοί του καπνού εξακολουθούν να διαφοροποιούνται μορφολογικά από αυτούς που τρέφονται σε άλλους ξενιστές ανεξάρτητα από τη γεωγραφική προέλευση. Η διαφοροποίηση υπάρχει ακόμη και σε χώρες όπου τα δυο taxa μπορούν και αναπαράγονται σεξουαλικά (π.χ. Ελλάδα, Ιαπωνία) και συνεπώς υπάρχει δυνατότητα υβριδισμού. Επίσης, έχει αποδειχθεί ότι τα δυο taxa μπορούν και συνυπάρχουν στην ίδια περιοχή. Η γνώση που αποκτήθηκε τα τελευταία 15 έτη καθιστά σαφές ότι η προσαρμογή στον καπνό είναι ένα μοναδικό εξελικτικό γεγονός, σταθερό στο χρόνο και σε γεωγραφικά απομονωμένους πληθυσμούς που έχουν εξελιχθεί ανεξάρτητα.

**ADAPTATION TO TOBACCO IN *Myzus persicae*,
WAS IT A UNIQUE EVENT?**

**Margaritopoulos J.T.¹, Tsitsipis J.A.¹, Blackman R.L.², Singehara T.³
& H.Takada³**

¹Laboratory of Entomology and Agricultural Zoology, Department of Agriculture Crop Production and Rural Environment, University of Thessaly, Fytokou str., 384 46, Nea Ionia, Magnesia, ²Department of Entomology, The Natural History Museum, Cromwell Road, London SW7 5BD; ³Kyoto Prefectural University, Kyoto, Japan

The different status of the *Myzus persicae* populations feeding on tobacco has been recognised for many years. In 1987 Blackman revealed using multivariate morphometric analysis that populations from tobacco had a different pattern of morphometric correlations to those from other hosts collected throughout the world. Additional supportive evidence was recently provided, when the same technique was applied to more than 350 clones collected in tobacco-growing and non tobacco-growing regions in Greece, southern Italy, Western Europe and Japan, and reared on non-tobacco host plants in a controlled environment. The tobacco-adapted populations continue to differentiate from those feeding on other crops irrespective of the region of origin, even in countries where both forms have the ability to reproduce sexually (i.e. Greece, Japan) and consequently there is a potential for interbreeding. It has also been proved that both forms are able to coexist in the same locality. The information provided by multivariate morphometrics over the last 15 years suggests that adaptation to tobacco occurred as a single evolutionary event that has persisted through time and in geographically separate populations that have been evolving independently.

**ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΤΩΝ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ
ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ ΚΑΙ
ΔΙΑΒΗΤΙΚΗ ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑ**

Μαργέτης Π.Ι., Αντωνέλου Μ.Χ., Παπασιδέρη Ι.Σ., Μπάγκος Π.
και Λ.Χ. Μαργαρίτης

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784, Αθήνα

Ο Σακχαρώδης Διαβήτης (ΣΔ) είναι μία ασθένεια του μεταβολισμού που σχετίζεται κυρίως με υπεργλυκαιμία και δομικές βλάβες στα τριχοειδή. Οι τελευταίες συχνά οδηγούν σε μικροαγγειοπάθεια, όπως είναι η διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια (ΔΑ). Αντίστοιχες παθολογικές μεταβολές στα ερυθροκύτταρα είναι η μείωση της ελαστικότητας και της ρευστότητας της μεμβράνης. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η ανίχνευση των τροποποιήσεων των πρωτεϊνών της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης σε 19 ασθενείς με ΣΔ και 29 ασθενείς με ΔΑ σε σχέση με ένα δείγμα-μαρτύρων (16 υγιή άτομα). **Μέθοδοι:** Βασικές αιματολογικές και βιοχημικές αναλύσεις, απομόνωση, ηλεκτροφόρηση και πυκνομέτρηση ολικών ερυθροκυτταρικών μεμβρανών και στατιστική ανάλυση (MANOVA, ANOVA και υπολογισμός Box).

Στα πρωτεϊνικά ηλεκτροφορητικά πρότυπα των ασθενών με ΣΔ και ΔΑ ανιχνεύθηκαν ποιοτικές και ποσοτικές διαφοροποιήσεις από τα φυσιολογικά δείγματα. Στατιστικά σημαντικές διαφορές παρατηρούνται ανάμεσα στο δείγμα των μαρτύρων και στις δύο ομάδες των ασθενών, αλλά λιγότερες ανάμεσα στις δύο ομάδες των ασθενών. Οι σημαντικότερες ποσοτικές διαφοροποιήσεις αφορούν στο ποσοστό της ασπεκτρίνης που αυξάνεται στις μεμβράνες των ασθενών με ΣΔ αλλά μειώνεται στις μεμβράνες των ασθενών με ΔΑ σε σχέση με τις μεμβράνες υγιών ατόμων και στο ποσοστό της ζώνης 8 που αυξάνεται στις μεμβράνες αμφότερων των ομάδων των ασθενών.

Τα υψηλά επίπεδα της γλυκόζης και της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης στον ορό των ασθενών με ΣΔ προκαλούν μη-ειδικού τύπου αλλοιώσεις στις πρωτεΐνες της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης. Αυτές οι αλλοιώσεις πιθανόν δεν συνδέονται αιτιολογικά με την μικροαγγειοπάθεια τύπου ΔΑ.

Η μελέτη χρηματοδοτήθηκε από το "Εμπειρικό Ίδρυμα" και τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών στην Ι.Σ. Παπασιδέρη.

ALTERATIONS IN ERYTHROCYTE MEMBRANE PROTEINS IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS AND DIABETIC RETINOPATHY

Margetis P., Antonelou M., Papassideri I., Bagos P., Margaritis L.H.

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, 15784, Athens - Greece

Diabetes mellitus is a metabolic disease associated mostly with hyperglycemia, which causes significant structural damages in capillaries and blood cells. Hyperglycemia causes vascular impairment leading to microangiopathy such as diabetic retinopathy (DR). In red blood cells, a variety of alterations are reported which are responsible for severe implications regarding the elasticity and fluidity of their membrane. Our objective was to study the modifications of red cell membrane proteins, which occurred in nineteen patients with diabetes mellitus, twenty-nine patients with diabetic retinopathy and sixteen normal individuals, which are represented in the control group.

We have used general hematological and biochemical parameters and tests were performed by routine procedures. Total ghosts were analyzed by density gradient SDS-PAGE systems and appropriate densitometric software. For the statistical analysis we used multivariate analysis of variance (MANOVA) and ANOVA for repeated measurements using the Box's estimate. We distinguished qualitative and quantitative changes in the gel electrophoresis protein pattern in patients suffering from diabetes mellitus and diabetic retinopathy. The statistical analysis of the three groups revealed substantial differences between the control group and the other two groups of diabetes mellitus and diabetic retinopathy, but less substantial differences in between the two groups.

The most important quantitative differences are in protein alpha spectrin and in band 8. Alpha spectrin increases from control group to diabetes mellitus group but decreases in diabetic retinopathy group while band 8 increases in both two groups. Finally we conclude that the high levels of glucose and glycosylated hemoglobin in patients' serum cause unspecific protein alterations in red cell of diabetes mellitus. These alterations possibly are not responsible for the microangiopathy of diabetic retinopathy type.

This study was supported by the "Empeirikeion Foundation" and the Special Account for Research Grants of the University of Athens to I. S. Papassideri.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ “ΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΟΤΗΤΑΣ” ΤΩΝ ΑΝΤΙ-ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ
ΒΙΤΑΜΙΝΩΝ C ΚΑΙ E ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ****Μαριδάκη Κ.^{1,2}, Χριστόπουλος Γ.^{1,2}, Μεσσήνη-Νικολάκη Ν.²,
Τσιλιμιγκάκη Σ.¹ και Σ.Μ. Πιπεράκης¹**¹Εργ. Επιδιορθωτικών Μηχανισμών DNA, Ινστ. Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος, Αθήνα²Τομέας Βιολ. Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.

Στην παρούσα μελέτη εξετάσαμε την “προστατευτικότητα” που προσφέρουν οι αντιοξειδωτικές βιταμίνες C και E στην επίδραση εξωγενών παραγόντων όπως η UV και η γ-ακτινοβολία σε ανθρώπινα λεμφοκύτταρα. Χρησιμοποιώντας την τεχνική του “comet assay” μπορέσαμε να υπολογίσουμε το ποσοστό των βλαβών στο DNA και την ικανότητα για επιδιόρθωση. Επίσης με την χρήση των χρωστικών acridine orange και ethidium bromide εκτιμήσαμε το ποσοστό των κυττάρων που οδηγείται σε απόπτωση και νέκρωση. Από τα αποτελέσματα μας φαίνεται ότι η βιταμίνη E δρα προστατευτικά ενώ δεν προκύπτουν σαφή αποτελέσματα για την βιταμίνη C.

**HUMAN LYMPHOCYTES “PROTECTION” USING THE ANTIOXIDANT
VITAMINS C AND E****Maridaki K.^{1,2}, Christopoulos G.^{1,2}, Messini-Nikolaki N.², Tsilimigaki S.¹
& S.M. Piperakis¹**¹DNA Repair Laboratory, Institute of Biology, NCSR “Democritus”, Athens, Greece,²Dept of Cell Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, 15784, Athens, Greece

In the present work we examined the “protection” of lymphocytes with the vitamins C and E from the effects of UV and γ-ray induced DNA damage. We also measured the percentage of apoptotic and necrotic cells after staining with acridine orange and ethidium bromide. Our results show that vitamin E “protects” cells from the effects of UV and γ-ray. However vitamin C does not show such clear “protection” effect.



ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΝΕΩΝ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ
Στουρνάρα 49^Α, 106 82 ΑΘΗΝΑ
Τηλ. 3845594 FAX. 3808009

- ✓ Το πρώτο βιβλίο του Ελληνικού Word 2002
- ✓ Το πρώτο βιβλίο του Ελληνικού Excel 2002
- ✓ Το πρώτο βιβλίο του Ελληνικού Powerpoint 2002
- ✓ Το πρώτο βιβλίο της Ελληνικής Access 2002
- ✓ Το πρώτο βιβλίο του Front Page 2002

Απαραίτητα βοηθήματα για όλους

ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΝΕΩΝ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ
Στουρνάρη 49^Α, 106 82 Αθήνα
Τηλ.: (210) 38 45 594 – Fax: (210) 38 08 009
E-mail: contact@newtech-publications.gr
Site: www.newtech-publications.gr

Ο ΤΡΟΠΙΣΜΟΣ ΣΤΟ ΟΙΚΟΣΥΣΤΗΜΑ ΤΗΣ ΠΟΛΗΣ**Μαρμαρινός Μ.², Στεφανοπούλου Σ.¹, Χειμώνα Χρ.¹, Μαυραγάνη Γ.²,
Τζουνάκας Β.¹, Ριζοπούλου Σ.¹**¹ Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Πανεπιστημιόπολη, 15784, Αθήνα² Theseum the Ensemble, Θησεϊόν ένα θέατρο για τις τέχνες, Τουρναβίτου 7, Αθήνα 10553

Στο οικοσύστημα της πόλης υπάρχουν δημόσιοι χώροι που ορίζονται ως δυναμικά πεδία σχεδιασμού κι αισθητικής, κοινωνικής μνήμης, συστήματα κίνησης και διευθέτησης (π.χ. με φωτοτροπισμό εφ' όσον η κίνηση επηρεάζεται από τον ήλιο και το φως, ανά εποχή), τυχαίας ή επιδιωκόμενης συνάντησης, όπου το απρόοπτο, το τυχαίο, το απρόβλεπτο, ο διάλογος αλλά και η διαβίωση έμβιων οργανισμών (φυτά, έντομα, πτηνά, ζώα, μύκητες) στο κτισμένο αλλά και στον υπαίθριο χώρο, συνεπικουρούν στη «διήγηση» της καθημερινής ζωής, διαχρονικά από τους ανθρώπους.

Το αβιοτικό και το έμβιο περιβάλλον των πόλεων ασκεί αποφασιστική επίδραση στη διαμόρφωση και ανάπτυξη της προσωπικότητας των ανθρώπων. Ταυτόχρονα υπό την επίδραση της δημιουργικής ενεργητικότητας και δραστηριότητας του ανθρώπου μεταβάλλεται και μετασχηματίζεται το ίδιο και στη διαδικασία αυτών των μετασχηματισμών μεταβάλλονται οι ίδιοι οι άνθρωποι, οι κάτοικοι. Έτσι ώστε να υπάρχει, *“καιρός του σπείρειν και καιρός του θερίζειν, καιρός του μισείν και καιρός του αγαπάν, καιρός πολέμου και καιρός ειρήνης”*.

Η εργασία μας αφορά τη μελέτη παραμέτρων του περιβάλλοντος και της πολιτιστικής κληρονομιάς στη σύσταση, δημιουργία και λειτουργία δημόσιων χώρων και χρηματοδοτείται από την Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας (Κ.Α. 70/3/6973)

TROPISM IN THE ECOSYSTEM OF A TOWN

**Marmarinos M.², Stefanopoulou S.¹, Chimona Chr.¹, Mavragani G.², Tzounakas V.¹,
Rhizopoulou S.¹**

¹ Dept of Botany, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of Athens,
Panepistimioupolis, 15784 Athens - Greece

²Theseum the Ensemble, a theatre for the arts, Tournavitou 7, 10553 Athens - Greece

Environmental design, development and protection, as well as preservation of cultural heritage often coincide since they are interdependent. In the context of sustainable development, native systems and public spaces in a town should play an important role in cultural heritage, conservation, regulation of activities via tropism, exchange of energy, and maintenance of natural biodiversity; in the so called ecosystem of a town. In historic landscapes and towns (e.g. in Greece), the public spaces are areas, which have been settings for activities that are significant in human history. This provokes a dialogue between and across time, under the sustained environmental conditions.

This project has been supported by a grant from the General Secretariat for Technology and Research (70/3/6973).

**ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΜΟΛΥΝΣΗ ΝΕΡΟΥ ΧΕΙΜΑΡΡΩΝ ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ
ΧΡΗΣΕΙΣ ΓΗΣ ΚΑΙ ΒΡΟΧΟΠΤΩΣΗ****Μαρσώνη Τ.¹, Τζανεδάκη Α.¹, Καράνης Π.² και Μ.Α. Ευστρατίου¹**¹Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Τμήμα Επιστημών της Θάλασσας²Πανεπιστήμιο Κολωνίας, Ιατρική Σχολή, Εργαστήριο Ιατρικής Παρασιτολογίας, Κέντρο
Ανατομίας, Ινστιτούτο II

Μόλυνση του νερού χειμάρρων προκαλείται από την έκπλυση κοπρανώδους υλικού που προέρχεται από το χώμα της λεκάνης απορροής, καθώς και στις περιπτώσεις που υπάρχει πρόσβαση του χειμάρρου από ζώα. Η βροχόπτωση μεταφέρει μικροοργανισμούς στις κοίτες των χειμάρρων, οι οποίοι, μαζί με το ίζημα μεταφέρονται και αποτίθενται σε λίμνες ή τη θάλασσα. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η συχνότητα απομόνωσης των τριών πιο κοινών βακτηριακών δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης και η ανίχνευση κύστεων του παρασίτου *Giardia* σε νερά χειμάρρων στο νησί της Λέσβου. Έμφαση δόθηκε σε α) την επίδραση διαφορετικών χρήσεων γης στις λεκάνες απορροής στη μικροβιακή ποιότητα του νερού και β) την επίδραση της βροχής στη μεταφορά βακτηρίων-δεικτών και *Giardia* στο νερό των χειμάρρων. Τα δείγματα συλλέχθηκαν από χειμάρρους από αγροτικές και κτηνοτροφικές περιοχές, από χειμάρρους στους οποίους καταλήγουν απόβλητα χωριών και από χειμάρρους με μικτές χρήσεις. Η ανίχνευση του παρασίτου έγινε με τη μέθοδο ιζηματοποίησης/βαθμίδωσης σουκρόζης και PCR. Υπολογίστηκε το ύψος βροχόπτωσης τις προηγούμενες 24, 48 και 72 ώρες.

Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ ανίχνευσης *Giardia* και βροχής. Η βροχόπτωση προκάλεσε δεκαπλασιασμό έως εκατονταπλασιασμό της συγκέντρωσης όλων των βακτηρίων που ελέγχθηκαν (ολικά κολοβακτηριοειδή, κοπρανώδη κολοβακτηριοειδή και κοπρανώδεις στρεπτόκοκκοι). Σε σχέση με την επίδραση των διαφορετικών χρήσεων γης στη μικροβιακή ποιότητα του νερού δεν παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ κανενός από τους τρεις τύπους χρήσεων γης που μελετήθηκαν και αύξηση των αριθμών των βακτηρίων που απομονώθηκαν. Κύστες του παρασίτου *Giardia* ανιχνεύτηκαν σε χείμαρρο στον οποίο καταλήγουν τα απόβλητα ενός χωριού, πράγμα που δίνει ένδειξη για πιθανά προβλήματα που μπορεί να προκληθούν σε περίπτωση χρήσης των νερών του χειμάρρου.

MICROBIAL POLLUTION OF DRY GULLET WATER IN RELATION TO LAND USE AND RAINFALL

Marsoni T.¹, Tzanedaki A.¹, Karanis P.² & M.A. Efstratiou¹

¹Department of Marine Sciences, University of the Aegean ²University of Cologne,
Medical School, Medical Parasitology Laboratory, Centre of Anatomy, Institute II

Contamination of the water of dry gulleys arises through delivery of fecal material in overland flows to the watercourse and where livestock have direct access to the stream. Human and animal gut microorganisms are washed into watercourses during rainfall events. Together with sediment from the streambed they are carried downstream and are deposited in pools or the sea. In this project we conducted a study of the detection of the three most common bacterial indicators of fecal pollution and *Giardia* cysts in dry-gullet waters of a Greek island. The study was conducted with an emphasis on: a) the influence of the various land uses in catchment areas on the microbiological quality of water and b) the influence of rainfall events on transport of indicator bacteria and *Giardia* to stream water. Samples were collected from streams draining agricultural and pastoral land, streams receiving village discharges or both. Bacterial concentrations were determined by the standard membrane filtration method. Parasite detection was achieved by concentration by flocculation/ sucrose gradient, followed by PCR. For each sampling site the 24h, 48h and 72h rainfall level was determined. In response to rainfall events no significant variation in *Giardia* detection was observed. Rainfall was associated with significant increases in the concentration of all bacteria tested (total coliforms (TC), faecal coliforms (FC), faecal streptococci (FS)). Incidents of heavy rainfall resulted in a tenfold to hundredfold increase in the numbers of microorganisms isolated. Concerning the influence of different land uses in catchment areas on the microbiological quality of water, no significant correlation was noticed between any of the three types of land use studied (agricultural, pastoral, urban) and the numbers of indicators isolated. *Giardia* cysts were detected in a stream used as dumping site for village sewage, which gives an indication of possible problems that could arise if the stream water is used for irrigation.

**ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΗΣ ΠΡΟΦΑΙΝΟΛΟΞΕΙΔΑΣΗΣ (PROPO) ΣΤΑ
ΑΙΜΟΚΥΤΤΑΡΑ ΤΗΣ ΜΥΓΑΣ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΟΥ *C. Capitata*:
ΠΙΘΑΝΗ ΣΥΜΒΟΛΗ ΣΤΗΝ ΑΜΥΝΑ****Μαυρούλη Μ., Τσάκας Σ., Θεοδώρου Γ.*, Καρακάντζα Μ.*,
Λαμπροπούλου Μ., Μαρμάρας Β.**Εργαστήριο Βιολογίας - Τμήμα Βιολογίας, *Εργαστηριακή Αιματολογία - Αιμοδοσία -
Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών

Το σύστημα ενεργοποίησης της προφαινολοξειδάσης (proPO) στα έντομα, συμβάλλει στη σκλήρυνση και στο χρωματισμό του επιδερμιδίου, στην πήξη της αιμολέμφου καθώς και στην άμυνα των εντόμων σε μικροοργανισμούς.

Στην εργασία αυτή μελετήθηκε με ανοσοαποτύπωμα, με κυτταρομετρία ροής και με ανοσοϊστοχημική χρώση, η παρουσία της proPO καθώς και των πρωτεασών ενεργοποίησής της (PAPs), στα αιμοκύτταρα του εντόμου *C. capitata*, με τη χρήση πολυκλωνικών αντισωμάτων. Σε πρωτεϊνικά εκχυλίσματα αιμοκυττάρων, από προνύμφες 3^{ου} αναπτυξιακού σταδίου, έγινε ανοσοκατακρήμνιση της proPO και SDS ηλεκτροφόρηση του ανοσοϊζήματος. Ανοσοαποτύπωμα με αντίσωμα έναντι της proPO, φανέρωσε την ύπαρξη ενός πολυπεπτιδίου 85 kDa. Με κυτταρομετρία ροής δείχθηκε για πρώτη φορά η παρουσία proPO στην επιφάνεια όλων των τύπων αιμοκυττάρων. Η ύπαρξη της proPO διαπιστώθηκε επίσης, ανοσοϊστοχημικά τόσο στο κυτταρόπλασμα όσο και στην κυτταρική μεμβράνη. Η μεμβρανική proPO είναι παρούσα στα αιμοκύτταρα κατά το στάδιο της περιπλάνησης, με μέγιστο στο τέλος του 3^{ου} αναπτυξιακού σταδίου, κατά το στάδιο της λευκής νύμφης (WP), στην έναρξη δηλαδή της νυμφοποίησης. Η παρουσία των PAPs στα αιμοκύτταρα πιστοποιήθηκε με ανοσοαποτύπωμα, ενώ με ανοσοϊστοχημική χρώση διαπιστώθηκε η ύπαρξη τους σε όλα τα αιμοκύτταρα. Η ύπαρξη της proPO στην επιφάνεια των αιμοκυττάρων, σε όλη τη διάρκεια του σταδίου περιπλάνησης, όπου η προνύμφη είναι εκτεθειμένη στο περιβάλλον, υποδηλώνει την πιθανή συμμετοχή της σε μηχανισμούς άμυνας. Για το λόγο αυτό χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση της σχέσης της με τέτοιους μηχανισμούς, όπως π.χ. η κυτταροφαγία.

THE PROPHENOLOXYDASE SYSTEM (PROPO) IN THE HEMOCYTES OF THE MEDFLY *C. capitata*: POSSIBLE INVOLVEMENT IN DEFENSE MECHANISMS

Mavrouli M., Tsakas S., Theodorou G.*, Karakantza M.*,
Lampropoulou M., Marmaras V.

Lab of Biology - Dept of Biology, *Laboratory Hematology -Transfusion Medicine - Dept
of Medicine, University of Patras

The activation system of prophenoloxylase (proPO) in insects, contributes in the sclerotization and melanization of the cuticle, in the hemolymph coagulation as well as in insect defense mechanisms. In this study, the presence of proPO and its activating proteases (PAPs) in the hemocytes of the Medfly *C. capitata* were investigated, with immunoblotting, flow cytometry and immunohistochemical staining, with the use of polyclonal antibodies. In hemocyte protein extracts from 3rd instar larvae, proPO was immuno-precipitated and the sediment was then analysed on SDS PAGE. Immunoblotting with the use of a polyclonal anti-proPO antibody revealed a single band at 85 kDa. Flow cytometry experiments with indirect immunofluorescence showed, for the first time, the presence of the proPO on the surface of all types of hemocytes. The proPO was also detected immunohistochemically in the cytoplasm and the plasma membrane as well. ProPO appears on the hemocyte surface during wandering stage, with a peak at the end of the 3rd instar larvae, called white pupa (WP), which is the initiation of pupation. The presence of PAPs in the hemocytes was identified with immunoblot analysis. Immunohistochemical staining showed that all hemocytes contain PAPs. The presence of proPO on the surface of hemocytes during the wandering stage, where larvae are exposed to the environment, suggests a possible involvement of proPO in defence mechanisms. Whether proPO is related with these mechanisms, such as phagocytosis, needs further investigation.

**ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ *trpB* ΩΣ ΔΕΙΚΤΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ
ΒΙΟΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΕΝΔΟΓΕΝΕΙΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ
ΑΚΤΙΝΟΒΑΚΤΗΡΙΩΝ**

Μεϊντάνης Χ., Χάλκου Κ.Ι., Λυμπεροπούλου Δ.Σ., Ρεντινιώτη Α.Α., Στραϊτούρης
Α., Νικολακοπούλου Δ.Α., Κατσίφας Ε.Α. και Α.Δ. Καραγκούνη

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Πανεπιστημιόπολη, 15784 Αθήνα

Μελετήθηκε η δυνατότητα χρήσης του γονιδίου *trpB*, το οποίο σχετίζεται με τη σύνθεση τρυπτοφάνης και είναι βασικό για τη λειτουργία του κυττάρου, ως δείκτη για την εκτίμηση της βιοποικιλότητας σε ενδογενείς πληθυσμούς ακτινοβακτηρίων. Για το σκοπό αυτό σχεδιάστηκαν ειδικά μόρια εκκινητές με βάση γνωστές αλληλουχίες του γονιδίου σε ακτινοβακτήρια. Για τον έλεγχο της εξειδίκευσης και ευαισθησίας των παραπάνω μορίων εκκινητών πραγματοποιήθηκε ανάλυση PCR σε περισσότερα από 40 τυποποιημένα στελέχη και 400 στελέχη ακτινοβακτηρίων που απομονώθηκαν από διαφορετικές περιοχές και ακολούθησε ανάλυση της αλληλουχίας των PCR προϊόντων που προέκυψαν. Οι παραπάνω αλληλουχίες χρησιμοποιήθηκαν σε φυλογενετική ανάλυση, τα αποτελέσματα της οποίας συγκρίθηκαν με αυτά που προκύπτουν με βάση το γονίδιο του 16s rDNA. Επιπροσθέτως, ολικό DNA από περιοχές με υψηλή βιοποικιλότητα ακτινοβακτηρίων αναλύθηκαν με τα εκκινητικά μόρια για την ενίσχυση του *trpB* γονιδίου και τη μέθοδο DGGE. Το πρότυπο ζωνών που προέκυψε ήταν σε συμφωνία με αυτό κατά την ανάλυση των ίδιων πληθυσμών με βάση το 16s rDNA γονίδιο.

THE USE OF *trpB* HOUSEKEEPING GENE AS A BIODIVERSITY MARKER FOR ACTINOBACTERIA COMMUNITY ANALYSIS

Meintanis C.K., Chalkou K.I., Lympelopoulou D.S., Redinioti A.A., Straitouris A.I., Nikolakopoulou D.L., Katsifas E.A. & A.D. Karagouni

Microbiology group, Dept. of Botany, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, 15784 Athens - Greece

The ability of the *trpB* housekeeping gene, involved in tryptophan biosynthesis, to be used as a biodiversity estimating tool for actinobacteria communities in the environment was studied. Group specific primers were developed by comparison of sequences of genes encoding *trpB* for the detection of actinobacteria with PCR and DGGE. PCR analysis of more than 40 type actinobacteria strains and over 500 actinobacteria isolates, as well as sequencing analysis of the *trpB* PCR products from type strains, was performed to confirm primers specificity and sensitivity. At the same time DNA from Gram negative and Gram-positive non-actinobacteria strains was used as template in PCR reactions with the designed primers. No false positive or negative results were noted during the above experiments. In order to estimate the effectiveness of the designed primers to be used in actinobacteria biodiversity and identification studies, a phylogenetic tree was constructed based on the *trpB* product sequences from type strains. Data were compared with those from the tree based on 16s rDNA gene sequences from the same strains. Furthermore total community DNA from selected Mediterranean habitats exhibiting high actinobacteria diversity was used in DGGE analysis with *trpB* primers. Analysis revealed multiple banding patterns, similar to those deriving from DGGE analysis of the same habitats using 16s rDNA PCR products with actinobacteria specific primers.

**ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΙΑΣ ΦΥΛΟΣΥΝΔΕΤΗΣ
ΘΕΡΜΟ-ΕΥΑΙΣΘΗΤΗΣ ΜΕΤΑΛΛΑΞΗΣ ΣΤΗΝ *D. melanogaster*****Μελά Α. και Γ. Γιαννόπουλος**Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο
Πατρών, Πανεπιστημιόπολη, 26500 Ρίο, Πάτρα

Από μια *hobo* δυσγενική διασταύρωση απομονώθηκε μια υποτελής θανατογόνος θερμοευαίσθητη μετάλλαξη (pa^{ts}) η οποία στους 20°C συμπεριφέρεται ως υποτελής ορατή (επηρεάζει τα μάτια και τα φτερά), ενώ στους 29°C τα άτομα πεθαίνουν λίγο πριν ή κατά τη διάρκεια εκκόλαψης ακμαίων ατόμων. Η μετάλλαξη χαρτογραφείται στη θέση 7E του X χρωμοσώματος και οφείλεται σε *P* ένθεση. Αποκοπή του στοιχείου *P* δίνει βιώσιμους απογόνους στους 29°C. Μοριακός προσδιορισμός της θέσης της 7E *P* ένθεσης αποκάλυψε ότι απέχει 490bp από την κωδική περιοχή του προβλεπόμενου γονιδίου CG327II. Το γονίδιο CG327II έχει μήκος 2089bp και αποτελείται από 4 εξόνια και 3 ιντρόνια. Η λειτουργία του είναι άγνωστη μέχρι στιγμής, όμως προβλέπεται ότι κωδικοποιεί μια μικρή πρωτεΐνη 73 αμινοξέων. Το γονίδιο μεταγράφεται σε δύο προϊόντα, 1070nt και 1330nt, τα οποία εμφανίζουν ποσοτικές διαφορές στα βασικά αναπτυξιακά στάδια. Το μεγαλύτερο εμφανίζεται σε μικρότερη ποσότητα και αποτελεί προϊόν εναλλακτικής ωρίμανσης, καθώς περιέχει και τις 260 πρώτες βάσεις του πρώτου ιντρονίου. Η προβλεπόμενη μεταφραζόμενη περιοχή, 219nt, είναι κοινή και για τα δύο μετάγραφα. Στο 3' άκρο της μεταφραζόμενης περιοχής υπάρχει μια αλληλουχία ≈60nt που απαντά σε πολλούς οργανισμούς, και αφορά γονίδια που κωδικοποιούν διαμεμβρανικές πρωτεΐνες και ρυθμίζουν πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις. *In situ* υβριδοποίηση σε έμβρυα, εμβρυϊκούς δίσκους και ωοθήκες ακμαίων ατόμων με ανιχνευτή το μικρότερο μετάγραφο, αποκάλυψε ότι το γονίδιο εκφράζεται στα έμβρυα κυρίως στο μεσόδερμα, στο τραχειακό σύστημα, στα αιμοκύτταρα και στο κεντρικό νευρικό σύστημα, στους εμβρυϊκούς δίσκους των φτερών, των ματιών και των κεραιών καθώς και στην ακραία περιοχή του κοιλιακού νευρικού γαγγλίου ενώ στις ωοθήκες στα βοηθητικά κύτταρα και στο επιθηλιακό περίβλημα.

Η παρούσα έρευνα χρηματοδοτείται από το ΕΠΕΑΕΚ II Ηράκλειτος

GENETIC AND MOLECULAR ANALYSIS OF AN X-LINKED TEMPERATURE SENSITIVE MUTATION IN *D. melanogaster*

Mela A. & G. Yannopoulos

Div. of Genetics, Cell and Developmental Biology, Department of Biology, University of Patras, 25600 Rio, Patras - Greece

From a hobo dysgenic cross we have isolated an X-linked temperature sensitive lethal mutation named *pa^{ts}*. The mutation affects the eyes and the wings and at 20°C the individuals have normal viability but at 29°C they die at the stage of late pupa, just before the eclosion of imago. The mutation is mapped at the site 7E and it is due to a *P* element insertion. Excision of the *P* element gives non-lethal wild type revertants at 29°C. Molecular mapping of the *P* insertion revealed that it is located 490 bp upstream of the code sequence of the predicted gene CG32711. The gene is small, 2089bp and consists from four exons and three introns. Its function is still unknown but it is predicted to encode a small protein of 73aa. The gene is transcribed in two mRNAs, 1070nt and 1330nt, that show quantitative differences in basic developmental stages. The longer mRNA is transcribed with lower density. Sequencing of both transcripts revealed that the longer one comes from alternative splicing into 260 bases from 5' end of the first intron. The predicted translated region is the same for both transcripts. At the 3' end of the predicted translated region exists a sequence, about 60nt, with significant similarity in many organisms and concerns transmembrane protein-coding genes and genes regulating protein interactions. *In situ* hybridization in whole embryos, imaginal discs and ovaries, with probe cDNA of the smaller transcript, revealed that the gene is expressed in embryos mainly in mesoderm, tracheal system, hemocytes and CNS, in the wing and eye-antennal imaginal discs as well as at the end portion of the ventral ganglion and in ovaries at the nurse cells and epithelial sheath.

This research is supported by EPEAEK II Hrakleitos

**ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΣΗΜΕΙΟΥ ΕΝΑΡΞΗΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΓΡΑΦΗΣ ΤΗΣ
ΕΛΑΦΡΑΣ ΑΛΥΣΙΔΑΣ ΤΟΥ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟΥ DNA ΣΤΟ ΕΙΔΟΣ
*Mytilus galloprovincialis*****Μίζη Α.¹, Cao L.², Ζούρος Ε.³ και Γ.Κ. Ροδάκης¹**

¹Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 157 04 Αθήνα, ²Department of Biology, Dalhousie University, Halifax, Nova Scotia B3H 4J1, Canada, ³Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, 714 09 Ηράκλειο, Κρήτη

Ο πρόσφατος προσδιορισμός της πλήρους πρωτοδιάταξης του μητρικά (τύπος F) και του πατρικά (τύπος M) κληρονομούμενου μιτοχονδριακού γονιδιώματος του είδους *Mytilus galloprovincialis* από την ερευνητική ομάδα μας, επέτρεψε τη συστηματική συγκριτική ανάλυση των μορίων. Δύο περιοχές εμφανίζουν ένα ασυνήθιστα υψηλό βαθμό ομοιότητας. Η πρώτη αφορά μη κωδική αλληλουχία και έχει τεκμηριωθεί ότι πρόκειται για τμήμα της κύριας ρυθμιστικής περιοχής, ενώ η δεύτερη αφορά το πρωτεϊνικό γονίδιο της NDIII. Ο υψηλός βαθμός ομοιότητας μεταξύ των αλληλουχιών της NDIII τύπου F και M δεν συμβιβάζεται με τα αποτελέσματα συγκριτικής ανάλυσης όλων των μέχρι σήμερα γνωστών μιτοχονδριακών γονιδιωμάτων, επιτρέποντας έτσι τη διατύπωση της υπόθεσης ότι οι αλληλουχίες αυτές έχουν ένα επιπρόσθετο λόγο εκδήλωσης υψηλής συντηρητικότητας. Διερευνήθηκε η πρόταση της παρουσίας του σημείου έναρξης της αντιγραφής της ελαφράς αλυσίδας (O_L) του M. galloprovincialis στην περιοχή της NDIII. Ο συνδυασμός δύο διαδρομών προσέγγισης, (α) της αναζήτησης της τυπικής για O_L δευτεροταγούς δομής, και (β) της στατιστικής σημαντικότητας της ελάττωσης ή της αύξησης των νουκλεοτιδίων στις τετράκις συνώνυμες θέσεις, ως προς το χρόνο παραμονής της βαριάς αλυσίδας σε μονόκλωνη κατάσταση κατά το διπλασιασμό του mtDNA, επιβεβαιώνουν την πιο πάνω υπόθεση.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτείται από τη Γ.Γ.Ε.Τ (ΠΕΝΕΔ 01ΕΔ42)

DETECTION OF THE LIGHT STRAND REPLICATION ORIGIN OF THE MITOCHONDRIAL DNA OF THE MUSSEL *Mytilus galloprovincialis*

Mizi A.¹, Cao L.², Zouros E.³ & G.C. Rodakis¹

¹Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Biology, University of Athens, 157 84 Athens, ²Department of Biology, Dalhousie University, Halifax, Nova Scotia B3H 4J1, Canada, ³Department of Biology, University of Crete, 714 09, Heraklion, Crete

The complete sequencing of the maternally (F-type) and paternally (M-type) transmitted mitochondrial genome of the mussel *Mytilus galloprovincialis* has allowed the comparative analysis of these molecules. There are two regions characterized by an unusual degree of similarity. The first is a non-coding sequence, which is part of the main control region. The second is the gene encoding for NDIII. High similarity between NDIII sequences of F and M type is not compatible with the results of comparative analysis of other mitochondrial genomes drawn from GenBank. In search for an explanation of the high degree of conservatism in the NDIII gene of the mussel genome we examined the hypothesis that the light strand origin of replication of the mtDNA of *M. galloprovincialis* is in this region. Two approaches were combined, (a) search of a typical for O_L secondary structure and (b) correlation of four-fold synonymous nucleotides frequencies with the time of the single-strand state of the mtDNA heavy strand during replication. The results of from both approaches support the above hypothesis.

This research is funded by G.S.R.T. (PENED 01ED42)

ΑΝΤΙΛΕΥΧΑΙΜΙΚΗ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΝΕΟΥ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟΥ ΣΤΕΡΟΕΙΔΙΚΟΥ ΕΣΤΕΡΑ ΜΕ ΜΟΥΣΤΑΡΔΑ ΑΖΩΤΟΥ: ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

Μιόγλου Ε.¹, Μουρελάτος Δ.¹, Ιακωβίδου Ζ.¹, Καραπιδάκη Ε.¹, Φουστέρης Μ.², Κουτσουρέα Α.², Αρσένου Ε.², Σπυριδωνίδου Αι.² και Σ. Νικολαρόπουλος²

¹Εργ. Γεν. Βιολογίας, Ιατρικού Τμ., Α.Π.Θ. 54124 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα. ²Εργ. Φαρμακευτικής Χημείας, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500 Ρίο,

Από την μελέτη πρόσφατα συντεθέντων τροποποιημένων στεροειδών εστέρων με μουστάρδες αζώτου που έχουν τον Β δακτύλιο διευρυμένο προς λακτάμη και ακετάμιδο- ομάδα στην 17β- θέση του στεροειδικού σκελετού, αποδείχθηκε πως επάγουν σημαντικά τις χρωματιδιακές ανταλλαγές (SCEs) και μειώνουν το δείκτη ρυθμού πολλαπλασιασμού (PRI) των ανθρώπινων φυσιολογικών λεμφοκυττάρων. Από τη συγκριτική μελέτη σε μοριακή βάση, δραστικότερες αποδείχθηκαν οι ενώσεις που φέρουν την 17β-NHCOCH₃ συγκριτικά με αυτές που η ομάδα -NHCO- εμφανίζεται ενδοκυκλικά (λακτάμη). Στην παρούσα εργασία επιβεβαιώνεται στο ίδιο βιολογικό υλικό η *in vitro* κυτταρογενετική δράση (0,6-2,0μM) της δραστικότερης εξ' αυτών, της AK-433 { 3β-υδροξυ-17β-ακεταμιδο-7α-αζα-Β-ομο-5-αδροστεν-7-ονη-ρ-N,N-δισ(2-χλωροαιθυλ)αμινοφαινυλοξικός εστέρας}. Το γεγονός αυτό αποτέλεσε το έναυσμα διερεύνησης της επίδρασής της σε λεμφοκυτταρικού τύπου λευχαιμικά P388 κύτταρα ενοφθαλμισμένα σε DBA/2 μύες (2μm/gr bw). Η αύξηση των SCEs (P<0,001), ευαίσθητου δείκτη κυτταρογενετικής βλάβης και η πτώση του PRI (P<0,01), δείκτη εκτίμησης κυτταροστατικής δραστικότητας, αποδεικνύουν την *in vivo* στατιστικά σημαντική αντινεοπλασματική δράση της (P<0,01). Εφάπαξ δόση (20μm/gr bw) την πρώτη μέρα μετά την μεταμόσχευση του όγκου, επέφερε στατιστικά (P<0,01 Wilcoxon test) αύξηση στην επιβίωση των καρκινοπαθών μυών. Η συσχέτιση κυτταρογενετικών *in vivo* και *in vitro* ευρημάτων με ογκολογικές παρατηρήσεις επιτρέπουν το χαρακτηρισμό της AK-433 ως εν δυνάμει αντινεοπλασματική, της οποίας η δράση πιθανώς οφείλεται σε πολλαπλές αλληλεπιδράσεις της -NHCO- με ίδιες ή παρόμοιες ομάδες εξειδικευμένων περιοχών του DNA.

ANTILEUKEMIC AND CYTOGENETIC OBSERVATIONS OF A NEWLY SYNTHESIZED MODIFIED STEROIDAL ESTER WITH NITROGEN MUSTARD: A COMPARATIVE STUDY

Mioglou E.¹, Mourelatos D.¹, Iakovidou Z.¹, Karapidaki E.¹, Fousteris M.², Koutsourea A.², Arsenou E.², Spyridonidou K.² and S. Nikolaropoulos²

¹Lab. Biology, Medical School, Aristotle Univ. of Thessaloniki., 54124 Thessaloniki, Greece.

²Lab. of Pharmaceutical Chemistry, School of Health Sciences, Department of Pharmacy, University of Patras, 26500 Rion, Greece.

Recently, newly synthesized modified steroidal esters with nitrogen mustards, having the B ring enlarged to lactamic and an acetamido group on the 17b- position of the steroidal skeleton, enhance considerably the rate of SCEs (Sister Chromatid Exchanges) and suppress the PRI (Proliferation Rate Index) in normal human lymphocytes *in vitro*. From the comparative study on a molar basis, it is deduced that the 17b- acetamido compound proved more effective compared with the corresponding D-lactamic (endocyclic –NHCO-) one. In the present study the most effective inducer of cytogenetic effects, 3b-hydroxy-17b-acetamido-7a-aza-B-homo-5-androsten-7-one-*p*-N,N-bis(2-chloroethyl)aminophenylacetate (AK-433) ascertains its *in vitro* effect in the same biological material (0,6-2,0 μ M). This prompted us to further investigate the possible antileukemic activity of this compound in P388 lymphocytic leukemia cells in leukemia bearing mice BDA/2 *in vivo* (2 μ m/gr bw), with promising results [enhancement of SCEs (P<0,001, t test) and suppression of PRI (P<0,01, χ^2 test)]. Moreover, the investigation upon P388 leukemia bearing mice DBA/2 has shown that AK-433 (20 μ m/gr bw) increased (P<0,01 by the Wilcoxon test) the survival time significantly. Therefore, the *in vivo* antitumour effect by AK-433 appears to correlate well with the *in vitro* upon human lymphocytes and *in vivo* upon P388 lymphocytic leukemia cells effect on cytogenetic damage caused by the same compound. This may be due to the multiple interactions of the –NHCO- with same and similar groups of structural specific domains in DNA.

**ΕΠΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ ΜΕ ΕΠΙΔΡΑΣΗ 5-FU ΣΕ ΠΡΩΪΜΑ ΣΤΑΔΙΑ
ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗΣ ΗΠΑΤΟΣ ΕΠΙΜΥΟΣ: ΒΙΟΧΗΜΙΚΗ &
ΥΠΕΡΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ****Μουστάρδας Π.¹, Μιόγλου Ε.², Ιακωβίδου Ζ.², Θωμόπουλος Γ.¹**¹Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, και ²Εργ. Γενικής Βιολογίας, Ιατρικό Τμήμα, Α.Π.Θ. 54124 Θεσσαλονίκη

Η 5-Φθοροουρακίλη (5-FU), ως αντιμεταβολίτης (ανταγωνιστής πυριμιδινών), έχει κυτταροτοξική δράση προκαλώντας «αθυμιδινικό θάνατο». Στην κλινική πράξη χρησιμοποιείται ευρύτατα για την αντιμετώπιση πρωτοπαθούς ή μεταστατικού καρκίνου ήπατος και η πιθανή παρέμβαση της σε διάφορους βιοσυνθετικούς μηχανισμούς παρουσιάζει ιδιαίτερο ιατρικό ενδιαφέρον. Σε φυσιολογικό ήπαρ η επαγωγή της απόπτωσης και ιδιαίτερα της κασπάσης 3 από την 5-FU αποτέλεσαν τη βάση της υπόθεσης ότι ο αντιμεταβολίτης πιθανώς τροποποιεί αποπτωτικές διαδικασίες αναγεννωμένου ήπατος, αντισταθμίζοντας έτσι την κυτταροτοξική της δράση. Υποστηρίζεται ότι η απόπτωση ρυθμίζει την αναδόμηση της ηπατικής μάζας και πυροδοτείται παράλληλα σε κάθε έκρηξη σύνθεσης του DNA ως μηχανισμός τερματισμού αναγέννησης. Στην παρούσα μελέτη, επίμυες Wistar, 6 μηνών, διατρεφόμενοι σε συνθήκες φωτισμού-σκότους 12:12h παρέμειναν σε 24ωρη ασιτία προ της ηπατεκτομής 70% (H). Τα πειραματόζωα ταξινομήθηκαν σε: εικονικά χειρουργημένα με 5-FU και εξεταστέα-H με και χωρίς 5-FU. Ο χρόνος θανάτωσης τους (18, 36 και 48h μετεγχειρητικά) βασίστηκε στην πληροφορία ότι η δραστηριότητα της κασπάσης 3 αυξάνεται σε πρώιμα στάδια φυσιολογικής αναγέννησης, (μεγαλύτερος αριθμός ηπατοκυττάρων στο στάδιο S). Διαπιστώθηκαν και συσχετίστηκαν κirkάδιοι βιορυθμοί κατά την αναγέννηση με μεθόδους ηλεκτρονικής μικροσκοπίας (εκτεταμένη λιπώδης εκφύλιση παρεγχυματικών κυττάρων, αύξηση αριθμού κοκκίων γλυκογόνου κ.ά) και με βιοχημικές μεθόδους (περιεκτικότητα DNA και πρωτεϊνών, δραστηριότητα κασπάσης 3, κ.ά.). Η εντυπωσιακή αύξηση της δραστηριότητας του ενζύμου μετά τη χορήγηση της 5-FU, 36h μετεγχειρητικά, πιθανώς επάγεται για να αντισταθμίσει την κυτταροτοξική δράση της, γεγονός που επιβεβαιώνει την αρχική μας υπόθεση.

INDUCTION OF APOPTOSIS AFTER 5-FU INJECTION IN EARLY STAGES OF REGENERATING RAT LIVER: A BIOCHEMICAL AND ULTRASTRUCTURAL STUDY

Moustardas P.¹, Mioglou E.², Iakovidou Z.² and Thomopoulos G.N.¹

¹Dept. of Biology, School of Sciences and ²Lab of Gen. Biology, ²Dept. of Medicine, AUTH, 54124, Thessaloniki, Greece

5-Fluorouracil (5-FU) is an antimetabolite (pyrimidine antagonist) with cytotoxic function causing "athymidinic death". It is widely used in clinical practice for the management of primary or metastatic liver cancer and its probable interference with different biosynthetic pathways is of extremely medical importance. In normal liver the induction of apoptosis and especially of caspase 3 by 5-FU, led to the hypothesis that the anti-metabolite may interfere with the apoptotic processes in the regenerating liver, thus compensating its cytotoxic action. It is supported that apoptosis can regulate the remodeling of liver and it is triggered in every DNA synthesis burst in order to terminate regeneration. In this study, six months old Wistar rats, kept under 12:12h light-dark conditions were used. The animals were fasted for 24h before a 70% hepatectomy (H). Sham-operated with 5-FU and experimental-H with and without 5-FU animals were examined. Sacrificing times (18, 36 and 48h post-operated) were chosen based on the fact that the activity of caspase 3 increases in the early physiological regenerating stages (a large number of hepatic cells in the S phase). During regeneration circadian biorhythms were found with correlated ultrastructural (extensive fatty liver degeneration of parenchymal cells, increase increased number of glycogen particles, etc) and biochemical methods (DNA and protein contents, caspase 3 activity, etc). The striking increase of the caspase 3 activity after the injection of 5-FU, in the 36h post-operated animals, possibly reflects a compensative effect against the cytotoxic action of 5-FU, thus supporting our working hypothesis.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΟΥ LANNATE
(METHOMYL) ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΩΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΤΗΣ
ΠΕΣΤΡΟΦΑΣ (*Oncorhynchus mykiss*) ΚΑΙ ΤΟΥ ΜΑΚΡΟΑΣΠΟΝΔΥΛΟΥ
*Thamnocephalus platyurus***

Μπακούλια Π. , Ηλιοπούλου-Γεωργουδάκη Ι.

Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Ζώων, Εργαστήριο Ρύπανσης
και Οικοτοξικολογίας, Ρίο 26500, Πάτρα

Η χρήση των εντομοκτόνων σε ευρεία κλίμακα τόσο σε καλλιέργειες παντός είδους όσο και σε δασικές εκτάσεις, έχει ως αποτέλεσμα την υδάτινη ρύπανση. Αυτή με τη σειρά της επιδρά στους υδρόβιους οργανισμούς όπως μακρο-ασπόνδυλα και ψάρια. Ανάλογα με τη συγκέντρωση που καταλήγει στα νερά, οι τοξικές επιδράσεις του εντομοκτόνου στο νερό μεγιστοποιούνται με την είσοδο του στην τροφική αλυσίδα. Η μελέτη της τοξικότητας του εντομοκτόνου Lannate και της δραστικής του ουσίας methomyl στη παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε με το μικροβιοτέστ *Thamnotoxkit F* και με τη πέστροφα, δίνοντας έτσι μια πιο ευρεία εικόνα για την επίδρασή του στους υδρόβιους οργανισμούς. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν ότι οι τιμές LC_{50} για το Lannate ήταν α) για τη πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) 4,01 mg/l με ανώτερο και κατώτερο όριο 5,29 mg/l και 3,04 mg/l αντίστοιχα, β) για το *Thamnocephalus platyurus* 0,12 mg/l με ανώτερο και κατώτερο όριο 0,35 mg/l και 0,04 mg/l αντίστοιχα και τέλος γ) το LC_{50} για το methomyl που έγινε μόνο στο *Thamnocephalus platyurus* ήταν 0,13 mg/l με ανώτερο και κατώτερο όριο 0,26 mg/l και 0,06 mg/l αντίστοιχα. Από τους οργανισμούς που χρησιμοποιήθηκαν, το *Thamnocephalus platyurus* κρίνεται ιδιαίτερα ευαίσθητο και αξιόπιστος δείκτης όπως φαίνεται από τον υψηλό συντελεστή προσδιορισμού LC_{50} ($R^2=0,9605$ για το Lannate και $R^2=0,954$ για το methomyl). Μετά από την μετατροπή των τιμών αυτών σε τοξικές μονάδες, βρέθηκε ότι αυτές ήταν στη πέστροφα 24,93 και στο *Thamnocephalus platyurus* 840,33 για το Lannate και 746,26 για το methomyl. Οι τιμές αυτές κατατάσσουν την ουσία από «πολύ τοξική» έως «εξαιρετικά τοξική». Άλλωστε, από την παρούσα εργασία, γίνεται φανερό ότι είναι απαραίτητος ο συστηματικός έλεγχος και η παρακολούθηση των αγροτικών προϊόντων και των οικοσυστημάτων για υπολείμματα των ουσιών αυτών, με παράλληλη απαίτηση για αυστηρότερη εφαρμογή της σχετικής νομοθεσίας. Χωρίς αμφιβολία κρίνεται απαραίτητη η έρευνα και η προώθηση Προγραμμάτων Ολοκληρωμένης Παραγωγής Αγροτικών Προϊόντων, η εφαρμογή εναλλακτικών μεθόδων φυτοπροστασίας και η χρησιμοποίηση χημικών μέσων που προκαλούν την κατά το δυνατόν μικρότερη επιβάρυνση στο περιβάλλον, σε συνδυασμό με την εκπαίδευση γεωτεχνικών και παραγωγών στην ορθή χρήση των φυτοπροστατευτικών προϊόντων.

**TOXICITY STUDY OF THE INSECTICIDE LANNATE (Methomyl) WITH
USE OF THE TROUT (*Oncorhynchus mykiss*) AND THE INVERTEBRATE
Thamnocephalus platyurus AS BIOLOGICAL INDICATORS**

Bakoulia P., Iliopoulou – Georgudaki J.

Unit of Pollution and Ecotoxicology, Section of Animal Biology, Department of Biology,
University of Patras, Rio 26500, Patras

The use of insecticides in a wide scale of agricultural districts and in forest lands results in aquatic pollution. This has an affect to aquatic organisms, such as invertebrates and fishes. Depending on their concentration, the toxic effects of insecticides in water are maximized with the entry in the trophic chain. The study of toxicity of the insecticide Lannate and its main substance methomyl in the present work was conducted with the microbiotest Thamnotoxkit F and with the trout, giving thus a wider picture for its effect to the aquatic organisms.

The results of present study showed that prices of LC_{50} for the Lannate were a) for the trout (*Oncorhynchus mykiss*) 4,01 mg/l, with superior and inferior limits 5,29 mg/l and 3,04 mg/l respectively, b) for the *Thamnocephalus platyurus* 0,12 mg/l, with superior and inferior limits 0,35 mg/l and 0,04 mg/l respectively and finally c) the LC_{50} values for methomyl, which was tested only with *Thamnocephalus platyurus* was 0,13 mg/l, with superior and inferior limits 0,26 mg/l and 0,06 mg/l respectively. From the organisms that were used, *Thamnocephalus platyurus* is a particularly sensitive and reliable indicator, as it appears from the high factor of determination LC_{50} ($R^2=0,9605$ for the Lannate and $R^2=0,954$ for methomyl). After the transformation of the values to toxic units, it was found that these were 24,93 for the trout toxicity test and for the *Thamnocephalus platyurus* 840,33 for Lannate and 746,26 for methomyl. These values classify the substance from "very toxic" to "exceptionally toxic". From the present work, it becomes obvious that it is essential to systematicly control and monitor rural products and ecosystems for remains of these substances, with parallel demand for stricter application of relative legislation. Without doubt, the research and promotion of Programs of Completed Production of Rural Products, the application of alternative methods of plant health protection and the utilization of chemical means that, cause minimum environmental problems is essential, in combination with the education of geotechnicians and producers in the sustainable use of plant-protection products.

ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΕΠΙΚΑΛΥΨΗΣ ΤΗΣ ΙΣΤΟΝΗΣ Η2ΑΧ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΠΟΠΤΩΣΗ**Μπαλατσός Ν.^{1,2}, Κωνσταντινοπούλου Β. και Ε. Ρογκάκου¹**

¹Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Ερευνητικό Κέντρο Βιοιατρικών Επιστημών «Αλέξανδρος Φλέμιγκ» Φλέμιγκ 34, Βάρη, Αττική. ²Παν/μιο Θεσσαλίας, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας Πλούτωνος 26, 41221, Λάρισα

Η ιστόνη Η2ΑΧ φωσφορυλιώνεται στη σερίνη 139 σε ένα συντηρημένο SQ μοτίβο του καρβοξυτελικού της άκρου, όταν κύτταρα ή πειραματόζωα εκτίθενται σε φυσικούς ή χημικούς παράγοντες που επάγουν διπλά σπασίματα στο DNA τους, και η ιστόνη αναφέρεται ως γΗ2ΑΧ. Σε προηγούμενες ανακοινώσεις μας, έχουμε δείξει ότι η γΗ2ΑΧ παρατηρείται σε πηκτώματα ιστονών AUT-AUC υψηλής ανάλυσης, ως αποτέλεσμα επαγωγής διπλών σπασμάτων από αποπτωτικές ενδονουκλεάσες, όπου η παρουσία ZVAD ή υπερέκφραση του mlCAD, αναστέλλουν πλήρως την γΗ2ΑΧ, γεγονός που υπαινίσσεται πως το φαινόμενο υπόκειται σε ρύθμιση από κασπάσες. Αντίθετα, ο επίτοπος που περιέχει το SQ μοτίβο δεν αναγνωρίζεται σε αποπτωτικά κύτταρα από εξειδικευμένα αντισώματα με πρότυπες τεχνικές ανοσοκυτταροχημείας. Αυτό συμβαίνει μόνο κατά τη διάρκεια της απόπτωσης και δείξαμε ότι δεν οφείλεται σε κάποια τροποποίηση του επιτόπου ή σε αποσύνδεση της ιστόνης από τη χρωματίνη. Στην πορεία αναπτύξαμε ένα πρωτόκολλο για να αποκαλυφθεί ο επίτοπος της γΗ2ΑΧ κατά την απόπτωση. Η γΗ2ΑΧ δίνει πολύ ισχυρό σήμα στον πυρήνα, συνεντοπίζεται ακριβώς με το DNA και παρουσιάζεται σε όλα τα κύτταρα σε όλα τα στάδια της συμπύκνωσης της χρωματίνης κατά την απόπτωση. Όταν διαφορετικές κασπάσες εισάγονται σε διάτρητα κύτταρα, η γΗ2ΑΧ επικαλύπτεται. Δείχνουμε πως επικάλυψη της γΗ2ΑΧ δεν προκαλείται από συμπύκνωση της χρωματίνης αλλά από κάποιον μέχρι στιγμής άγνωστο παράγοντα. Στην παρούσα φάση, διερευνάται το κατά πόσο αυτή η επικάλυψη αποσκοπεί στην απενεργοποίηση της γΗ2ΑΧ από διεργασίες επιδιόρθωσης του DNA, ή συντελεί στην δημιουργία του αποπτωτικού φαινότυπου. Με βάση τα προηγούμενα, επιχειρούμε επίσης τον απομόνωση αυτού του παράγοντα σε εμβρυϊκά στελεχιαία κύτταρα (embryonic stem cells) όπου η Η2ΑΧ έχει εξουδετερωθεί (knockout).

BIOLOGICAL SIGNIFICANCE OF H2AX MASKING IN APOPTOSIS

Balatsos N.^{1,2}, Constantinopoulou V. & E. Rogakou¹

¹BSRC "Al. Fleming" Institute of Molecular Biology and Genetics, Fleming 34, 166 72, Vari, Attiki, ²Dept. of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Ploutonos 26, 412 21 Larissa

Histone H2AX becomes phosphorylated at serine 139 (named H2AX) in a conserved C-terminus SQ motif, upon introduction of double strand breaks by physical or chemical means, or by physiological processes in cells or animals. In our previous communications, we show that H2AX forms on AUT-AUC high resolution histone gels, as a consequence of the introduction of double-strand breaks by apoptotic endonucleases in the course of apoptosis. γ H2AX formation is massively inhibited by ZVAD presence or mlCAD overexpression, indicating that γ H2AX induction is under the control of caspases. Strikingly, H2AX epitope is not accessible to specific antibodies in apoptotic cells, when standard immunocytochemistry protocols are applied. This inaccessibility occurs only during apoptosis and is not due to any modification of the epitope or to disassociation of this histone from chromatin. In due course, we developed a protocol to reveal the H2AX epitope in apoptosis. After revealing, H2AX shows very strong nuclear signal, colocalizes precisely with DNA, and is present in all apoptotic cells that exhibit all different stages of apoptotic chromatin condensation. When different caspases are imported into permeabilized cells, γ H2AX becomes masked. We show that γ H2AX masking is not induced by chromatin condensation, but by a currently unknown masking factor. It is still under investigation whether this masking serves to "silence" H2AX from DNA repair processes in apoptosis, or serves the construction of the apoptotic phenotype. Currently, we are attempting to purify this masking factor and to address questions of biological significance by utilizing H2AX knockout embryonic stem cells.

ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΗΣ ΟΚΥΤΟΚΙΝΗΣ ΣΤΟ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟ ΠΟΝΤΙΚΩΝ**Μπερέτσος^{1,2} Π., Κουσουλάκος¹ Σ., Κιαπέκου² Ε., Λουτράδης² Δ.**¹Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα²Α' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, ΓΝΑ "Αλεξάνδρα", Αθήνα

Η διαδικασία της εμφύτευσης του προεμβρύου στο μυομήτριο περιλαμβάνει πολύπλοκες διαδικασίες, στις οποίες συμμετέχει πλήθος ορμονών και άλλων διαβιβαστών, με σκοπό να δημιουργήσουν το κατάλληλο περιβάλλον για το έμβρυο (π.χ. LH, FSH, οιστρογόνα) ενώ συμμετέχουν στην «επικοινωνία» και στην αλληλεπίδραση ενδομητρίου και εμβρύου (π.χ. LIF, EGF, αυξητικοί παράγοντες). Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η οκυτοκίνη, ένα μικρό εννεαπεπτιδίο, και ο υποδοχέας της, μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη συνδεδεμένη σε G-πρωτεΐνη. Σκοπός αυτής της μελέτης ήταν η διαλεύκανση της έκφρασης του υποδοχέα της οκυτοκίνης *in vivo* στο ενδομήτριο του ποντικού, καθ' όλη τη διάρκεια του αναπαραγωγικού κύκλου, με έμφαση στο "παράθυρο" της εμφύτευσης του προεμβρύου στη μήτρα. Ελήφθησαν μήτρες ποντικών ανά 24 ώρες για διάστημα πέντε ημερών, μετά από πρόκληση πολλαπλής ωοθυλακιορρηξίας. Οι ιστοί υπέστησαν ιστολογική διαδικασία παραφίνης και μελετήθηκε η έκφραση του υποδοχέα της οκυτοκίνης με ανοσοϊστοχημεία (HRP-AEC). Διαπιστώθηκε η έκφραση του υποδοχέα της οκυτοκίνης στο ενδομήτριο των ποντικών καθ' όλη τη διάρκεια του αναπαραγωγικού κύκλου, κυρίως στα επιθηλιακά κύτταρα και στους αδένες του ενδομητρίου. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της έκφρασης του υποδοχέα κατά τα μέσα του κύκλου (ωορρηξία) και επακόλουθη οριακή αύξηση κατά την εκκριτική φάση (περι-εμφυτευτική περίοδος). Η έκφραση του υποδοχέα της οκυτοκίνης στο ενδομήτριο του ποντικού φαίνεται να μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια του αναπαραγωγικού κύκλου. Το γεγονός ότι η οκυτοκίνη συσχετίζεται με την προαγωγή της έκφρασης των προσταγλαδινών στο ενδομήτριο οι οποίες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην εμφύτευση, καταδεικνύει μια πιθανή ενεργή συμμετοχή της ορμόνης και του υποδοχέα της στη διαδικασία αυτή.

EXPRESSION AND LOCALIZATION OF THE OXYTOCIN RECEPTOR IN THE ENDOMETRIUM OF CYCLING MICE

Beretsos^{1,2} P., Koussoulakos¹ S., Kiapekou² E., Loutradis² D.

¹Faculty of Biology, University of Athens, Athens, Greece ²Division of Reproductive Medicine, 1st Department of Obstetrics and Gynecology, Athens University Medical School, Athens, Greece

The process of proembryo implantation includes a series of complex biochemical processes, with the participation of a large number of hormones and transmitters. Those molecules are responsible for the endometrial preparation (e.g. LH, FSH, oestrogens) and participate in the interaction between endometrium and embryo (e.g. LIF, EGF, growth factors etc.). A typical example is oxytocin, a nonapeptide, and its receptor, a trans-membrane protein coupled to a G-protein. The aim of this study was to investigate the expression of the oxytocin receptor *in vivo* in the endometrium of the female mouse throughout its normal reproductive cycle, and especially during the implantation “window”.

The uterus of female mice was collected daily for five days. Induction of ovulation was previously performed, in order to obtain a controlled cycle. The tissues were fixed and embedded in paraffin. The expression of the oxytocin receptor was detected on tissue sections with the use of the avidin-biotin complex and the HRP-AEC system. The expression of the oxytocin receptor in the mouse endometrium was observed throughout the reproductive cycle. The oxytocin receptor was mainly localized at the endometrial epithelial cells and the endometrial glands, with little if any expression at the stroma. In fact, significant decrease in the oxytocin receptor expression was observed at mid-cycle (ovulation phase) followed by a limited increase during the late secretory phase (peri-implantation period). The expression of the oxytocin receptor in the mouse appears to be related to the specific stage of the reproductive cycle studied. The fact that oxytocin promotes the expression of prostaglandins, which seem to have an important role in implantation, suggest a possible implication of oxytocin and its receptor in the process of implantation in the mouse.

**ΜΕΛΕΤΗ ΑΝΤΙΜΕΤΑΦΟΡΕΩΝ Na^+/H^+ ΣΤΟ ΚΥΑΝΟΒΑΚΤΗΡΙΟ
Synechococcus SP PCC 7942****Μπιλλίνη Μ., Σοφianoπούλου Β. και Κ. Σταματάκης**

Ινστιτούτο Βιολογίας, Ε.Κ.Ε.Φ.Ε «Δημόκριτος», 15310, Αγία Παρασκευή Αττικής

Η αυξημένη αλατότητα αποτελεί για πολλούς φωτοσυνθετικούς οργανισμούς περιοριστικό παράγοντα ανάπτυξής τους. Η μεταφορά ιόντων Na^+ διαμέσου της κυτταροπλασματικής μεμβράνης πραγματοποιείται με: 1) παθητική είσοδό τους στο εσωτερικό του κυττάρου, και 2) ενεργητική αποβολή τους από το κυτταρόπλασμα. Η ενεργητική αποβολή επιτυγχάνεται μέσω της δράσης αντιμεταφορέων Na^+/H^+ . Οι αντιμεταφορείς Na^+/H^+ καταλύουν την ανταλλαγή ιόντων Na^+ με H^+ διαμέσου της κυτταρικής μεμβράνης και η δράση τους εμπλέκεται σε διάφορες κυτταρικές λειτουργίες. Πρόσφατα απομονώθηκαν γονίδια που κωδικοποιούν αντιμεταφορείς Na^+/H^+ από το κυανοβακτήριο *Synechocystis* sp. PCC 6803. Ομόλογα αυτών των αντιμεταφορέων εμφανίζονται στα φυτά (*SOS1* και *AtNHX1* από το *Arabidopsis thaliana*), στα θηλαστικά (NHEs από τον άνθρωπο) και στα βακτήρια (*nhaA* από το *Pseudomonas auerengiosa*, *nhaA*, *nhaB*, *chaA* από την *Escherichia coli*). Το κυανοβακτήριο του γλυκού νερού *Synechococcus* sp. PCC 7942 χαρακτηρίζεται από ταχεία παθητική είσοδο των ιόντων Na^+ και ενεργητική αποβολή τους από το εσωτερικό του κυττάρου. Επιπρόσθετα, προηγούμενες μελέτες έχουν αποδείξει την ύπαρξη ενεργότητας αντιμεταφορέα Na^+/H^+ γι' αυτό τον οργανισμό. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται η κλωνοποίηση, ο μοριακός χαρακτηρισμός και ο τρόπος προσέγγισης του λειτουργικού χαρακτηρισμού γονιδίου (*SycNaH1*) που κωδικοποιεί για πιθανό αντιμεταφορέα Na^+/H^+ στο κυανοβακτήριο *Synechococcus* sp. PCC 7942.

Η εργασία αυτή χρηματοδοτείται από την Γ.Γ.Ε.Τ. ΠΕΝΕΔ 2001 (01ΕΔ148)

STUDIES ON AN ANTIporter Na^+/H^+ OF THE CYANO-BACTERIUM *Synechococcus* SP PCC 7942

Billini M., Sophianopoulou V. & K. Stamatakis

Institute of Biology NCSR Demokritos, 15310, Aghia Paraskevi Attikis

High salinity is the main limiting factor of growth for many photosynthetic organisms. Photosynthetic organisms import Na^+ passively and export it actively from the cytoplasm. Na^+/H^+ antiporters are responsible for the active extrusion. Such proteins catalyze the exchange of Na^+ for H^+ across membranes and they are involved in a variety of cellular functions. Recently, were isolated genes encoding for antiporters from the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. Homologues of these antiporters exist in plants (*SOS1* and *AtNHX1* from *Arabidopsis thaliana*), in mammals (NHEs from human) and in bacteria (*nhaA* from *Pseudomonas aeruginosa* and *nhaA*, *nhaB*, *chaA* from *Escherichia coli*). Freshwater cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7942 is characterized by extend of passive import and active export of Na^+ . Moreover, in previous studies an antiporter Na^+/H^+ activity has been showed. In the present work we report the cloning, molecular characterization and preliminary results on the functional characterization of a gene (*SycNaH1*), encoding for a putative Na^+/H^+ antiporter from *Synechococcus* sp. PCC 7942.

This work was financially supported by GGET PENED-2001 grant (0IEDI48)

**ΜΙΑ ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΠΕΝΤΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΠΡΟΤΟΚΟΛΛΩΝ
RT-PCR ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ COXSACKIE
A ΚΑΙ B ΙΩΝ. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗΝ ΚΛΙΝΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ**

Μπολανάκη Ε.^{1,3}, Κοτταρίδη Χρ.^{2,3}, Μαρκουλάτος Π.², Μαργαρίτης Λ.Χ.¹,
Κατσώρης Θ.¹

¹Τομέας Κυτταρικής Βιολογίας και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών
²Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πλούτωνος και Αιόλου
26, Λάρισα 41221, Ελλάδα. ³Εθνικό Κέντρο Αναφοράς Εντεροϊών, Εργαστήριο Ιολογίας,
Ελληνικό Ινστιτούτο Pasteur, Λεωφ. Βασ. Σοφίας 127, Αθήνα 11521, Ελλάδα.

Οι σύγχρονες μοριακές προσεγγίσεις στην ανίχνευση των ανθρώπινων Εντεροϊών βασίζονται στον σχεδιασμό γενικευμένων και συχνά εκφυλισμένων εκκινητών προκειμένου να ενισχυθούν ειδικές αλληλουχίες του γενώματος των Εντεροϊών. Στην παρούσα εργασία, επιχειρήθηκε μία συγκριτική μελέτη εκκινητών που στοχεύουν στην 5'UTR, την VPI, την 3D περιοχή καθώς και σε έναν μεγάλο γενωμικό τμήμα που περιλαμβάνει το 3' άκρο της VPI, όλη την 2A και 2B, και το 5' ήμισυ της 2C κωδικής περιοχής, προκειμένου να αξιολογηθούν η ειδικότητα, ευαισθησία και η καταλληλότητά τους. Μεταξύ 21 CAV προτύπων στελεχών και των 6 CBV προτύπων στελεχών που ελέγχθηκαν τα αποτελέσματα ήταν ποικίλα. Θετικό προϊόν PCR από όλα τα εξεταζόμενα πρότυπα στελέχη λήφθηκε με τη χρήση των ζευγαριών 040-011, 292-222 και UC53-UG52, ενώ το ζευγάρι 012-011 έδωσε θετικό σήμα για 11 CAV και για όλα τα 6 CBV, το ζευγάρι 5850F-6500R για 8 CAV και όλα τα CBV στελέχη και το ζευγάρι EUC2-EUG3a-3b-3c ενίσχυσε επιτυχώς 16 CAV και για όλα επίσης τα CBV πρότυπα στελέχη. Μεταξύ 44 κλινικών στελεχών, ποικίλων ως προς την προέλευση και τον χρόνο απομόνωσης και τα οποία αντιπροσωπεύουν 5 διαφορετικούς CAV και όλους τους (6)CBV οροτύπους, θετικό προϊόν PCR λήφθηκε επιτυχώς από: 19 από αυτά χρησιμοποιώντας το ζευγάρι 040-011, 40 από αυτά με το ζευγάρι 012-011, 30 με τα EUC2-EUG3a-3b-3c, 43 από αυτά με το 292-222 και τέλος όλα τα κλινικά στελέχη με τα ζευγάρια εκκινητών UC53-UG52 και 5850F-6500R. Η αλληλούχιση των τμημάτων που προέκυψαν με την χρήση των 292-222 και EUC2-EUG3a-3b-3c και η χρήση κατάλληλων προγραμμάτων για την κατασκευή φυλεγενετικών δένδρων δείχνει ότι στην VPI περιοχή του γονιδιώματος τα κλινικά στελέχη ταξινομούνται μαζί με τον αντίστοιχο ορότυπο προτύπων στελεχών. Βασιζόμενοι στα παραπάνω αποτελέσματα συμπεραίνουμε ότι κάποια από τα ήδη δημοσιευμένα πρωτόκολλα χρήζουν βελτιώσεων προκειμένου να πληρούν τις απαιτήσεις μιας ακριβούς μεθόδου ανίχνευσης και ταυτοποίησης των Coxsackie A και B ιών. Αντιθέτως δύο από τα πρωτόκολλα που εφαρμόστηκαν αποδείχτηκαν πιο ακριβή ως προς την ευαισθησία και την καταλληλότητά τους, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι η RT-PCR ακολουθούμενη από μία απλή RFLP, στην περίπτωση του ζευγαριού UC53-UG52 ή από αλληλούχιση και ανάλυση αλληλουχιών (στην περίπτωση των 292-222 και EUC2-EUG3a-3b-3c) θα μπορούσε να συνιστά ισχυρή εναλλακτική μέθοδο στην σύγχρονη διαγνωστική και ταυτοποίηση των εντεροϊών, έναντι των συντηρητικών ανοσολογικών μεθόδων ταξινόμησης.

A COMPARATIVE STUDY OF FIVE DIFFERENT RT-PCR PROTOCOLS FOR THE DETECTION AND IDENTIFICATION OF COXSACKIE A AND B VIRUSES IMPLICATIONS IN CLINICAL DIAGNOSTICS

Bolanaki E.^{1,3}, Kottaridi Chr.^{2,3}, Markoulatos P.², Margaritis L.H.¹, Katsorchis Th.¹

¹Dept of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens

²Dept of Biochemistry & Biotechnology, Microbiology – Virology Laboratory, University of Thessaly, 26 Ploutonos & Aeolou str., Larisa 41221, Greece

³National Reference Centre, Dept of Virology, Hellenic Pasteur Institute, 127 Vas. Sofias Avenue, Athens 11521, Greece

Modern molecular approaches in Human Enterovirus detection rely on the designing of generic and often degenerate primers in order to amplify specific sequences within the Enterovirus genome. In the present report a comparative study of primer sets targeting 5'UTR, the VPI region, the 3D region as well as a long genomic fragment including the 3' end of VPI, the full length of 2A and 2B, and the 5' moiety of the 2C-coding region was attempted, in order to evaluate their specificity, sensitivity and suitability. Among 21 CAV reference strains and the 6 CBV reference strains tested, the results were discriminated. A positive amplification product of all investigated reference strains was obtained by the use of primer sets 040-011, 292-222 and UC53-UG52, whilst primer set 012-011 amplified 11 CAV and all 6 CBV, primer set 5850F-6500R 8 CAV and all CBV strains and primer set EUC2-EUG3a-3b-3c succeeded in the amplification of 16 CAV and all, as well, CBV reference strains. Among 44 clinical strains, varying in origin and time of isolation, and reflecting 5 different CAV serotypes and all 6 CBV serotypes, an amplification product was successfully attained from: 19 of them using primer set 040-011, 40 of them with primer set 012-011, 30 with primer set EUC2-EUG3a-3b-3c, 43 of them with primer pair 292-222 and finally all the clinical isolates with primer sets UC53-UG52 and 5850F-6500R. The sequencing of the fragments obtained with primers 292-222 and 5850F-6500R and the use of appropriate programs for the designing of phylogenetic trees, indicates that in the VPI coding region the clinical isolates cluster along with the corresponding serotype of reference strains. Based on the above results we conclude that some of the published protocols need to be improved so as to fulfill the demands of an accurate detection and typing of Coxsackie A and B viruses. Contrarily, two of the protocols applied were proved to be more accurate in terms of sensitivity and suitability, suggesting that RT-PCR followed by a simple RFLP assay in the case of primer pair UC53-UG52 or by sequencing and sequence analysis (in the case of primer sets 292-222 and EUC2-EUG3a-3b-3c) should constitute alternative means of modern typing and diagnostics against conventional immunological classification methods.

**ΤΟΞΙΚΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΛΛΑΞΙΓΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ
ΤΩΝ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΦΥΤΩΝ *Salvia pomifera* ΚΑΙ *Rosmarius officinalis*****Ναζλή Ε.¹, Παρθενίου Φ.¹, Φραντζιός Γ.¹, Πάνου – Φιλοθέου Ε.²,
Μαυραγάνη – Τσιπίδου Π.¹**¹Τομέας Γενετικής Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 541 24 Θεσσαλονίκη ²Τμήμα Φυτικής Παραγωγής, ΣΤΕΓ – ΤΕΙΘ, 541 01 Θεσσαλονίκη

Η παρούσα μελέτη εντάσσεται σε ένα γενικότερο πλαίσιο ελέγχου της μεταλλαξιγένου και ανασυνδυαστικής δράσης των αιθέριων ελαίων. Τα αιθέρια έλαια, αποτελούν προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού των αρωματικών φυτών και, τα τελευταία χρόνια, βρίσκουν πληθώρα εφαρμογών, πολλές εκ των οποίων έχουν άμεση σχέση με τον άνθρωπο (βιομηχανίες τροφίμων, καλλυντικών, φαρμακοβιομηχανίες κ.α.).

Στη μελέτη αυτή, τα αιθέρια έλαια των φυτών *Salvia pomifera* (φασκόμηλο) και *Rosmarius officinalis* (δεντρολίβανο) αναλύθηκαν σε αέριο χρωματογράφο SHIMADZU GC-14A και ελέγχθηκαν για τοξική και γενετοξική δράση. Για τον έλεγχο τόσο της τοξικής όσο και μεταλλαξιγένου ή ανασυνδυαστικής δράσης των παραπάνω αιθέριων ελαίων χρησιμοποιήθηκε το έντομο *Drosophila melanogaster*, το οποίο θεωρείται ένα από τους ιδανικότερους οργανισμούς – μοντέλα για *in vivo* πειράματα. Η τοξικότητα καθορίζεται από το ποσοστό των ατόμων, που εκκολάπτονται, μετά από επίδραση με διάφορες συγκεντρώσεις (1μl/ml – 20μl/ml) των αιθέριων ελαίων. Πραγματοποιήθηκαν τόσο χρόνιες όσο και οξείες επιδράσεις. Προσδιορίστηκε η τιμή LD₅₀ (Lethal Dose 50%), η οποία αποτελεί την κρίσιμη συγκέντρωση κάθε ουσίας, που προκαλεί θάνατο στο 50% των ατόμων. Για τον προσδιορισμό της μεταλλαξιγένου ή ανασυνδυαστικής δράσης των αιθέριων ελαίων εφαρμόστηκε η δοκιμή SMART (Somatic Mutation And Recombination Test) σε προνύμφες του δίπτερου *Drosophila melanogaster*.

**TOXIC AND GENOTOXIC EFFECT OF THE ESSENTIAL OILS OF THE
AROMATIC PLANTS *Salvia pomifera* AND *Rosmarius officinalis***

Nazli E.¹, Partheniou P.¹, Franzios G.¹, Panou-Filotheu E.², Mavragani-Tsipidou P.¹

¹Dept of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University, 541 24 Thessaloniki

²Dept of Plant Production, Technological Education Institution, 541 01 Thessaloniki

The present study is part of a wide series of tests concerning the mutagenic and recombinogenic activity of essential oils. Essential oils are products of the secondary metabolism of aromatic plants, and they have a wide range of applications, some of which are directly related to humans; such as food production, cosmetics, pharmaceuticals, etc.

In this study, the essential oils of the plants *Salvia pomifera* and *Rosmarius officinalis* were analyzed with chromatography SHIMADZU GC – I4A and tested for toxic and genotoxic activities. For both activities the insect *Drosophila melanogaster* was used as a model organism. The toxicity was estimated by the percentage of individuals that survived after treatment of different concentrations (1µl/ml to 20µl/ml) of the above essential oils on *Drosophila* larvae. In particular, the larvae were exposed to the above concentrations either for 18hrs (acute effect) or 15 days (chronic effect). LD₅₀ (Lethal Dose 50%), which is the crucial dose of each individual compound that causes death to 50% of the tested larvae, was estimated. For screening the genotoxic activity of the tested compounds, the wing somatic mutation and recombination tests (SMART) were applied.

**ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ ΣΕ ΔΙΠΛΑ ΜΕΤΑΛ-
ΛΑΓΜΕΝΑ ΩΘΟΥΛΑΚΙΑ ΓΙΑ ΤΑ ΓΟΝΙΔΙΑ *dcp-1/pita* ΚΑΤΑ ΤΗ
ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΩΟΓΕΝΕΣΗΣ ΣΤΗ *Drosophila melanogaster*****Νέζης Ι.Π., Στραβοπόδης Δ.Ι., Παπασιδέρη Ι.Σ., Στεργιόπουλος Κ.
και Λ.Χ. Μαργαρίτης**Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784, Αθήνα

Στην παρούσα εργασία, παρουσιάζουμε τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των ωθυλακίων της *Drosophila melanogaster* στα τροφοκύτταρα των οποίων τα γονίδια *dcp-1^{-/-}* και *pita^{-/-}* είναι ανενεργά. Τα *dcp-1^{-/-}/pita^{-/-}* τροφοκύτταρα περιέχουν ευχρωματινικούς πυρήνες στα τελευταία στάδια της ωογένεσης, όπως διαπιστώνεται μέσω συμβατικής φωτονικής και ηλεκτρονικής μικροσκοπίας. Μετά από χρώση με φαλλοϊδίνη συνδεδεμένη με φλουορεσκίνη, παρατηρήσαμε σημαντικές αλλαγές στην οργάνωση του κυτταροσκελετού των τροφοκυττάρων. Οι δέσμες ακτίνης δεν οργανώνονται και η κατανομή των ινιδίων ακτίνης στους δακτυλιοειδείς δίσκους είναι διαφορετική συγκρινόμενη με τα φυσιολογικά ωθυλάκια. Η μορφολογία του ωκυττάρου και του χορίου είναι επίσης αλλοιωμένη. Ο πυρήνας του ωκυττάρου είναι εκτός θέσης και το χόριο παρουσιάζει ασυνήθιστες αναδιπλώσεις, ενώ και τα αναπνευστικά νημάτια παρουσιάζουν ανώμαλη μορφολογία. Τα *dcp-1^{-/-}/pita^{-/-}* ωθυλάκια δεν παρουσιάζουν τα αποπτωτικά φαινόμενα που συμβαίνουν σε πολύ μικρό ποσοστό κατά το μεσοδιάστημα της ωογένεσης στα έντομα φυσικού τύπου, ενώ εμφανίζονται ανθεκτικά στην επαγόμενη από τη σταυροσπορίνη απόπτωση σε ποσοστό 40%, γεγονός που δείχνει τον πολύ σημαντικό ρόλο της κασπάσης *dcp-1^{-/-}* κατά το μεσοδιάστημα της ωογένεσης.

Η έρευνα αυτή επιχορηγήθηκε από την Ευρωπαϊκή Ένωση (TMR-Network, Grant N° ERBFMRXCT 980200) και από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Παν/μίου Αθηνών στο Καθηγητή Λ.Χ. Μαργαρίτη.

**MORPHOLOGICAL IRREGULARITIES AND FEATURES OF RESISTANCE
TO APOPTOSIS IN THE *dcp-1/pita* DOUBLE MUTATED EGG
CHAMBERS DURING *Drosophila* OOGENESIS**

**Nezis I.P., Stravopodis D.J., Papassideri I.S., Stergiopoulos C.,
& L.H. Margaritis**

Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology, National & Kapodistrian
University of Athens, Panepistimiopolis, 15784, Athens -Greece

In the present study, we demonstrate the novel most characteristic morphological features of *Drosophila* egg chambers lacking both *dcp-1*^{-/-} and *pita* functions in the germline cells. The *dcp-1*^{-/-}/*pita*^{-/-} nurse cells exhibit euchromatic nuclei (delay of apoptosis) during the late stages of oogenesis, as revealed by conventional light and electron microscopy. The phalloidin-FITC staining discloses significant defects in actin cytoskeleton arrangement. The actin bundles fail to organize properly and the distribution of actin filaments in the ring canals is changed compared to the wild type. The oocyte and the chorion structures have been also modified. The oocyte nucleus is out of position and the chorion appears to contain irregular foldings, while the respiratory filaments obtain an altered morphology. The *dcp-1*^{-/-}/*pita*^{-/-} egg chambers do not exhibit the rare events of spontaneously induced apoptosis, observed for the wild type flies, during mid-oogenesis. Interestingly, the mutated egg chambers are protected by staurosporine-induced apoptosis in a percentage of 40%, strongly suggesting for the essential apoptotic role of *dcp-1* during mid-oogenesis.

This work was supported by grant from European Union (TMR-Network, Grant N° ERBFMRXCT 980200) and the Special Account for Research Grants of the University of Athens to Professor L.H. Margaritis.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΡΥΘΜΙΣΗΣ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ
ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ COUP-TF ΣΤΟΝ ΑΧΙΝΟ**

Νούσης Φ., Καλαμπόκη Λ., Κωσταράς Λ., Χουντάλα Φ., Καρίνος Θ.
και Κ.Ν. Φλυτζάνης

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών

Ο COUP-TF (Chicken Ovalbumin Upstream Promoter-Transcription Factor) είναι ένα μέλος της υπεροικογένειας των υποδοχών στεροειδών/θυρεοειδών ορμονών και μάλιστα πρόκειται για ένα ορφανό μέλος (δεν έχει ακόμη βρεθεί αν δεσμεύει κάποια γνωστή ορμόνη). Απαντάται σε πολλούς οργανισμούς, από τη *D. melanogaster* και τον *C. elegans* μέχρι τα ανώτερα θηλαστικά και τον άνθρωπο. Ανάλυση της αλληλουχίας διαφόρων COUP-TF γονιδίων δείχνει ξεκάθαρα ότι ανήκουν σε μία ξεχωριστή υποοικογένεια της υπεροικογένειας στεροειδών/θυρεοειδών υποδοχών. Εκφράζεται κατά την ανάπτυξη των οργανισμών στο νευρικό εξώδερμα αλλά και στο ενδιάμεσο μεσόδερμα οπίσθια του πρώτου σωμήτη για τα σπονδυλωτά ενώ στην *D. melanogaster* το ομόλογο γονίδιο *svr* είναι απαραίτητο στον καθορισμό των φωτουποδοχών των οματιδίων. Στον αχινό ο COUP-TF εκφράζεται κατά την ωογένεση, στο στοματικό εξώδερμα του εμβρύου, στα νευρικά κύτταρα της λάρβας καθώς και σε διάφορους ιστούς του ενήλικα. Στο πλαίσιο της μελέτης των μεταγραφικών παραγόντων που επηρεάζουν την μεταγραφή του COUP-TF στον αχινό, έγινε χαρτογράφηση με ένζυμα περιορισμού ενός ενθέματος λ φάγου που προέκυψε από γενομική βιβλιοθήκη του αχινού *P. lividus* σε φάγο λ. Βρέθηκε ότι εκτός της αλληλουχίας του γονιδίου COUP-TF ο φάγος αυτός περιείχε 2,5kb ανοδικής αλληλουχίας. Το τμήμα αυτό απομονώθηκε και κλωνοποιήθηκε σε πλασμιδιακό φορέα. Πραγματοποιήθηκε χαρτογράφηση με ένζυμα περιορισμού και παραγωγή μίας σειράς πλασμιδιακών φορέων με διαδοχικές απαλοιφές της ανοδικής αλληλουχίας ώστε να επιτευχθεί ολική αλληλούχιση. Η αλληλουχία της ανοδικής περιοχής αναλύθηκε με τη βοήθεια βάσεων δεδομένων για στοιχεία απόκρισης μεταγραφικών παραγόντων. Η ανάλυση αυτή υπέδειξε μια σειρά πιθανών στοιχείων απόκρισης που αποτελούν αντικείμενο έρευνας με την βοήθεια τεχνικών EMSA για την *in vitro* εξακρίβωση των μεταγραφικών παραγόντων που πιθανότατα ρυθμίζουν την έκφραση του PICOUPTF. Επιπλέον η περιοχή των 2,5kb καθώς και ελλείμματά της κλωνοποιήθηκαν σε πλασμιδιακό φορέα που ενσωματώνει την πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη (GFP) για την ανάλυση *in vivo* των διαφόρων στοιχείων του υποκινητή. Οι ελλειμματικές αυτές περιοχές γίνονται ένεση σε αυγά του αχινού *P. lividus*.

REGULATION OF EXPRESSION OF THE TRANSCRIPTION FACTOR COUP-TF IN THE SEA URCHIN

Noussis F., Kalaboki L., Kostaras L., Houdala F., Karinos Th. & C.N. Flytzanis

Department of Biology, University of Patras, Rio 26500, Greece

The gene encoding COUP-TF (Chicken Ovalbumin Upstream Promoter-Transcription Factor) is a member of the steroid/thyroid hormone receptor superfamily and in fact an orphan receptor (no hormone has been found to activate it). COUP-TF homologs are found in many species, from *D. melanogaster* and *C. elegans* to vertebrates and man. Sequence comparison between various COUP-TF genes clearly shows that they belong to a distinct subfamily within the steroid/thyroid superfamily. In vertebrates transcripts are detected in the developing neural ectoderm but also in the intermediate mesoderm posterior to the first somite. In *D. melanogaster* the COUP-TF homolog *svp* is required to specify photoreceptor cell fate. In sea urchins COUP-TF is expressed during oogenesis, in the oral ectoderm of the embryo, in various neurons of the larva and in adult tissues. We embarked on a study to examine the regulation of COUP-TF expression in the sea urchin *P. lividus*. We performed a restriction site mapping of a λ phage which was selected from screening of a λ genomic library of the sea urchin. We found that the λ clone in addition to the gene region it contained approximately a 2,5kb fragment of upstream sequence. This fragment was cloned in a plasmid vector and a restriction map was made. Several deletions of this upstream region were also cloned in plasmid vectors and sequenced. The sequencing data obtained from the entire 2,5kb fragment was compared to data bases of transcription factor binding sites and regions with high homology to various response elements were found. These regions are currently under investigation with techniques such as EMSA to reveal the identity of transcription factors that regulate PICOUPTF expression. Furthermore the 2,5kb upstream fragment and deletions of it were cloned in a plasmid vector containing the GFP (green fluorescent protein) gene as reporter for in vivo determination of the COUP-TF promoter elements. These constructs are currently injected into *P.lividus* eggs.

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΡΙΖΩΝ ΚΑΙ ΒΛΑΒΕΣ ΤΟΥ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΣΕ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΠΕΠΤΙΚΟΥ ΑΔΕΝΑ ΤΟΥ ΜΥΔΙΟΥ *Mytilus galloprovincialis* (L.), ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΚΘΕΣΗ ΣΕ ΚΑΔΜΙΟ**Νταϊλιάνης Στ. και Μ. Καλογιάννη**

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη 54124

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε το σηματοδοτικό μονοπάτι που συμμετέχει στην παραγωγή οξειδωτικών ριζών (Reactive Oxygen Species, ROS) και την επαγωγή γενετικών βλαβών (DNA damage) σε απομονωμένα κύτταρα πεπτικού αδένου του μυδιού *Mytilus galloprovincialis*, μετά από έκθεση σε κάδμιο. Τα αποτελέσματα έδειξαν σημαντική αύξηση των ενδοκυτταρικά παραγόμενων ROS μετά από έκθεση σε CdCl₂ (50 μM). Η αντλία ανταλλαγής ιόντων Na⁺/H⁺ (NHE), φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία παραγωγής ROS, μιας και αναστολή της δράσης της, με χρήση του ειδικού της αναστολέα (EIPA 20 nM), μειώνει σημαντικά την παραγωγή ROS. Ανάλογα αποτελέσματα προκύπτουν μετά από αναστολή της PKC. Εφαρμογή της τεχνικής Comet assay έδειξε την πρόκληση γενετικών βλαβών, μετά από έκθεση σε CdCl₂. Σημαντική είναι η μείωση των γενετικών βλαβών που παρατηρήθηκε μετά από χρήση των αναστολέων της NHE και της PKC. Η αναστολή των α₁-, α₂- και β-αδρενεργικών υποδοχέων με τη χρήση των ανταγωνιστών τους (πραζοσίνη 1 μM, γιοχιμπίνη 1 μM, προπρανολόλη 10 μM αντίστοιχα) μειώνει σημαντικά τις δράσεις του μετάλλου τόσο στην παραγωγή ROS, όσο και στη βλάβη του DNA. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι το κάδμιο, αφού αντιδράσει με τους α₁-, α₂- και β-αδρενεργικούς υποδοχείς, πιθανόν να επάγει μονοπάτι μετάδοσης μηνύματος που περιλαμβάνει την παραγωγή ROS και την πρόκληση γενετικών βλαβών, μέσω της ενεργοποίησης της αντλίας ανταλλαγής ιόντων Na⁺/H⁺ και της PKC.

**REACTIVE OXYGEN SPECIES (ROS) PRODUCTION AND DNA
DAMAGE OF ISOLATED DIGESTIVE GLAND CELLS OF *Mytilus
galloprovincialis* (L.), AFTER CADMIUM EXPOSURE**

Dailianis St. & M. Kaloyianni

Lab. of Animal Physiology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Greece,
54124

The present study investigates the signal transduction pathway that is involved in the production of reactive oxygen species (ROS) and the induction of DNA damage, in isolated digestive gland cells of mussel *Mytilus galloprovincialis*, after cadmium exposure. According to our results a significant increase of intracellular ROS production was observed after CdCl₂ 50 μM exposure. The Na⁺/H⁺ exchanger (NHE) seems to play important role in this mechanism of ROS production due to the fact that inhibition of NHE activity by its specific inhibitor (EIPA 20 nM) significantly reduced the cadmium effects on ROS production. Similar results were observed after inhibition of protein kinase C (PKC). By the use of Comet assay an induction of DNA damage in isolated digestive gland cells after CdCl₂ 50 μM exposure was observed. The use of the inhibitors either of NHE (EIPA 20nM) or of PKC (calphostin C 20 nM) significantly reduced the effects of cadmium on the DNA integrity. Similar results were observed after the use of specific antagonists of α₁-, α₂- and β- adrenergic receptors (prazosin 1μM, yohimbine 1μM and propranolole 10μM respectively) together with cadmium on both ROS production and DNA damage. Our results show that cadmium after interacting with α₁-, α₂- and β- adrenergic receptors possibly induce a signal transduction pathway, which include the induction of ROS production and the DNA damage via the activation of PKC and NHE.

ΤΟ ΚΑΔΜΙΟ ΕΠΑΓΕΙ ΤΗ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΠΥΡΟΣΤΑΦΥΛΙΚΗΣ ΚΙΝΑΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΝΤΛΙΑΣ ΑΝΤΑΛΛΑΓΗΣ ΙΟΝΤΩΝ Na^+/H^+ ΜΕΣΩ ΤΟΥ ΜΟΝΟΠΑΤΙΟΥ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΜΗΝΥΜΑΤΟΣ ΠΟΥ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΙ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΗ ΚΙΝΑΣΗ C ΣΕ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΠΕΠΤΙΚΟΥ ΑΔΕΝΑ ΤΟΥ ΜΥΔΙΟΥ *Mytilus galloprovincialis* (L.).

Νταϊλιάνης Στ. και Μ. Καλογιάννη

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη 54124

Η παρούσα εργασία μελετά το μονοπάτι μετάδοσης μηνύματος που επάγεται από το κάδμιο (Cd^{+2}) σε απομονωμένα κύτταρα πεπτικού αδένου του μυδιού *Mytilus galloprovincialis*. Εξετάζονται η δραστηριότητα ενός γλυκολυτικού ενζύμου, της πυροσταφυλικής κινάσης (PK) και της αντλίας ανταλλαγής ιόντων Na^+/H^+ . Επίδραση Cd^{+2} (50 μM) προκαλεί αύξηση του ενδοκυτταρικού pH (pHi), καθώς και του ρυθμού εισόδου ιόντων Na^+ (176%) σε σύγκριση με τα κύτταρα αναφοράς. Μετά από επώαση των κυττάρων με EIPA, αναστολέα της αντλίας Na^+/H^+ , προκύπτει αναστολή των δράσεων του Cd^{+2} τόσο στο pHi όσο και στο ρυθμό εισόδου των ιόντων Na^+ . Επώαση των κυττάρων με Cd^{+2} αυξάνει τη δραστηριότητα της PK, ενώ μετά από επώαση των κυττάρων με EIPA ή αμιλορίδιο μαζί με το μέταλλο, προκύπτει αναστολή της PK. Η χρήση PMA, ενεργοποιητή της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC), προκαλεί παρόμοια αποτελέσματα με αυτά του μετάλλου, ενώ η χρήση σταυροσπορίνης ή καλφοστίνης C μειώνει τις δράσεις του Cd^{+2} . Η αδρεναλίνη, η ισοπρεναλίνη και η φαινυλεφρίνη προκαλούν αύξηση του pHi και της PK, ενώ σε συνδυασμό με το Cd^{+2} εμφανίζουν συνεργιστική δράση. Οι μελετούμενες δράσεις του Cd^{+2} αναστέλλονται μετά την χρήση μετοπρολόλης, πραζοσίνης και προπρανολόλης. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι η δράση του Cd^{+2} είναι παρόμοια με αυτή των ορμονών στα πεπτικά κύτταρα του μυδιού. Το μονοπάτι μετάδοσης του μηνύματος που επάγεται από το Cd^{+2} περιλαμβάνει την ενεργοποίηση της PK, της PKC και της αντλίας ανταλλαγής ιόντων Na^+/H^+ σε απομονωμένα κύτταρα πεπτικού αδένου του μυδιού *Mytilus galloprovincialis*.

CADMIUM INDUCES BOTH PYRUVATE KINASE AND Na⁺/H⁺ EXCHANGER ACTIVITY THROUGH PROTEIN KINASE C MEDIATED SIGNAL TRANSDUCTION, IN ISOLATED DIGESTIVE GLAND CELLS OF *Mytilus galloprovincialis* (L.).

Dailianis St. & M. Kaloyianni

Lab. of Animal Physiology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Greece,
54124

The present study investigates the transduction pathway mediated by cadmium in isolated digestive gland cells of mussel *Mytilus galloprovincialis*. A key glycolytic enzyme, pyruvate kinase (PK) as well as Na⁺/H⁺ exchanger activity (a major pHi regulator), after cadmium effects were examined. Cadmium (50 μM) caused a significant elevation of intracellular pH (pHi) and a rise (176 %) of Na influx as related to control. The use of the amiloride-analogue, EIPA (20 nM), a Na⁺/H⁺ exchanger blocker, together with cadmium, significantly reduced the effect of cadmium alone treatment both on Na⁺ influx and on pHi. In addition, PK activity was significantly increased after cadmium effect. PK activity was inhibited after treatment of cells with amiloride or EIPA together with cadmium. Moreover, phorbol-ester (PMA), a potent activator of protein kinase C (PKC), resulted to a significant rise of both pHi and PK activity, while staurosporine or calphostin C reversed both events. Adrenaline, isoprenaline and phenylephrine alone or together with cadmium also significantly raised the pHi and PK activity of isolated digestive gland cells. The latter effectors in combination with cadmium showed synergistic effect on pHi and PK. These responses seem to be blocked by propranolol, metoprolol and prazosin. Our findings suggest a hormone-like effect of cadmium on digestive gland cells. The signal transduction pathway induced by cadmium involves the stimulation of PK, PKC and Na⁺/H⁺ exchanger in isolated digestive gland cells of *Mytilus galloprovincialis*.

**ΚΥΤΤΑΡΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΟΙ ΚΑΙ ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ
ΜΕΤΑΓΩΓΗΣ ΣΗΜΑΤΟΣ ΣΕ ΚΑΡΔΙΑΚΑ ΜΥΟΚΥΤΤΑΡΑ****Dowling A.A., Τσίντζου Μ., Μουσικός Στ. και Α. Λάζου**Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη 54124

Τα καρδιακά μυοκύτταρα είναι τελικά διαφοροποιημένα κύτταρα τα οποία αποκρίνονται σε διάφορα εξωτερικά ερεθίσματα που οδηγούν είτε στην προσαρμοστική αύξηση είτε στον κυτταρικό θάνατο. Οι μηχανισμοί που ρυθμίζουν την απόπτωση στα καρδιακά μυοκύτταρα δεν έχουν αποσαφηνιστεί. Το οξειδωτικό στρες είναι πιθανόν το σημαντικότερο ερέθισμα για την έναρξη της διαδικασίας της απόπτωσης στην οποία η οικογένεια των πρωτεϊνών Bcl-2 διαδραματίζει ένα σημαντικό ρόλο. Τα ενδοκυτταρικά σηματοδοτικά μονοπάτια που ενεργοποιούνται από το οξειδωτικό στρες και τα οποία ρυθμίζουν την αποπτωτική απόκριση στα καρδιακά μυοκύτταρα έχουν βρεθεί στο επίκεντρο πρόσφατων ερευνών. Αν και αποτελεί το θέμα έντονης συζήτησης, οι κινάσες της υπεροικογένειας των MAPK φαίνεται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο σε αυτή τη διαδικασία. Παρ' όλα αυτά, δεν έχουν εξαχθεί ακόμα ακριβή συμπεράσματα για το χρονικό διάστημα που απαιτείται από το πρώτο ερέθισμα στην κυτταρική μεμβράνη, έως τον τελικό κατακερματισμό του DNA ή ακόμη την βέλτιστη συγκέντρωση αυτών των ερεθισμάτων που απαιτούνται για να προκληθεί η φωσφορυλίωση στα αποπτωτικά σηματοδοτικά μόρια. Ετσι, διερευνήθηκε η συγκέντρωση που απαιτείται καθώς και το χρονοδιάγραμμα της ενεργοποίησης διαφόρων σηματοδοτικών μορίων. Εξετάστηκε επίσης η επίδραση κυτταροπροστατευτικών αυξητικών παραγόντων, όπως του IGF-I, στα μονοπάτια μεταγωγής σήματος. Παρατηρήθηκε διαφορετική επίδραση του H₂O₂ και του IGF-I στην φωσφορυλίωση των ERKs, p38-MAPK, Akt, MSK1 και του μεταγραφικού παράγοντα CREB. Επιπλέον, η έκφραση των Bcl-2 και Bcl-xL αυξήθηκε ως αποτέλεσμα της έκθεσης των καρδιομυοκυττάρων στο οξειδωτικό στρες. Τα δεδομένα αποδεικνύουν ότι εμπλέκονται πολλαπλά μονοπάτια κινασών τα οποία μπορεί να έχουν ως αποτέλεσμα τη ρύθμιση των αποπτωτικών μηχανισμών. Η ισορροπία μεταξύ των προστατευτικών και των προ-αποπτωτικών μηχανισμών/μορίων καθορίζει την τύχη του κυττάρου.

Η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από την ΕΕ (IHP Marie Curie Development Host Fellowships)

CYTOPROTECTIVE AND APOPTOTIC SIGNALING MECHANISMS IN CARDIAC MYOCYTES

Dowling A.A., Tzintzou M., Mousikos St. & A. Lazou

Lab. of Animal Physiology, Dept of Zoology, School of Biology, Aristotle University of
Thessaloniki, Thessaloniki 54124

Cardiac myocytes are terminally differentiated cells that respond to an array of external stimuli leading to either adaptive growth or cell death. The mechanisms involved in promoting and regulating cardiac myocyte apoptosis are not clear. Oxidative stress is probably a key initiator of cardiac myocyte apoptosis where the Bcl-2 family proteins play a significant role. The intracellular signaling pathways activated by oxidative stress and which regulate the apoptotic response in cardiac myocytes has formed a focus for recent research. Although it is the subject of active debate, MAPK cascades appear to play a major role in this process. However, there remains no clear understanding of the time span necessary from the first stimulus at the cellular membrane to final DNA fragmentation or even the optimal concentration of these stimuli required to induce the phosphorylation of apoptotic signaling molecules.. We examined the concentration required and time point at which signaling molecules were activated and this was assessed by immunoblotting. In addition the effect of cytoprotective growth factors, such IGF-I, on the signaling pathways was also examined. There was a differential effect of H₂O₂ and IGF-I on the phosphorylation of ERKs, p38-MAPK, Akt, MSKI and the transcription factor CREB. Furthermore, the expression of Bcl-2 and Bcl-xl was increased as a result of cardiomyocyte exposure to oxidative stress. The data demonstrate that the regulation of apoptosis by reactive oxygen species and IGF-I involves multiple kinase pathways that may result in the modulation of apoptotic mechanisms. The balance of protective proteins/pathways vs pro-apoptotic pathways determines the overall fate of the cell.

The work was supported by a grant from the EU (IHP Marie Curie Development Host Fellowships)

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΙ ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ
ΤΟΥ ΔΕΥΤΕΡΟΜΥΚΗΤΑ *Fusarium equiseti* ΣΕ ΔΥΟ ΕΙΔΗ ΑΦΙΔΩΝ****Ντρίνια Α. και Α. Καλιάφας**

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500 Ρίο Πατρών

Η παρούσα ερευνητική εργασία εντάσσεται στο πλαίσιο της γενικότερης ερευνητικής προσπάθειας που διεξάγεται με στόχο την βιολογική καταπολέμηση των αφίδων, εντόμων που προκαλούν εκτεταμένες ζημιές στις γεωργικές καλλιέργειες. Στόχος της ήταν η μελέτη του τρόπου δράσης του αφιδοπαθογόνου Δευτερομύκητα, *Fusarium equiseti*, καθώς και των αλλοιώσεων που αυτός προκαλεί στους ιστούς των προσβεβλημένων αφίδων. Ως βιολογικό υλικό χρησιμοποιήθηκαν δύο είδη αφίδων που απομονώθηκαν από φυτά του είδους *Rosa canina*. Τα πειράματα έδειξαν ότι μετά την 1^η ημέρα μόλυνσης εμφανίζονται οι πρώτες μυκηλιακές υφές στο σώμα του εντόμου. Με το θάνατο του (μετά την 3^η ημέρα μόλυνσης) οι υφές πύκνωσαν σημαντικά. Παράλληλα παρατηρήθηκε σταδιακός μεταχρωματισμός του σώματος προς το σκούρο καφέ. Για τη μελέτη της πορείας της μόλυνσης μέσα στο σώμα της αφίδας καθώς και των ιστολογικών αλλοιώσεων που προκλήθηκαν εφαρμόστηκαν ιστολογικές τεχνικές. Από την παρατήρηση των ιστολογικών τομών στο φωτονικό μικροσκόπιο προέκυψε ότι η ιστόλυση των δομών του εντόμου γίνεται ορατή μετά το θάνατο του. Στο τέλος της 4^{ης} ημέρας μόλυνσης έχουν ιστολυθεί σχεδόν ολοκληρωτικά το λιπαρό σώμα και ο μυϊκός ιστός. Ο νευρικός ιστός και οι εγκεφαλικές δομές είχαν ιστολυθεί στο σύνολο τους μέχρι την 6^η ημέρα της μόλυνσης. Σε αντίθεση με τους σύνθετους οφθαλμούς που διατήρησαν μέρος των δομών τους. Το επιδερμίδιο δεν φάνηκε να υφίσταται σημαντικές αλλοιώσεις. Επίσης, στα θυλάκια των εμβρύων παρατηρήθηκε καθυστερημένη πορεία αλλοίωσης σε σχέση με το υπόλοιπο σώμα του μητρικού ατόμου. Η παθογόνα δράση του μύκητα ήταν ανάλογη και για τα δύο είδη αφίδων γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι ο εξεταζόμενος μύκητας δείχνει να αποτελεί ένα καλό εντομοπαθογόνο στέλεχος για το βιολογικό έλεγχο των εντόμων αυτών.

**COMPARATIVE PHYSIOLOGICAL AND HISTOLOGICAL STUDY OF
THE PATHOGENICITY OF THE FUNGUS *Fusarium equiseti* TOWARDS
TWO APHID SPECIES**

Drinia A. & A. Kaliafas

Patras University, Department of Biology, Rio Patras 26500

The present study is placed among the frame of the scientific effort for alternative ways of aphid control. Its aim is the study of the pathogenic fungus *Fusarium equiseti* and especially how this species infects aphids, as well as, the damage caused on the tissues of infected individuals. Two aphid species used for the experiments. After the 1st day of infection fungus spores germinated and produced a sparse mycelium on the body of the aphid. At the 3rd of infection the insect died. A characteristic brown discoloration was observed on the body. Histological study of the infection development showed that the damage in the structure of the insect begins after its death. At the 4th day of the infection all fatty body and muscular tissue was destroyed. Nervous tissue and brain structures were decomposed until the 6th day. On the contrary, the compound eyes were partly preserved until this time, while no significant damage was observed on the exoskeleton. The ovarioles decomposition delayed in comparison to the rest of the body. The pathogenic action of the fungus was similar to both aphid species. It seems that *F. equiseti* is a good candidate to be exploited for the biological control of aphids.

**ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΘΕΣΕΩΝ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΤΗΣ ΣΠΕΡΜΙΝΗΣ ΣΤΟ
5S ΡΙΒΟΣΩΜΑΤΙΚΟ RNA****Ξαπλαντέρη Μ.Α. και Δ.Λ. Καλπαξής**

Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα

Στα βακτήρια, το 5S rRNA αποτελεί ένα από τα απαραίτητα συστατικά του ριβοσώματος, το οποίο μαζί με τις πρωτεΐνες L5, L18 και L19 σχηματίζουν την κεντρική προεξοχή της μεγάλης υπομονάδας. Έχει αναφερθεί ότι το 5S rRNA παίζει κεντρικό ρόλο στη συγκρότηση του ενεργού κέντρου της πεπτιδυλοτρανσφεράσης και διαμεσολαβεί στη μεταφορά μηνυμάτων από την καταλυτική κοιλότητα προς το κέντρο μετατόπισης των υποστρωμάτων. Το Mg^{2+} και άλλα κατιόντα επηρεάζουν τη διαμόρφωση και λειτουργία του 5S rRNA. Με σκοπό να εξετάσουμε αν οι πολυαμίνες εμπλέκονται σε τέτοια ιοντικά φαινόμενα, επιχειρήσαμε ομοιοπολική σύνδεση ενός φωτοδραστικού αναλόγου της σπερμίνης, της Ν-αζιδοβενζαμιδινο-σπερμίνης, σε 5S rRNA, 50S ριβοσωματικές υπομονάδες ή εναρκτήριο ριβοσωματικό σύμπλοκο. Βρέθηκε, ότι ο βρόγχος Β-έλικα III-βρόγχος C στο 5S rRNA αποτελεί περιοχή προτίμησης για τη δέσμευση της σπερμίνης. Όταν φωτοσημάνθηκαν 50S υπομονάδες ή εναρκτήριο ριβοσωματικό σύμπλοκο, ο αριθμός των θέσεων πρόσδεσης ελαττώθηκε σημαντικά. Οι αλλαγές αυτές ίσως σχετίζονται με φαινόμενα στερεοχημικής προστασίας από επαφές του 5S rRNA με ριβοσωματικές πρωτεΐνες και 23S rRNA. Ωστόσο, κάποιες θέσεις του 5S rRNA, όπως η U86 και ο βρόγχος D, παρουσίασαν αισθητή αύξηση της ικανότητας να προσδέσουν σπερμίνη όταν φωτοσημάνθηκαν ριβοσώματα, γεγονός που υποδηλώνει ότι οι πολυαμίνες μπορεί να επηρεάζουν τη διαμόρφωση αυτών των περιοχών. Συμπερασματικά, η ταυτοποίηση θέσεων πρόσδεσης της σπερμίνης στο 5S rRNA υποστηρίζει ότι οι πολυαμίνες πιθανώς εμπλέκονται στη δομή και λειτουργία αυτού του ριβοσωματικού συστατικού.

Ευχαριστούμε το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο (ESF), το Πρόγραμμα Εκπαίδευσης και Επαγγελματικής Κατάρτισης II (ΕΠΕΑΕΚ II), και ιδιαίτερος το πρόγραμμα ΗΡΑΚΛΕΙΤΟΣ, για την οικονομική ενίσχυση του έργου αυτού.

IDENTIFICATION OF SPERMINE BINDING SITES IN 5S RIBOSOMAL RNA

Xaplanteri M.A. & D.L. Kalpaxis

Laboratory of Biochemistry, School of Medicine, University of Patras, Patras

In bacteria, 5S rRNA is a ubiquitous component of ribosomes, which forms along with proteins L5, L18 and L25, the central protuberance of the large subunit. It has been reported that 5S rRNA plays a central role in assembling an active peptidyltransferase (PTase) center and in mediating signal transmissions between the PTase cavity and the translocation center. Mg²⁺ and other cations seem to influence the conformation and function of 5S rRNA. To test whether polyamines participate in such ionic effects, a photoreactive analogue of spermine, *N*-azidobenzamidino-spermine, was cross-linked to naked 5S rRNA, 50S ribosomal subunits from *Escherichia coli*, or to initiation 70S ribosomal complexes. In naked 5S rRNA, the loop B-helix III-loop C was found to be a preferable binding region for polyamines. On the way from naked 5S rRNA to 50S ribosomal subunits or 70S ribosomal complexes, the number of cross-linking sites was significantly reduced. These changes are probably related with protection effects mediated by contacts of 5S rRNA with ribosomal proteins or 23S rRNA residues. Nevertheless, some sites in 5S rRNA, like U87 and loop D, became more sensitive to cross-linking after ribosome assembly, a fact suggesting that polyamines may influence the conformation of the respective regions. In conclusion, the identification of spermine binding sites in 5S rRNA supports the hypothesis that polyamines may be implicated in the structure and function of this rRNA species.

We thank European Social Fund (ESF), Operational Program for Educational and Vocational Training II (EPEAK II), and particularly the program IRAKLEITOS, for funding the above work.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΩΝ ΕΝΔΟΓΕΝΩΝ ΝΕΥΡΟΣΤΕΡΟΕΙΔΩΝ
ΣΤΗΝ ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ****Ξυλούρη Μ., Διαμαντοπούλου Α. και Π. Παπαζαφείρη**Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784, Αθήνα

Διαταραχές στην ομοιοστασία του ασβεστίου εμπλέκονται σε διάφορες παθοφυσιολογικές καταστάσεις που οδηγούν σε νευρωνικό θάνατο, όπως η υποξία/ισχαιμία, η επιληψία, το εγκεφαλικό τραύμα και η νόσος του Alzheimer. Πρόσφατα δεδομένα υποστηρίζουν ότι συγκεκριμένοι μεταβολίτες της προγεστερόνης, τα νευροστεροειδή, που παράγονται σε σημαντικά ποσά και στον εγκέφαλο, προστατεύουν τους νευρώνες από κυτταρικό θάνατο που προκαλεί η υπερδιέγερση γλουταμινεργικών υποδοχέων και η επακόλουθη είσοδος ασβεστίου (διεγερσιμοτοξικότητα). Προκειμένου να διερευνήσουμε εάν η προστατευτική δράση των νευροστεροειδών αφορά στη γενικότερη αλλοίωση της ομοιοστασίας του ενδοκυττάρου ασβεστίου, μελετήσαμε την απόπτωση νευρικών κυττάρων με τη χρήση αγωνιστών γλουταμινεργικών υποδοχέων (L-Glu και NMDA) και της θαψιγκαργκίνης, ενός αναστολέα της αντλίας Ca^{2+} του σαρκοενδοπλασματικού δικτύου ο οποίος εμποδίζει την επαναπλήρωση των ενδοκυττάρων αποθηκών ασβεστίου. Συγκεκριμένα, εμβρυϊκά καρκινικά κύτταρα Ntera2 και PI9, διαφοροποιήθηκαν πλήρως σε μεταμιτωτικούς νευρώνες με την επίδραση ρετινοϊκού οξέος και προεπώασθησαν για 24h με νευροστεροειδή (allo, DHEA, DHEAS) σε συγκέντρωση 10μM. Ακολούθησε προσθήκη L-Glu και NMDA (1mM) για 1h στην πρώτη περίπτωση και θαψιγκαργκίνης (100nM) για 72 h στη δεύτερη. Η εκτίμηση της βιωσιμότητας των κυττάρων πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο του MTT και τα παρατηρούμενα ποσοστά θνησιμότητας συσχετίστηκαν με τα αποτελέσματα της δοκιμασίας του DNA laddering. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν, ότι υπάρχει εξειδίκευση στο μηχανισμό δράσης των νευροστεροειδών, αφού αυτά φαίνεται να προστατεύουν τους νευρώνες από τη διεγερσιμοτοξικότητα αλλά δεν αναστρέφουν το αποτέλεσμα της εκκένωσης των ενδοκυττάρων αποθηκών ασβεστίου.

Η εργασία αυτή χρηματοδοτείται από την Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας (ΠΕΝΕΔ 2001)

INVESTIGATING THE ROLE OF ENDOGENOUS NEUROSTEROIDS IN NEURONAL APOPTOSIS

Xilouri M., Diamantopoulou A. & P. Papazafiri

Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, 157 84, Athens - Greece

Disturbances of calcium homeostasis has been implicated in many pathophysiological conditions that lead to neuronal cell death, such as hypoxia/ischemia, epileptic seizures, cerebral trauma and Alzheimer's disease. Recent findings suggest that neurosteroids (progesterone metabolites) synthesized in high levels in the brain, can protect neurons from over-activation of glutamate receptors and the subsequent Ca^{2+} overloading -excitotoxicity. In order to estimate whether the neuroprotective action of neurosteroids is being related to the global deregulation of intracellular calcium homeostasis, we investigated the effect of glutamate receptor's agonists (L-Glu or NMDA) and thapsigargin, an inhibitor of sarcoendoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase-pump, that inhibits Ca^{2+} uptake by intracellular calcium stores. Embryonic tumor cells Ntera2 and PI9 were differentiated into post-mitotic neurons after being treated with retinoic acid and pre-incubated with 10 μ M of the neurosteroids allo, DHEA, DHEAS for 24h. 1mM L-Glu or NMDA and 100nM thapsigargin, was added in the incubation medium for 1h and 72h, respectively. Cell viability was determined by the MTT method and the observed percentages of mortality were correlated with the results from the DNA laddering assay. Our data indicate that neurosteroids selectively activate protective mechanisms against excitotoxicity in neuronal cells, rather than depletion of intracellular calcium stores.

This work is funded by the General Secretariat of Research and Technology, Athens, Greece (PENED, 2001)

ΜΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ Glu 298 Asp ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΗΣ ΣΥΝΘΕΤΑΣΗΣ ΤΟΥ ΜΟΝΟΞΕΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΑΖΩΤΟΥ ΜΕ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΝΟΣΟ ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ

Οδιάτης Χ.¹, Μπαλατίνου Ε.¹, Κατσάρα Ό.¹, Βοτέας Β.², Κασπαριάν Κ.²,
Πανταζόπουλος Ν.² Δεδούσης Γ.³, και Κ. Λάμνισου¹

¹Τομέας Γενετικής & Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 84 Ζωγράφου Αθήνα, ²Καρδιολογική Κλινική, Λαϊκό Νοσοκομείο, Αθήνα, ³Τμήμα Διαιτολογίας & Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, Αθήνα.

Στην εργασία αυτή μελετήσαμε την πιθανή συσχέτιση του πολυμορφισμού Glu298Asp στο εξόνιο 7 (894G/T) του γονιδίου της ενδοθηλιακής συνθετάσης του μονοξειδίου του αζώτου (ENOS) με στεφανιαία νόσο στον Ελληνικό πληθυσμό. Για τη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 92 άτομα με διάγνωση στεφανιαίας νόσου και 60 υγιή άτομα του γενικού πληθυσμού. Όλα τα άτομα ήταν Έλληνικής καταγωγής. Για τη μελέτη του πολυμορφισμού έγινε πολλαπλασιασμός της επιλεγμένης περιοχής στην οποία εντοπίζεται ο πολυμορφισμός με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης, και ακολούθησε επώαση των προϊόντων PCR, με κατάλληλο ένζυμο, ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης και καταγραφή του γονοτύπου του κάθε ατόμου (ασθενών-ομάδα ελέγχου). Οι συχνότητες των γονοτύπων GG, GT, TT ήταν: 0.55, 0.39, 0.07 για τους ασθενείς και 0.45, 0.51, 0.01 για την ομάδα ελέγχου, αντίστοιχα. Ο έλεγχος χ^2 έδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των συχνοτήτων των γονοτύπων στους ασθενείς με στεφανιαία νόσο και στην ομάδα ελέγχου. Τα αποτελέσματα αυτά αν και αφορούν σχετικά μικρό αριθμό ατόμων βρίσκονται σε συμφωνία με αποτελέσματα από άλλους Καυκάσιους πληθυσμούς όπως οι Γερμανοί και είναι αντίθετα με άλλα προηγούμενα αποτελέσματα από μελέτες σε άλλους Καυκάσιους ή Ασιάτες. Τα δικά μας αποτελέσματα οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η παρουσία του αλληλομόρφου T του πολυμορφισμού Glu298Asp του γονιδίου ENOS δεν αποτελεί παράγοντα ρίσκου για στεφανιαία νόσο στον Ελληνικό πληθυσμό.

Η εργασία χρηματοδοτήθηκε από τον ΕΛΚΕ του Πανεπιστημίου Αθηνών

**LACK OF EVIDENCE FOR ASSOCIATION OF THE ENDOTHELIAL
NITRIC OXIDE SYNTHASE GENE POLYMORPHISM Glu298Asp WITH
CORONARY ARTERY DISEASE IN THE GREEK POPULATION**

**Odiatis Chr.¹, Balatinou E.¹, Katsara O.¹, Boteas B.², Kasparian C.²,
Pandazopoulos N.², Dedousis G.³, & K. Lamnissou¹**

¹Dept of Genetics and Biotexnology, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis 15784 Zografou Athens, Greece. ²Dept of Cardiology, Laiko Hospital, Athens, ³Dept of Dietetics-Nutrition, Charocopio University, Athens.

In the present study we investigated the relationship between the Glu298Asp polymorphism of the gene encoding endothelial nitric oxide synthase (ENOS) with coronary artery disease (CAD) in the Greek population. In a prospective case-control study, 92 CAD patients and 60 healthy controls were studied. We used the PCR-RFLPS method. The frequencies of GG, GT, TT genotypes were 0.55, 0.39, 0.07 in the patient group and 0.45, 0.51, 0.01 in the control group, respectively. The data between the two groups were analyzed by chi-square test. Our results suggest that there is no association of the Glu298Asp polymorphism with coronary artery disease in the Greek population and they are in agreement with previous results from some other European populations.

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

**ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΑΜΥΛΟΕΙΔΩΝ ΙΝΙΔΙΩΝ ΑΠΟ ΠΕΠΤΙΔΙΑ-ΑΝΑΛΟΓΑ
ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΟΥ ΧΟΡΙΟΥ ΤΩΝ ΜΕΤΑΞΟΣΚΩΛΗΚΩΝ ΜΕΣΩ
ΜΙΑΣ ΕΝΔΙΑΜΕΣΗΣ ΥΓΡΟΚΡΥΣΤΑΛΛΙΚΗΣ ΦΑΣΗΣ****Οικονομίδου Β.Α και Χαμόδρακας Σ.Ι**Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Αθήνα 15784

Το χόριο είναι το κύριο συστατικό του κελύφους των μεταξοσκωλήκων. Αποτελείται από δομικές πρωτεΐνες μικρού μοριακού βάρους που ταξινομούνται σε δύο μεγάλες οικογένειες, την Α και τη Β οικογένεια. Το χόριο προστατεύει το ωοκύταρο και το αναπτυσσόμενο έμβρυο από πολλούς περιβαλλοντικούς κινδύνους και αυτό οφείλεται στις ασυνήθιστες φυσικοχημικές ιδιότητες των συνιστωσών του πρωτεϊνών. Δείξαμε παλαιότερα, ότι πεπτίδια-ανάλογα τμημάτων των πρωτεϊνών του χορίου, των οικογενειών Α και Β, δημιουργούν, σε ποικίλες συνθήκες, αμυλοειδή ινίδια, γεγονός που μας οδήγησε να προτείνουμε ότι το χόριο είναι ένα φυσικό, προστατευτικό αμυλοειδές. Σ' αυτήν την εργασία, παραθέτουμε δεδομένα τα οποία δείχνουν ότι το πρώτο κύριο βήμα της δημιουργίας αμυλοειδών ινιδίων, από τα πεπτίδια του χορίου, είναι η δημιουργία πυρήνων υδροκρυσταλλικής φύσης, που θυμίζουν τη δημιουργία του μεταξιού.

Δείχνουμε ότι αυτοί οι υδροκρυσταλλικοί πυρήνες (σφαιρουλίτες) «καταστρέφονται / εκφυλίζονται» για να φτιάξουν αμυλοειδή ινίδια, με εντυπωσιακό τρόπο, σημαντικό, όπως φαίνεται, για τη μορφογένεση του χορίου και τη δημιουργία των αμυλοειδών ινιδίων, γενικότερα. Ο μοριακός 'διακόπτης,' που προκαλεί αυτόν τον εντυπωσιακό μετασχηματισμό, είναι, πιθανόν, μια δομική μετάπτωση των πεπτιδίων του χορίου, από αριστερόστροφη παράλληλη β-έλικα σε αντιπαράλληλη β-πτυχωτή επιφάνεια. Προφανώς αυτά τα πεπτίδια έχουν κατάλληλα σχεδιαστεί ώστε να παίζουν αυτόν το ρόλο μετά από εκατομμύρια έτη μοριακής εξέλιξης.

AMYLOID FIBRILLOGENESIS OF SILKMOTH CHORION PROTEIN PEPTIDE-ANALOGUES VIA A LIQUID CRYSTALLINE INTERMEDIATE PHASE

Iconomidou V.A. & Hamodrakas S.J.

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens,
Athens 15784

Chorion, the major component of silkmoth eggshell, consists of the A and B classes of low-molecular weight structural proteins. Chorion protects the oocyte and the developing embryo from environmental hazards and this is due to the extraordinary physical and chemical properties of its constituent proteins. We have shown previously, that peptide-analogues of the A and B classes of chorion proteins form amyloid fibrils under a variety of conditions, which led us to propose that silkmoth chorion is a natural, protective amyloid. In this work, we present data showing conclusively that the first main step of amyloid-like fibrillogenesis of chorion peptides is the formation of nuclei of liquid crystalline nature, which is reminiscent of spider-silk formation. We show that these liquid-crystalline nuclei (spherulites) 'collapse'/deteriorate to form amyloid fibrils in a spectacular manner important it seems, for chorion morphogenesis and amyloid fibrillogenesis in general. The molecular 'switch' causing this spectacular transformation is, most probably, a conformational transition to the structure of chorion peptides, from a left-handed parallel β -helix to an antiparallel β -pleated sheet. Apparently, these peptides were suitably designed to play this role, after millions of years of molecular evolution.

**IN VITRO ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΥΠΕΡΚΕΙΜΕΝΩΝ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ
ΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΣΕΙΡΩΝ ΣΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ
ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ**

Παλαιολόγου Μ.¹, Βουτσάς Ι.², Μοράκη Μ.³, Παπούλια Ε.³, Παπαμιχαήλ Μ.²,
Τσιτσιλώνη Ο.¹

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
²Τμήμα Ανοσολογίας,³Μονάδα Αιμοδοσίας Νοσοκομείο «Αγ. Σάββας», Αθήνα.

Σκοπός της εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης του υπερκειμένου καρκινικών σειρών στην κυτταροτοξική ικανότητα ανθρώπινων λεμφοκυττάρων. Συγκεκριμένα, διερευνήθηκε η ανασταλτική επίδραση του υπερκειμένου της ανθρώπινης μελανωματικής κυτταρικής σειράς FM3 στην κυτταροτοξική ικανότητα κυττάρων-τελεστών όπως: α) μονο-πύρηνων περιφερικού αίματος υγιών δοτών (PBMC), β) φυσικών φονικών (NK) κυττάρων που απομονώθηκαν με ανοσομαγνητικό διαχωρισμό από τα PBMC, γ) *in vitro* ενεργοποιημένων με ιντερλευκίνη (IL)-2 (LAK) κυττάρων, δ) *in vitro* ενεργοποιημένων, με αντίσωμα έναντι του CD3 μορίου, T κυττάρων και ε) κυττάρων της ανθρώπινης NK σειράς, NK-92. Τα κύτταρα-τελεστές προεπώσθησαν με το υπερκείμενο της FM3 για χρονικά διαστήματα 1, 3 και 24 ωρών και η κυτταροτοξική τους δράση προσδιορίστηκε σε πρότυπη δοκιμασία κυτταροτοξικότητας, έναντι ενδοκυτταρικά σημασμένων με ⁵¹Cr κυττάρων-στόχων. Ως κύτταρα-στόχοι χρησιμοποιήθηκαν κύτταρα K562 (ευαίσθητα σε NK λύση), καθώς και κύτταρα Daudi (ανθεκτικά σε NK λύση). Σε όλες τις περιπτώσεις η προεπάση δεν οδήγησε σε στατιστικά σημαντική αναστολή της κυτταροτοξικής τους ικανότητας. Μελετήθηκε επίσης, η επίδραση της προσθήκης του υπερκειμένου της FM3 κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας της κυτταροτοξικότητας σε διάφορες αραιώσεις ($\frac{1}{2}$, και $\frac{1}{8}$). Σε αυτές τις περιπτώσεις η προσθήκη του υπερκειμένου οδήγησε σε στατιστικά σημαντική ελάττωση της κυτταροτοξικής ικανότητας των κυττάρων-τελεστών, σε σχέση με τον αντίστοιχο μάρτυρα. Παρατηρήθηκε επίσης, σαφής κλιμάκωση της ανασταλτικής επίδρασης του υπερκειμένου στην κυτταροτοξική ικανότητα των κυττάρων στόχων, με την αύξηση της συγκέντρωσής του στο μείγμα δοκιμασίας. Συμπερασματικά, φαίνεται ότι τα καρκινικά κύτταρα FM3, εκκρίνουν στο υπερκείμενο της καλλιέργειάς τους παράγοντες ικανούς να αναστέλλουν την κυτταροτοξικότητα λεμφοκυττάρων *in vitro*.

***IN VITRO* STUDY OF THE EFFECTS OF CANCER CELL LINE SUPERNATANTS ON THE CYTOTOXIC ABILITY OF LYMPHOCYTES**

**Palaiologou, M.¹, Voutsas, I.², Moraki M³, Papoulia E³, Papamichail, M.²,
Tsitsilonis, O.¹**

¹Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens and ²Immunology Laboratory-³Blood Transfusion Unit, "St. Savas" Hospital, Athens

The purpose of this study was to investigate the effect of supernatants from cancer cell lines on the cytotoxicity of lymphocytes. Specifically, we examined the inhibitory effects of the supernatant from the human melanoma cell line FM3 on the cytotoxic ability of various effector cells, such as: a) healthy donor-derived peripheral blood mononuclear cells (PBMC); b) natural killer (NK) cells, isolated by immunomagnetic separation from the total PBMC; c) *in vitro* activated with interleukin (IL)-2 (LAK) cells; d) *in vitro* activated with anti-CD3 monoclonal antibody T cells, and e) cells from the human NK cell line, NK-92. Effector cells were pre-incubated with FM3-supernatant for 1, 3 and 24 hours and subsequently tested in standard cytotoxic assays, versus intracellularly labeled with ⁵¹chromium target cells. As target cells we used K562 (chronic myelogenous leukemia, NK-sensitive cells) and Daudi (Burkitt lymphoma, NK-resistant cells). In all cases, FM3-supernatant pre-incubation showed no significant effect on the cytotoxicity of the effectors, as compared to control cells. Using different dilutions of the FM-3-supernatant (1/2, 1/4 and 1/8), we further examined the effect of its addition in the culture medium during the cytotoxicity assay. In this case, FM3-supernatant addition, led to a statistically significant decrease of lymphocyte cytotoxicity, compared to control cells. Moreover, we observed a marked correlation of cytotoxicity inhibition with the increase of the FM3-supernatant concentration. Taken altogether, we propose that FM3 melanoma cells secrete in their culture supernatant factors that can inhibit the cytotoxic activity of lymphocytes *in vitro*.

ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΜΕΤΑΞΥ ΑΤΟΜΩΝ ΣΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ mRNA ΤΗΣ ΥΔΡΟΞΥΛΑΣΗΣ ΤΗΣ ΤΥΡΟΣΙΝΗΣ ΣΤΟΥΣ ΝΕΥΡΟΕΚΚΡΙΤΙΚΟΥΣ ΠΥΡΗΝΕΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ: ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΟ mRNA ΤΗΣ ΒΑΣΟΠΡΕΣΣΙΝΗΣ

Παναγιωτακοπούλου Μ^{1,2}, Μαλιδέλης Ι.^{1,2}, van Heerikhuze J.³, Unmehopa U.³, Swaab D.³.

¹Ψυχιατρική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, ²Ερευνητικό Πανεπιστημιακό Ινστιτούτο Ψυχικής Υγιεινής, ³Netherlands Institute for Brain Research, Amsterdam.

Η υδροξυλάση της τυροσίνης (TH) – το πρώτο ένζυμο στη σύνθεση της ντοπαμίνης – έχει εκτεταμένα χρησιμοποιηθεί για τον εντοπισμό των κατεχολαμινικών συστημάτων του εγκεφάλου. Προηγούμενες μελέτες μας έδειξαν εντυπωσιακές διαφορές μεταξύ ατόμων (χωρίς νευρολογικές, ψυχιατρικές ή ενδοκρινολογικές νόσους) ως προς τον αριθμό και την κατανομή των ανοσοθετικών για TH (TH-IR) νευρώνων στον παρακοιλιακό (PVN) και τον υπεροπτικό (SON) πυρήνα του υποθαλάμου. Επειδή αυξημένος αριθμός TH-IR νευρώνων παρατηρήθηκε σε άτομα που έπασχαν από ασθένειες που προκαλούν παρατεταμένη οσμωτική ή μη-οσμωτική έκκριση βασοπρεσσίνης (VP), υποθέσαμε ότι η έκφραση της TH σχετίζεται με το βαθμό ενεργοποίησης των VP νευρώνων. Σκοπός της μελέτης ήταν η εφαρμογή α) υβριδισμού *in situ* (ISH) ώστε να διερευνηθεί η έκφραση της TH στο μεταγραφικό επίπεδο και β) ποσοτικού ISH για TH και VP mRNA ώστε να διαπιστωθεί αν η έκφραση της TH εξαρτάται από το βαθμό σύνθεσης του VP mRNA. Τομές παραφίνης από υποθαλαμικό ιστό μονιμοποιημένο σε φορμόλη Ι6 μαρτύρων – που παρασχέθηκαν από την Τράπεζα Εγκεφαλικού Ιστού της Ολλανδίας (συντονίστρια Dr. R. Ravid) χρώσθηκαν ανοσοϊστοχημικά για TH και με ραδιενεργό ISH για TH και VP mRNA. Ο αριθμός των TH-IR νευρώνων προσδιορίστηκε μορφομετρικά. Η ποσότητα των TH και VP mRNA μετρήθηκε στα films αυτοραδιογραφίας με χρήση συστήματος ανάλυσης εικόνας. Μεταξύ των ατόμων παρατηρήθηκαν διαφορές στην έκφραση του TH mRNA, τόσο στον PVN όσο και στον SON. Η έκφραση του TH mRNA ήταν ανάλογη με εκείνη της TH-πρωτεΐνης. Μετά από ανάλυση παλινδρόμησης δείχθηκε ότι υπάρχει θετική συσχέτιση ($R^2 = 0,67$, $p = 0,047$) μεταξύ του TH mRNA και του VP mRNA, γεγονός που υποδεικνύει ότι η έκφραση της TH στους νευροεκκριτικούς νευρώνες του ανθρώπου εξαρτάται από το βαθμό ενεργοποίησής τους.

**INDIVIDUAL DIFFERENCES IN THE EXPRESSION OF TYROSINE
HYDROXYLASE mRNA IN THE HUMAN NEUROSECRETORY
NEURONS: POSITIVE CORRELATION WITH VASOPRESSIN mRNA**

**Panayotacopoulou M.^{1,2}, Malidelis Y.^{1,2}, van Heerikhuze J.³, Unmehopa U.³,
Swaab D³.**

¹Dept. of Psychiatry, University of Athens, ²University Mental Health Research Institute, Athens, Greece and ³Netherlands Institute for Brain Research, Amsterdam, The Netherlands.

Tyrosine hydroxylase - the first and limiting enzyme in dopamine synthesis - is extensively used for the localization and mapping of catecholamine systems in the brain. Our previous studies showed striking individual differences among control subjects (i.e, cases without known neurological, psychiatric or endocrinological disease) concerning the number and distribution of tyrosine hydroxylase (TH) - immunoreactive (IR) perikarya within the paraventricular (PVN) and supraoptic (SON) nuclei. Since a large number of TH-IR perikarya was observed in subjects that suffered from somatic illnesses leading to prolonged osmotic or nonosmotic stimulation of vasopressin (VP) release, we suggested that increased expression of TH is related to neuronal activation. Purpose of the present study was to apply a) *in situ* hybridization (ISH) for TH mRNA on human PVN and SON to investigate how the individual differences in TH-protein expression are depicted at the transcriptional level and 2) quantitative ISH for TH and VP mRNA to elucidate if indeed the expression of TH depends on the activity of VP neurons. Formalin-fixed paraffin sections of the hypothalamus from 16 control subjects obtained from the Netherlands Brain Bank (coordinator Dr. R. Ravid) were stained for TH immunohistochemically and for TH and VP mRNA using radioactive ISH. The number of TH-IR neurons was estimated morphometrically. The total radioactivity for TH and VP mRNA was determined on autoradiographic films using image analysis system. Individual variation was observed in TH mRNA expression in both PVN and SON, which in general parallels the expression of TH-protein revealed by immunohistochemistry. Significant positive correlation ($R^2 = 0.67$, $p = 0.047$) was found by regression analysis between total TH mRNA and VP mRNA values showing that the expression of TH in human neurosecretory neurons depends on neuronal activation.

**ΑΝΑΣΤΑΛΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΟΞΥΓΑΛΑΚΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΣΤΗ
ΛΟΙΜΩΞΗ ΜΕ *Helicobacter pylori* (*Hp*)****Παναγιωτοπούλου Ε.Γ.¹, Martinez-Gonzalez Β.¹, Μιχόπουλος Σ.², Πετράκη Κ.³,
Μεντής Α.¹, Σγούρας Δ.¹**¹Εργαστήριο Ιατρικής Μικροβιολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο Pasteur, ²Γαστρεντερολογική Κλινική, Νοσοκομείο "Αλεξάνδρα", ³Παθολογοανατομικό Εργαστήριο, Νοσ. Metropolitan

Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η επίδραση οξυγαλακτικών βακτηρίων (ΟΓΒ) στην εγκατεστημένη λοίμωξη με *Helicobacter pylori* SSI σε ποντίκια C57BL/6. Επιπλέον μελετήθηκε η επίδραση υπερκειμένων καλλιιεργειών ΟΓΒ (α) στην προσκόλληση του *Hp* (β) την έκκριση Ιντερλευκίνης-8 (IL-8) και (γ) την επαγωγή του διάσπαρτου φαινοτύπου (hummingbird phenotype) σε in vitro συστήματα συν-επάσης στελεχών αναφοράς *Hp* (SSI, CCUG 38870, CCUG 38871, CCUG 38872 και 069A) με γαστρικά επιθηλιακά κύτταρα (AGS). Χορηγήσαμε τα ΟΓΒ *Lactobacillus johnsonii* Lal, *L. amylovorus* DCE 471, *L. acidophilus* IBB 801, συνεχώς, μέσω του πόσιμου ύδατος και είδαμε ότι ημερήσια δόση 10⁸ cfu/ζώο δεν στάθηκε ικανή να μειώσει τον αποικισμό του *Hp* στις 6 και 12 εβδομάδες μετά την πρωτολοίμωξη (εκτίμηση με: ποσοτική καλλιέργεια *Hp*, PCR και ιστολογική εξέταση κατά Sydney στο γαστρικό βλεννογόνο). Παρ' όλα αυτά, στην περίπτωση χορήγησης του Lal παρατηρήθηκε σημαντική μείωση στα επίπεδα της χρόνιας γαστρίτιδας στις 6 και 12 εβδομάδες (p=0,003 και p=0,038 αντίστοιχα, Wilcoxon rank sum test). Αντίθετα, σε όλες τις ομάδες πειραματόζων που χορηγήθηκαν ΟΓΒ, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση στη χρόνια ενεργό γαστρίτιδα (έκταση ουδετεροφιλικής διήθησης) καθ' όλη τη διάρκεια των 12 εβδομάδων (Lal:p=0,003, DCE 471 και IBB 801:p=0,011). Ταυτόχρονη μείωση των τίτλων των αντι-*Hp* IgG αντισωμάτων παρατηρήθηκε μόνο μετά τη χορήγηση του Lal (p<0,05, Student's t test). Σε συμφωνία με την παρατηρούμενη ύφεση στην ουδετεροφιλική διήθηση διαπιστώθηκε ανασταλτική δράση των Lal και DCE 471 in vitro (α) στην προσκόλληση όλων των στελεχών αναφοράς *Hp* στα AGS (p<0,05, Student's t test, εκτίμηση με FACS ανάλυση CFSE-σημασμένων *Hp*) και (β) την έκκριση IL-8 (ELISA) μετά από 24ωρη μόλυνση με τα στελέχη *Hp* CCUG 38870 (p<0,0001 και p=0,03 αντίστοιχα, Student's t test) και 069A (p<0,0001 και p=0,013 αντίστοιχα, Student's t test). Επειδή στα συγκεκριμένα πειράματα οι *Hp* καλλιέργειες προεπώστηκαν για 1 ώρα με φυσιολογικά (pH 4,5) και ουδετεροποιημένα (pH 6,8) υπερκείμενα ΟΓΒ καλλιιεργειών, η παρατηρούμενη επίδραση δεν φαίνεται να σχετίζεται με το όξινο pH. Τέλος, τα ΟΓΒ υπερκείμενα απέτρεψαν ολικά, στην περίπτωση του Lal και μερικά, στην περίπτωση του DCE 471, την επαγωγή του χαρακτηριστικού διάσπαρτου φαινοτύπου που παρατηρείται στα AGS κύτταρα μετά από μόλυνση με *Hp*. Συνολικά, τα παραπάνω αποτελέσματα δείχνουν ότι τα ΟΓΒ μπορούν να επιδρούν στην ανοσολογική απόκριση τόσο στο επίπεδο παραγωγής αντι-*Hp* αντισωμάτων όσο και της ουδετεροφιλικής διήθησης στο χόριο, κατά την *Hp* λοίμωξη. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί από την παρατηρούμενη μειωμένη προσκόλληση του *Hp* στα γαστρικά κύτταρα και τη συνεπακόλουθη ελάττωση έκκρισης προφλεγμονωδών κυτοκινών, όπως η IL-8. Περαιτέρω, η αναστολή της επαγωγής του διάσπαρτου φαινοτύπου υποδηλώνει πιθανή δράση των ΟΓΒ υπερκειμένων έναντι παραγόντων παθογένειας του *Hp*.

FUNCTIONAL INHIBITORY EFFECT OF LACTIC ACID BACTERIA UPON *Helicobacter pylori* (*Hp*) INFECTION

Panayotopoulou E.G.¹, Martinez-Gonzalez B.¹, Michopoulos S.², Petraki K.³,
Mentis A.¹, Sgouras D.¹

¹Laboratory of Medical Microbiology, Hellenic Pasteur Institute, Athens, Greece,
²Gastroenterology Unit, "Alexandra Hospital, Athens, Greece, and ³Pathology Unit,
"Metropolitan" Hospital, Athens, Greece.

In the present study, we have evaluated the effect of individual lactic acid bacteria (LAB) on C57BL/6 mice infected with the *Hp* SSI strain. Moreover, we utilized in vitro coculture systems of selected *Hp* reference strains (SSI, and CCUG 38770, 38771, 38772 and 069A) with gastric epithelial cells (AGS), to study the potential ability of LAB cell-free spent culture supernatants (LAB-SCS) (a) to reduce *Hp* adhesion to AGS, (b) to modulate *Hp*-induced IL-8 secretion by epithelial cells, and (c) to abrogate the induction of the characteristic "hummingbird" phenotype. We administered the LAB in a continuous fashion through the animal drinking water and observed that a daily dose of 10⁸ cfu/animal failed to reduce *Hp* colonization of the gastric mucosa at 6 and 12 weeks post infection (assessed by viable cultures, PCR, and histopathology according to the Sydney system in gastric samples). Despite that, in the case of Lal-treated animals there was a significant reduction in the levels of chronic inflammation at 6 and 12 weeks (p=0.003 and p=0.038 respectively, Wilcoxon rank sum test). Furthermore, we observed a significant attenuation of chronic active gastritis (neutrophilic infiltration in the lamina propria) in all the LAB-treated animal groups throughout the whole experimental period (Lal: p=0.003, DCE 471 and IBB 801: p=0.011). A concomitant reduction of anti-*Hp* IgG antibodies in the serum was evident only in the case of Lal-treated animals (p<0.05, Student's t test). In accordance to the observed attenuation of neutrophil influx in the lamina propria of *Hp*-infected animals, Lal and DCE 471 supernatants significantly reduced IL-8 secretion by AGS cells in vitro (ELISA), following 24-hour incubation with *Hp* reference strains CCUG 38770 (p<0.0001 and p=0.03 respectively, Student's t test) and 069A (p<0.0001 and p=0.013 respectively, Student's t test). There was also concomitant reduction in the adhesion of all the reference *Hp* strains to AGS cells following pretreatment with Lal and DCE 471 supernatants (p<0.05, Student's t test, assessment of CFSE-labeled *Hp* bound to AGS by FACS analysis). This inhibitory in vitro activity seems to be pH-independent, since it was obtained both by LAB-SCS at their native pH (4.5) and their neutralized form (pH 6.8). Finally, *Hp* preincubation with LAB-SCS resulted in complete (Lal) or partial (DCE 471) abrogation of the hummingbird phenotype in AGS cells. Collectively, these results point out that LAB may in fact exert an immunomodulatory effect as indicated by both the production of anti-*Hp* IgG and the neutrophilic infiltration in the lamina propria, during *Hp* infection. This could be explained by reduced *Hp* adhesion to gastric epithelial cells in vitro, and the subsequent attenuation in the secretion of proinflammatory cytokines, such as IL-8. Furthermore, the abrogation of the *Hp* induced hummingbird phenotype could denote a potential activity of LAB against *Hp* virulence factors.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ GSM, 900MHz, ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΚΙΝΗΤΩΝ ΤΗΛΕΦΩΝΩΝ,
ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΕΝΤΟΜΩΝ****Παναγόπουλος Δ.Ι. και Λ.Χ. Μαργαρίτης**Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784 Αθήνα

Η GSM (Global System for Mobile Telecommunications) ακτινοβολία με φέρουσα συχνότητα στα 900MHz που εκπέμπεται από τα κινητά τηλέφωνα, (και από τις κεραίες των σταθμών βάσης κινητής τηλεφωνίας), έχει αποδειχθεί στα πειράματά μας ότι επηρεάζει σοβαρά την αναπαραγωγική ικανότητα των εντόμων. Η ακτινοβολία αυτή «διαμορφωμένη» από ανθρώπινη φωνή, (ομιλούσα εκπομπή), προκαλεί μείωση της ωοτοκίας των εντόμων έως και 60%, ενώ η «μη διαμορφωμένη» ακτινοβολία, (μη ομιλούσα εκπομπή), προκαλεί μείωση 15-20%. Στα πειράματά μας, τα έντομα (*Drosophila melanogaster*), εκτίθεντο για 6μην ημερησίως κατά τη διάρκεια των πρώτων 2-5 ημερών της ενήλικης ζωής τους στο κοντινό πεδίο της κεραίας του κινητού τηλεφώνου. Το GSM πεδίο αποδείχθηκε ότι επιδρά στην αναπαραγωγική ικανότητα και θηλυκών και αρσενικών εντόμων. Η εξήγηση που δίνουμε με τα μέχρι σήμερα δεδομένα είναι ότι το GSM πεδίο ελαττώνει το ρυθμό των κυτταρικών λειτουργιών κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης των γονάδων στα έντομα. Παρά το ότι δεν είμαστε σε θέση να γνωρίζουμε αν υπάρχουν αντίστοιχες επιδράσεις στον άνθρωπο, θεωρούμε ότι τα αποτελέσματά μας υπαγορεύουν τη συνετή και όσο το δυνατό ελαχιστοποιημένη χρήση των κινητών τηλεφώνων από το κοινό. Οι βιολογικές επιδράσεις που καταγράψαμε δεν συνοδεύονται από αύξηση θερμοκρασίας, είναι δηλαδή φαινόμενο «μη-θερμικό». Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με το ότι η εκπεμπόμενη ακτινοβολία έχει τιμές έντασης εντός των θεσπισμένων «Ορίων Επιτρεπόμενης Έκθεσης» στις δυτικές χώρες, (ΗΠΑ, δυτική Ευρώπη), όρια που θεσπίστηκαν λαμβάνοντας υπ' όψιν μόνο επιδράσεις που συνοδεύονται από αύξηση θερμοκρασίας του εκτιθέμενου ιστού, θέτει κατά τη γνώμη μας θέμα αναθεώρησης των ορίων αυτών προς την κατεύθυνση του να συμπεριλάβουν και τις μη-θερμικές επιδράσεις, [Panagopoulos et al., 2004], [Panagopoulos and Margaritis, 2003].

Panagopoulos D.J., Karabarbounis A. and Margaritis L.H., (2004), Effect of GSM 900MHz Mobile Phone Radiation on the Reproductive Capacity of *Drosophila melanogaster*, *Electromagnetic Biology and Medicine*, 23(1), 29-43.

Panagopoulos D.J. and Margaritis L.H., (2003), Effects of Electromagnetic Fields on the Reproductive Capacity of *Drosophila melanogaster*, *In*: Stavroulakis P. (Ed.) "Biological Effects of Electromagnetic Fields", Springer.

Η εργασία αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών

EFFECT OF GSM 900 MHz MOBILE PHONE RADIATION ON THE REPRODUCTIVE CAPACITY OF INSECTS

Panagopoulos D.J. & L.H. Margaritis

Department of Cell Biology and Biophysics Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis 15784 Athens - Greece

Pulsed Radio Frequency, (RF), electromagnetic radiation from common GSM mobile phones, (Global System for Mobile telecommunications) with a carrier frequency at 900 MHz, “modulated” by human voice, (speaking emission), is found to decrease the reproductive capacity of the model insect *Drosophila melanogaster* by 50% - 60%, whereas the corresponding “non-modulated” field, (non-speaking emission) decreases the reproductive capacity by 15% - 20%. The insects were exposed to the near field of the mobile phone antenna for 6min per day during the first 2-5 days of their adult lives. The GSM field is found to affect both females and males. Our results suggest that this field-radiation decreases the rate of cellular processes during gonad development in insects.

Although we cannot simply extrapolate our results to any possible corresponding effects on humans, we think that our data imply the need for prudent avoidance of exposure to GSM radiation and the cautious use of mobile phones. Because the exposure levels in our experiments were within the current exposure limits, these results suggest a reconsideration of the existing exposure criteria towards a direction to include also non-thermal biological effects, [Panagopoulos et al., 2004], [Panagopoulos and Margaritis, 2003].

Panagopoulos D.J., Karabarounis A. and Margaritis L.H., (2004), Effect of GSM 900MHz Mobile Phone Radiation on the Reproductive Capacity of *Drosophila melanogaster*, *Electromagnetic Biology and Medicine*, 23(1), 29-43.

Panagopoulos D.J. and Margaritis L.H., (2003), Effects of Electromagnetic Fields on the Reproductive Capacity of *Drosophila melanogaster*, *In: Stavroulakis P. (Ed.) “Biological Effects of Electromagnetic Fields”*, Springer.

This work was supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens

ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΙΙΚΗΣ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗΣ**Πανοτοπούλου Ε. ***

ΚΟΠΧ «Γ. ΠΑΠΑΝΙΚΟΛΑΟΥ», ΑΟΝΑ «Ο ΑΓ. ΣΑΒΒΑΣ»

Η δημιουργία καρκίνου είναι αποτέλεσμα της συσσώρευσης γενετικών μεταβολών οι οποίες επιτρέπουν το μη ελεγχόμενο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τη διαταραχή της ομαλής ρύθμισης και διατήρησης της ομοιόστασης σε ένα οργανισμό.

Οι ογκογόνοι ιοί έχουν παίξει δύο πρωταρχικούς ρόλους στην έρευνα του καρκίνου την τελευταία εικοσαετία, πρώτον σαν «κανάλια» ανακάλυψης και εντοπισμού κυτταρικών σημάτων και βιοχημικών οδών ελέγχου της κυτταρικής αύξησης και δεύτερον σαν πρωτογενή αίτια δημιουργίας νεοπλασίας στον άνθρωπο.

Η μελέτη του ρόλου και της δράσης τόσο των DNA όσο και των RNA ογκογόνων ιών βοήθησε καθοριστικά στην ανάπτυξη πειραματικών μοντέλων καρκινογένεσης τα οποία συνέβαλαν στην κατανόηση και θέσπιση των αρχών και των κανόνων οι οποίοι διέπουν τη σύγχρονη θεωρία της βιολογίας του καρκίνου.

Οι ογκογόνοι ιοί έχουν την ικανότητα να μετασχηματίζουν τα κύτταρα υποκαθιστώντας τους φυσιολογικούς μηχανισμούς κυτταρικού ελέγχου. Οι ρετροϊοί με ικανότητα μετασχηματισμού φέρουν στο γένωμά τους ογκογονίδια προερχόμενα από κυτταρικά γονίδια τα οποία συμμετέχουν στον έλεγχο της μιτοχόνου δραστηριότητας και της κυτταρικής αύξησης.

Οι DNA ογκογόνοι ιοί κωδικοποιούν για ογκογονίδια ιϊκής προέλευσης τα οποία είναι απαραίτητα για την ιϊκή αντιγραφή και το κυτταρικό μετασχηματισμό.

Η δημιουργία συμπλεγμάτων μεταξύ ιϊκών ογκοπρωτεϊνών και κυτταρικών πρωτεϊνών υπεύθυνων για την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου και η μελέτη του μηχανισμού δράσης τους οδήγησε στην ανακάλυψη των ογκογόνων καταστολέων. Οι ιοί θεωρούνται σήμερα σημαντικοί αιτιολογικοί παράγοντες δημιουργίας καρκίνου στον άνθρωπο.

Μεταξύ των πλέον γνωστών από αυτούς συγκαταλέγονται ο ιός της ηπατίτιδας Β (HBV), ο Epstein Barr (EBV), Human papillomaviruses (HPV), Human T-cell leukemia virus type I (HTLV-I), Human Herpesvirus type 8 (HSV – 8) και ο ιός της ηπατίτιδας C (HCV).

Όπως έχει αποδειχθεί οι ιοί είναι υπεύθυνοι για το 15 % των περιπτώσεων καρκίνου στον άνθρωπο. Η μολυσματική φύση τους διαχωρίζει σαφώς αυτούς από όλα τα άλλα αίτια δημιουργίας καρκίνου. Η παθολογία της ιϊκής λοίμωξης και η απάντηση του κυττάρου ξενιστή θεωρούνται καθοριστικά για την ανάπτυξη της νόσου.

* Προσκεκλημένη ομιλήτρια

Παρά το γεγονός ότι πλήθος μοριακών και επιδημιολογικών μελετών υποστηρίζουν την εμπλοκή των ιών στη δημιουργία καρκίνου φαίνεται ότι στις περισσότερες περιπτώσεις ο παράγων αυτός δεν είναι αρκετός και αυτό επιβεβαιώνεται από το γεγονός ότι μόνο ένα μικρό ποσοστό μολυνθέντων ατόμων θα αναπτύξει καρκίνο και σχεδόν πάντα μετά από μια μακρά λανθάνουσα περίοδο μεταξύ της αρχικής λοίμωξης και της καρκινικής εξαλλαγής.

Είναι πραγματικά ένα μεγάλο ερώτημα το οποίο τίθεται για τις μελλοντικές έρευνες στην Ιϊκή Ογκολογία η εξακρίβωση των γεγονότων τα οποία καθορίζουν το κατά πόσο μια λοίμωξη από ένα ογκογόνο ιό θα εξελιχθεί σε κακοήθεια ή μη.

MOLECULAR BASIS OF VIRAL CARCINOGENESIS**Panotopoulou E.***

G. Papanikolaou Research Center "Saint Savvas" Hospital

The cancer cell results from the accumulation of genetics mutations that permit uncontrolled proliferation and independence from normal homeostatic regulation. The study of both transforming retroviruses and DNA tumor viruses had led to the identification and elucidation of many critical pathways involved in programming cancer cell growth.

The tumor viruses have played two major roles in cancer research over the last two decades: first as tools for the discovery and dissection of cell signaling and growth control pathways and second as newly appreciated causative agents of human neoplasia. Both the RNA tumor viruses and the DNA tumor viruses played pivotal roles in the establishment of paradigms that extend far beyond virology to form the foundation of contemporary cancer biology. Transforming retroviruses carry oncogenes derived from cellular genes that are involved in mitogenic signaling and growth control. DNA tumor viruses encode oncogenes of viral origin that are essential for viral replication and cell transformation. Viral oncoproteins complex with cellular proteins to stimulate cell cycle progression and led to the discovery of tumor suppressors. Viruses are now accepted as bona fide etiologic factors of human cancer.

These include Hepatitis B virus (HBV), Epstein – Barr virus (EBV), Human Papillomavirus (HPV), T-cell leukemia virus type I (HTLV-I), Human Herpes virus type 8 (HHV-8) and hepatitis virus C (HCV). It is estimated that viruses cause 15% of all human tumors worldwide. The infectious nature of viruses distinguishes them from all other cancer – causing agents (such as chemicals, radiation and hormones). Consequently, the pathogenesis of a viral infection and the response of the host are integral to understanding how cancer might arise from that background. Viruses are usually not complete carcinogens, and the known human cancer viruses display different roles in transformation. Many years may pass between initial infection and tumor appearance and most infected individuals do not develop cancer. It is clearly a major task for future research in tumor virology to find out what determines whether infection with a tumor virus results in malignancy or not. The risk could be influenced by multiple parameters, by the patient's immunological status, by the nature of the genetic alterations within the host cell, or by the possibility that certain virus variants are associated with a higher transforming potential.

* Invited speaker

KENH

Scientific American

Or

National Geographic

ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΠΟΛΥΜΕΣΩΝ ΣΤΗΝ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ**Παπαδήμας Γ., Βελέντζας Α.Δ., Λ.Χ. Μαργαρίτης**

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784, Αθήνα

Η έρευνα αυτή μελετά την επίδραση της νέας τεχνολογίας στη διαδικασία της μάθησης. Αναδεικνύεται ο νέος ρόλος του διδάσκοντα και γίνεται ερμηνεύεται η συμμετοχή πολυμέσων - διδάσκοντος στη διδασκαλία. Για τη μελέτη αυτή επιλέχθηκαν τάξεις μαθητών –σπουδαστών της Αθήνας δευτεροβάθμιας και τριτοβάθμιας. Κριτήρια επιλογής αποτέλεσαν: **α.** Βιολόγοι έμπειροι καθηγητές εκπαιδευμένοι σε χρήση ΗΥ και πολυμέσων, **β.** Αίθουσες κατάλληλα εξοπλισμένες με ΗΥ/σπουδαστή. **γ.** Δυνατότητα επικοινωνίας μεταξύ διδασκόντων – διδασκομένων (e-mail, CD).

Η εφαρμογή έγινε σε ίδιας απόδοσης τμήματα, όπου παραδόθηκαν ίδια μαθήματα βιολογίας σε μερικά τμήματα με τον παραδοσιακό τρόπο διδασκαλίας και σε άλλα με εφαρμογή νέων τεχνολογιών στη διδασκαλία. Διερευνήθηκαν οι σχέσεις: 1. Παρακολούθηση του μαθήματος στην τάξη ή εναλλακτικά βιντεοσκοπημένου μαθήματος στο PC στο σπίτι, 2. Διαδραστικό video-προσωπικότητα διδάσκοντος, 3. Μάθημα με προβολή video – επίδειξη πειράματος, 4. Μάθημα σε pc στο σπίτι – ηλικία. Η προβολή σε pc/σπουδαστή πειραματικής εφαρμογής (διαδραστικά) προτιμάται λόγω των ευκολιών που παρέχει. Η **ηλικία** για εφαρμογές διδασκαλίας σε pc στο σπίτι είναι καθοριστική. Πρέπει να αποφεύγεται στις μικρές τάξεις του γυμνασίου. Κυρίαρχος εξακολουθεί να είναι ο **νέος ρόλος** του διδάσκοντος. Γνωστική επάρκεια, ευγενικές αντιδράσεις, ηρεμία, άνεση στο λόγο, επιστημονική φήμη είναι μερικές από τις αρετές που καθιστούν κυρίαρχο τον **‘δάσκαλο’** και διευκολύνουν την επίτευξη του μαθησιακού στόχου. Η τεχνολογία θα επιτρέψει στα παιδιά να προσεγγίζουν ριζικά νέα γνώση σε κάθε ηλικία. Το **τελικό συμπέρασμα** είναι πως η χρήση των πολυμέσων όταν εφαρμοστεί σωστά, δηλ. από εκπαιδευμένους διδάσκοντες και με τη βοήθεια του απαραίτητου εξοπλισμού, είναι σαφώς μαθησιακά ανώτερος από τον παραδοσιακό τρόπο, τουλάχιστον για τη διδασκαλία σε γνωστικά αντικείμενα όπου η **εικόνα** και η **κίνηση** αποτελούν μεγάλο ποσοστό του περιεχομένου του μαθήματος.

IMPLEMENTATION OF MULTIMEDIA TECHNOLOGY IN EDUCATIONAL PROCESS

Papadimas G., Velentzas A.D. & L.H. Margaritis

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, National & Kapodistrian
University of Athens, Panepistimiopolis, 15784, Athens - Greece

The research, which follows, is trying to show the effect of multimedia technologies in the procedure of learning. The new role of the “teacher” is explored through the investigation of the learning capacity using both the traditional and the novel ways of teaching. The criteria for the selection of the appropriate schools and classes were: a. Experience of the Biologists - teachers trained to the use of P.C. and multimedia. b. Classrooms equipped with PC/student, c. Ability of communication between teachers-students (e-mail, CD). In addition undergraduate and postgraduate students of the School of Biology (Athens University) were chosen where the teachers apply new educative techniques of biology lessons. In all classes, courses of similar subject were presented either traditionally or by means of multimedia technologies and the overall learning capacity/efficiency of the students was evaluated by suitable questionnaire and diagnostic tools. The criteria applied include: Lesson taken in the classroom- lesson watched at home in the PC, after suitable recording by the teacher (VOD-video on demand). 1. Interactive video- personality of teacher. 2. Lesson with projection video-demonstration of experiment. 3. Lesson in pc at home-age. The projection to pc/student experimental application (interactive) gathers more preferences because of the facilities, which provides. However, the teacher needs to be careful not to run over the students, the reality has many difficulties. Prudent sufficiency, gentle reactions, tranquility, at leisure in speech, scientific fame is few of the qualities which establish a leading “teacher” and facilitate the achievement of the learning target. The Future of Education lays to the contribution of educative aid to the weakest classes, countries and areas of the world, so as the pc becomes a medium that will heal the shears of inequality. The conclusion is that the use of multimedia in the learning process is valuable provided that suitably educated teacher is involved and in biology topics where the use of image and animation is within the scope of the lesson.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΟΥ IMIDACLOPRID ΣΤΑ PC12 ΚΥΤΤΑΡΑ

**Παπαζαχαρίου Λ., Τσεκούρα Χρ., Αγγελίδου Ε., Θεοφιλίδης Γ.,
Χατζοπούλου-Κλαδάρá Μ.**

Εργαστήρια Βιολογίας Ανάπτυξης και Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Τα PC12 κύτταρα προέρχονται από έναν όγκο του μυελού των επινεφριδίων αρουραίων, ο οποίος ονομάζεται φαιοχρωμοκύττωμα και αποτελούν ένα χρήσιμο μοντέλο για νευροφαρμακολογικές μελέτες. Διαθέτουν στη μεμβράνη τους νικοτινικούς υποδοχείς ακετυλοχολίνης και για το λόγο αυτό παρέχουν ένα πολύ χρήσιμο μοντέλο για τη μελέτη των αλληλεπιδράσεων διαφόρων ουσιών με τους μεμβρανικούς υποδοχείς. Μια τέτοια ουσία είναι το εντομοκτόνο imidacloprid που έχει την ικανότητα να συνδέεται με τους νικοτινικούς υποδοχείς, και το οποίο οδηγεί στην αναστολή της λειτουργίας των χολινεργικών συνάψεων. Η μεγαλύτερη συγγένεια εμφανίζεται για τις συνάψεις των εντόμων. Στη συγκεκριμένη εργασία μελετήσαμε την επίδραση των συγκεντρώσεων του imidacloprid 10^{-9} M, 10^{-8} M, 10^{-7} M, 10^{-6} M και 10^{-5} M στα PC12 κύτταρα για χρόνους έκθεσης 6, 24 και 48 ώρες. Παρατηρήσαμε ότι καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση του εντομοκτόνου, μειώνεται η επί τοις εκατό βιωσιμότητα των κυττάρων. Τέλος, διαπιστώθηκε ότι η επίδραση των διαφορετικών συγκεντρώσεων imidacloprid στα PC12 κύτταρα είναι παρόμοια για χρόνο έκθεσης 6 και 24 ώρες, ενώ στις 48 ώρες η βιωσιμότητα των κυττάρων μειώνεται ακόμη περισσότερο. Έτσι, στην εργασία αυτή παρατηρήθηκε ότι η βιωσιμότητα των PC12 κυττάρων μειώνεται σε συγκεντρώσεις του εντομοκτόνου πολύ μικρότερες από ό,τι έχει αναφερθεί για τα θηλαστικά έως τώρα.

EFFECT OF THE INSECTICIDE IMIDACLOPRID IN PCI2 CELLS

**Papazachariou L., Tsekoura Chr., Aggelidou E., Theofilidis G.,
Hadzopoulou-Cladaras M.**

Laboratories of Developmental Biology and Animal Physiology, School of Biology, Aristotle
University of Thessaloniki

PCI2 cells derive from a tumor of adrenal medulla of rats, which is called pheochromocytoma and are a useful model for neuropharmacological studies. They have acetylcholine nicotinic receptors in their membrane and for that reason they provide a useful model for the study of the interactions between different chemical compounds and the membrane receptors. A compound like these is the insecticide imidacloprid, which has the property to bind to the nicotinic receptors and leads to inhibition of the function of cholinergic synapses. The highest affinity is shown for the synapsy of insects. In this research, we have studied the effect of various concentrations of imidacloprid 10^{-9} M, 10^{-8} M, 10^{-7} M, 10^{-6} M and 10^{-5} M for exposure times of 6, 24, 48 hours, in PCI2 cells. We have observed that while the concentration of the insecticide increases, the per cent cell viability decreases. Finally, we have observed that the effect of different concentrations of imidacloprid is similar for exposure time of 6 and 24 hours in PCI2 cells, while in 48 hours the cell viability decreases even more. Thus, while in previous studies it has not been reported any effect of imidacloprid in mammals' Central Nervous System in such low concentrations, in our study, we have observed that the viability of PCI2 cells decreases in even lower concentrations of the insecticide than it has been mentioned for mammals until now.

**ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΡΟΧΟΖΩΝ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *Brachionus*
ΕΥΡΩΠΑΪΚΩΝ ΕΚΚΟΛΑΠΤΗΡΙΩΝ: ΠΡΟΚΑΤΑΡΤΙΚΑ
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

Παπακώστας Σ.¹, Κανέλλης Δ.¹, Καππός Η.¹, Μπαξεβάνης Α.¹, De Wolf T.²,
Dooms S.³, Vadstein O.⁴, Dierckens K.⁵, Sorgeloos P.⁵, Τριανταφυλλίδης Α.¹
και Θ.Ι. Αμπατζόπουλος*

¹Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη, ²Maricoltura di Rosignano Solvay srl, Livorno, ³
CLO Sea Fisheries Department, Oostende, ⁴Norwegian University of Science &
Technology, Trondheim, ⁵Laboratory of Aquaculture & *Artemia* Reference Center, Ghent,

*E-mail: abatzip@bio.auth.gr, Τηλ: 2310-998301, Fax: 2310-998256

Τα τροχοζωα ανήκουν στα μικρότερα σε μέγεθος μετάζωα, με πάνω από 1000 καταγεγραμμένα είδη. Το 90% από αυτά απαντάται σε ενδιαιτήματα γλυκών νερών. Σε αυτά ανήκει ο βραχίονος (*Brachionus* sp.), ένας οργανισμός με μεγάλο οικονομικό ενδιαφέρον λόγω της ευρείας χρήσης του ως τροφής των πρώτων προνυμφικών σταδίων πολλών ειδών οστεϊχθύων και αρκετών καρκινοειδών. Στα πλαίσια ενός προγράμματος χρηματοδοτούμενου από την Ευρωπαϊκή Κοινότητα, η παρούσα μελέτη ασχολείται με την γενετική μελέτη της πορείας καλλιέργειών βραχίονου σε ευρωπαϊκά εκκολαπτήρια με σκοπό την συλλογή δεδομένων για την εύρεση τρόπων αύξησης της απόδοσης των εκκολαπτηρίων ιχθυογεννητικών σταθμών και τη διερεύνηση του φαινομένου της κατάρρευσης των καλλιέργειών. Σε αυτά τα πλαίσια πραγματοποιήθηκε συλλογή δειγμάτων καλλιέργειών από εκκολαπτήρια ευρύαλων ψαριών της Ελλάδας, της Ισπανίας, της Ιταλίας και της Νορβηγίας. Η ενίσχυση με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR) περιοχών του μιτοχονδριακού DNA και η πέψη των ενισχυμένων τμημάτων με κατάλληλα επιλεγμένες ενδονουκλεάσες περιορισμού επιτρέπει την γενετική ταυτοποίηση-διάκριση των ειδών του γένους *Brachionus* που συμμετέχουν στην καλλιέργεια. Με τον τρόπο αυτό μπορεί να παρακολουθηθεί η σύσταση των ειδών μιας καλλιέργειας καθ'όλη τη διάρκεια της πορείας της. Καλλιέργειες με υψηλή και χαμηλή απόδοση στην ανάπτυξη των τροχοζώων καθώς και καλλιέργειες που κατέρρευσαν μελετώνται ήδη προκειμένου να αξιολογηθεί η επίδραση γενετικών παραγόντων στα παραπάνω φαινόμενα.

Το πρόγραμμα χρηματοδοτήθηκε από την Ε.Ε.: Q5RS-2002-01302

GENETIC STUDY OF *Brachionus* sp. ROTIFERS FROM EUROPEAN HATCHERIES: PRELIMINARY RESULTS

Papakostas S.¹, Kanellis D.¹, Kappas I.¹, Baxevanis A.¹, De Wolf T.², Dooms S.³, Vadstein O.⁴, Dierckens K.⁵, Sorgeloos P.⁵, Triantafyllidis A.¹ & Th.J. Abatzopoulos*

¹Department of Genetics, Development & Molecular Biology, Aristotle University of Thessaloniki, ²Maricoltura di Rosignano Solvay srl, Livorno, ³CLO Sea Fisheries Department, Oostende, ⁴Norwegian University of Science & Technology, Trondheim, ⁵Laboratory of Aquaculture & *Artemia* Reference Center, Ghent

*E-mail: abatzop@bio.auth.gr, Tel: 2310-998301, Fax: 2310-998256

Rotifers are among the smallest metazoans with more than 1000 identified species, 90% of which are brackish water inhabitants. Among them, *Brachionus* sp. is an organism with great economical interest as it is extensively used as feed for the early fish larvae and crustaceans. In the context of a project funded from the European Union, this study aims to describe the dynamics of hatchery cultures from a genetic angle and find ways for the increase of rotifer culture performance. Closely related to this is the issue of culture crashes. Under this scope, samples were obtained from Greek, Spanish, Italian and Norwegian finfish hatcheries. Polymerase chain reaction (PCR) amplification of mitochondrial regions and restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis with a number of restriction endonucleases has resulted in accurate description of the species composition of cultures. Using temporal sampling, culture species variation can be followed. High and low performance as well as collapsed cultures, are being investigated in order to assess the possible effects of different genetic factors in causing such devastating phenomena.

This program is financed by the EU: Q5RS-2002-01302

**Η ΚΡΥΣΤΑΛΛΙΚΗ ΔΟΜΗ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ ΤΗΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ
ΔΙΥΔΡΟΦΟΛΙΚΗΣ ΑΝΑΓΩΓΑΣΗΣ (hDHFR) ΜΕ ΔΙΥΔΡΟΦΟΛΙΚΟ
ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΝΕΙ ΜΕΛΕΤΕΣ ΕΝΖΥΜΙΚΗΣ ΚΙΝΗΤΙΚΗΣ****Παπανδρέου Ν.Χ.¹, Tucker P.A.² και Χαμόδρακας Σ.Ι.¹**¹ Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Παν/πολη 157 84, Αθήνα. ²EMBL-Hamburg Outstation, Germany

Η Διυδροφολική Αναγωγή (DHFR, EC 1.5.1.3) είναι ένα ένζυμο κλειδί για τη βιοσύνθεση των πουρινών, της μονοφωσφορικής δεοξυθυμιδίνης καθώς και ορισμένων αμινοξέων. Λόγω της στρατηγικής σημασίας της στο μεταβολισμό, αποτελεί στόχο για τη σύνθεση αντικαρκινικών φαρμάκων. Η Διυδροφολική Αναγωγή παρουσία NADPH, καταλύει την αναγωγή του 7,8-διυδροφολικού οξέος σε 5,6,7,8-τετραϋδροφολικό. Το σύμπλοκο της ανθρώπινης Διυδρο-φολικής Αναγωγής (hDHFR) με το φυσικό της υπόστρωμα (διυδροφολικό οξύ) και το συνένζυμο (NADPH) κρυσταλλώθηκε στην τετραγωνική ομάδα συμμετρίας χώρου P4₃2₁2, με παραμέτρους κυψελίδας $a=b=61.24$, $c=94.27$ και $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$ και συλλέχθηκαν δεδομένα με περίθλαση ακτίνων-Χ σε διακριτικό-τητα 1.8. Η δομή λύθηκε με την μέθοδο της Μοριακής Αντικατάστασης (AMORE) και βελτιστοποιήθηκε με μεθόδους Μέγιστης Πιθανοφάνειας (REFMAC) σε κρυσταλλογραφικό δείκτη αξιοπιστίας $R=0.199$ ($R_f=0.258$). Μετά από λεπτομερή εξέταση των χαρτών ηλεκτρονικής πυκνότητας καθώς και από τη γεωμετρία του υποστρώματος και του συνενζύμου καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι το υπόστρωμα παραμένει τελικώς στην αρχική του μορφή ως 7,8-διυδροφολικό ενώ το συνένζυμο βρίσκεται στην οξειδωμένη του μορφή, γεγονός που βρίσκεται σε συμφωνία και με μελέτες ενζυμικής κινητικής που έχουν πραγματοποιηθεί για την ανθρώπινη Διυδροφολική Αναγωγή¹.

Αναφορές⁽¹⁾ Blakley, R. L. (1995) *Adv. Enzymol. Relat. Areas. Mol. Biol.* 70, 23-102.

THE CRYSTAL STRUCTURE OF A HUMAN DIHYDROFOLATE REDUCTASE (hDHFR) COMPLEX WITH DIHYDROFOLATE SUPPORTS ENZYME KINETIC STUDIES

Papandreou N.C.¹, Tucker P.A.², & Hamodrakas S.J.¹

¹Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens,
Athens 157 84, Greece ²EMBL-Hamburg Outstation, Germany.

Dihydrofolate reductase (DHFR, EC 1.5.1.3) is a key enzyme for the biosynthesis of purines, deoxythymidine monophosphate, and a number of amino acids. Its significance in metabolism has also made it a target for anticancer drugs. DHFR catalyzes the reaction of 7,8-dihydrofolate and NADPH to form 5,6,7,8-tetrahydrofolate. The ternary complex of human dihydrofolate reductase with its substrate (7,8-dihydrofolate) and NADPH was crystallized in space group $P4_32_12$ with cell parameters $a=b=61.24$, $c=94.27$ and $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$. X-ray diffraction intensities to 1.8 resolution have been collected and the structure of the complex was solved by molecular replacement (AMORE) and refined by maximum likelihood methods (REFMAC) to a crystallographic R-factor value of 0.199 and free R-factor of 0.258. After detailed inspection of the electron density maps and analysis of the geometry of both the substrate and the coenzyme, we conclude that the substrate is found in its original state as 7,8-dihydrofolate, whereas the coenzyme is present in its oxidized state as NADP. These observations are in agreement with enzyme kinetics studies involving human dihydrofolate reductase¹.

References

- ⁽¹⁾ Blakley, R. L. (1995) *Adv. Enzymol. Relat. Areas. Mol. Biol.* 70, 23-102.

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ ΤΟΥΣ ΙΟΥΣ HSV-
I ΚΑΙ EBV ΣΤΟ ΓΑΣΤΡΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟ**

Παπασπύρου Η.¹, Πανοτοπούλου Ε.¹, Τσαμακίδης Κ.¹, Παρασκευάς Μ.¹,
Παπασιδέρη Ι.², Μαργαρίτης Λ.Χ.²

¹ΠΑΟΝΑ «Ο ΑΓ. ΣΑΒΒΑΣ» ²ΕΚΠΑ Τμήμα Βιολογίας

Ο γαστρικός καρκίνος είναι συχνή μορφή κακοήθειας σε όλο τον κόσμο, η οποία εμφανίζει μοναδικά επιδημιολογικά χαρακτηριστικά και συγκεκριμένη κατανομή, ενώ σήμερα είναι η δεύτερη πιο συχνή αιτία θανάτου σε όλο τον κόσμο. Η γαστρική καρκινογένεση είναι μία πολυσταδιακή και πολυπαραγοντική διεργασία όπου όπως προκύπτει από πολλές επιδημιολογικές και μοριακές μελέτες των τελευταίων χρόνων η εμπλοκή των ερπητοϊών αποτελεί σημαντικό παράγοντα στη παθογένεια της νόσου. Τόσο ο ιός HSV (Herpes simplex virus typel) όσο και ο EBV (Epstein-Barr virus) όπως έχει αποδειχθεί από *in vitro* και *in vivo* πειράματα σε συνεχείς κυτταρικές σειρές και πειραματόζωα έχουν την ικανότητα ογκογόνου μετασχηματισμού. Με βάση τα παραπάνω βιβλιογραφικά δεδομένα στην παρούσα μελέτη ανιχνεύθηκε η παρουσία των ιών αυτών σε βιοπτικά δείγματα ασθενών με καλοήθεις και κακοήθεις παθήσεις του στομάχου με τελικό στόχο την διερεύνηση και συσχέτιση της παρουσίας και δράσης τους στην δημιουργία γαστρικού καρκίνου. Επί συνόλου 90 παθολογικών δειγμάτων και ισάριθμων φυσιολογικών από γειτονικές περιοχές της βλάβης (τα οποία ελέγχθηκαν με την μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης) τα αποτελέσματα είναι τα ακόλουθα. Επί συνόλου 90 φυσιολογικών δειγμάτων δεν ανιχνεύθηκε σε κανένα δείγμα το γονιδίωμα των συγκεκριμένων ιών (ποσοστό 0%). Από τα παθολογικά δείγματα σε 53 (90) κακοήθη περιστατικά ανιχνεύθηκε ο ιός HSVI σε 15 (53) ποσοστό 28,30% και ο EBV σε 14 (53) ποσοστό 26,4%. Στις υπόλοιπες 37 καλοήθεις περιπτώσεις ανιχνεύθηκε ο ιός HSVI σε 11 (37) περιστατικά ποσοστό 29,72 % και ο EBV σε 10 (37) ποσοστό 27%.

INVESTIGATION OF THE HSV-I AND EBV INFECTION'S FREQUENCY IN GASTRIC CANCER

Papaspyrou H.¹, Panotopoulou E.¹, Tsamakidis K.¹, Paraskeuas M.¹, Papisideri I.²,
Margaritis L.H.²

¹“Saint Savvas” Hospital - ²University of Athens, Department of Biology

Gastric cancer is a major type of malignancy worldwide, displaying unique epidemiological features and showing marked geographic variation while today is the second most common cause of death's worldwide. Gastric carcinogenesis is a multistep and multifactorial process in which, as it come out from many epidemiological and molecular studies of the last years, herpesviruses play an important role at the pathogenesis of the disease. It was approved by in vitro and in vivo experiments in continuous cell lines and experimental animals that both HSVI and EBV viruses have the ability for oncogenic transformation. According the upper bibliographic data, in the present study we have detected the presence of these viruses at biological samples with malignant and non-malignant diseases of the stomach, and our final goal was to determine the relationship between the presence and act of these viruses in development of gastric cancer. In 90 pathological samples and equal normal from lesion's flanking regions (which was detected with the technique of polymerase chain reaction) the results are the following. In 90 normal samples the genome of these viruses was detected in none (0%). From the pathological samples in 53 (90) malignant incidents the virus HSVI was detected in 15 (28,30%) and EBV in 14 (26,4%). In the remaining 37 non-malignant cases the virus HSVI was detected in 11 samples (29,72%) and EBV in 10 (27%).

**ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΕΛΑΙΟΤΡΙΒΕΙΟΥ ΣΕ ΚΛΑΣΜΑΤΑ ΜΕ
ΘΡΕΠΤΙΚΗ ΑΞΙΑ Η ΜΕ ΦΥΤΟΤΟΞΙΚΗ ΔΡΑΣΗ****Παρασκευά Χ.^{1,2}, Κανελλοπούλου Δ.^{1,2}, Αγγελόπουλος Κ.³, Κουτσούκος Π.^{1,2}**¹Ερευνητικό Ινστιτούτο Χημικής Μηχανικής και Χημικών Διεργασιών Υψηλών
Θερμοκρασιών, Πλατάκι Αχαΐας, 26504 Πάτρα²Τμήμα Χημικών Μηχανικών, ³Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών,
Πανεπιστημιόπολη, Ρίο Αχαΐας, 26504 Πάτρα

Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε η δυνατότητα διαχωρισμού των υγρών αποβλήτων ελαιουργείου σε διάφορα κλάσματα με συστήματα υπερδιήθησης και αντίστροφης όσμωσης. Τα εργαστηριακά πειράματα ως και οι πιλοτικές εφαρμογές έδειξαν ότι αυτά τα απόβλητα μπορούμε να τα χειριστούμε αποδοτικά με τα ανωτέρω συστήματα. Χημική ανάλυση των υγρών αποβλήτων από το Ν. Αχαΐας έδειξε ότι περιέχουν οργανικές και ανόργανες ενώσεις μη φυτοτοξικές κατάλληλες για την αύξηση των φυτών μιας καλλιέργειας και διάφορες πολυφαινολικές ενώσεις με υψηλή φυτοτοξική δράση. Από τους χειρισμούς που δοκιμάστηκαν ελήφθησαν διάφορα κλάσματα τα οποία αξιολογήθηκαν για τη φυτοτοξική δράση τους και την διατροφική τους αξία. Ένα κλάσμα ελήφθη μετά από διήθηση σε κόσκινα 80 μm, ή σε φιλτρόπρεσσα, ή σε διήθηση με άμμο ποτάμια κατά τη οποία κρατήθηκαν οργανικά στερεά και διάφορες οργανικές ουσίες που είναι χρήσιμες για την βελτίωση καλλιεργούμενων εδαφών μετά από αερόβια επεξεργασία. Το διήθημα από την προηγούμενη διαδικασία χρησιμοποιήθηκε στη διαδικασία της υπερδιήθησης. Το κλάσμα που ελήφθη ως συμπύκνωμα της υπερδιήθησης περιείχε κυρίως οργανικές ουσίες μεγάλου μοριακού βάρους (λίπη, λιπίδια, σάκχαρα, στερεά) και υψηλές συγκεντρώσεις φαινολών. Πειράματα μας στο εργαστήριο έδειξαν ότι μέρος αυτών των φαινολών μπορούν να αφαιρεθούν επιλεκτικά από το κλάσμα αυτό με ψύξη και κρυστάλλωση των φαινολικών ενώσεων. Το διαπερατό της υπερδιήθησης ρεύμα επεξεργάστηκε περαιτέρω με τη διεργασία της μικροδιήθησης ή αντίστροφης όσμωσης. Ελήφθη ένα κλάσμα με υψηλή συγκέντρωση φαινολικών και ένα διήθημα που ήταν το μεγαλύτερο σε όγκο (~70-80 % του αρχικού όγκου). Το κλάσμα αυτό ήταν διαυγές και περιείχε κατά το πλείστον ανόργανα άλατα και μπορεί να διατεθεί είτε για άρδευση είτε σε υδάτινους αποδέκτες με τιμές παραμέτρων που βρίσκονται στα όρια που θέτουν οι οδηγίες και οι κανονισμοί της Ευρωπαϊκής Ένωσης.

Χρηματοδότηση: Quality of Life and Management of Living Resources (5FP-RS), Key Action 5: Sustainable Agriculture, Fisheries and Forestry, CRAFT- Contract No: QLK5-CT-2002-71666

OLIVE MILL WASTEWATERS SEPARATION INTO FRACTIONS WITH NUTRITION VALUE OR PHYTOTOXIC EFFECTS

Paraskeva C.^{1,2}, Kanellopoulou D.^{1,2}, Angelopoulos K.³, Koutsoukos P.^{1,2}

¹Institute of Chemical Engineering and High Temperature Chemical Processes, Platani Achaïas, GR 26504

²Department of Chemical Engineering, ³Department of Biology, University of Patras, University Campus, Rio, GR 265

In the present study, the possibility of separation of olive mill wastewaters (OMW) into several fractions by ultrafiltration and reverse osmosis systems was investigated. Our laboratory experiments as well as pilot plant applications showed that OMW may be effectively treated by the previous systems. Chemical analysis of OMW from Achaïa prefecture showed that they contain organics and inorganics non-phytotoxic compounds suitable for crop growth and several polyphenolic compounds with high phytotoxic action. In our treatments we obtained several fractions, which were evaluated further for nutrition value or for their phytotoxic effects. The first fraction obtained with simple filtration (sieving with 80µm screens or pressure filtration or sand bed filtration) retained solids and several organic substances, all of them suitable for cultivated soil improvement after an aerobic treatment. The permeate stream of the previous treatment was used in ultrafiltration process. The concentrated fraction obtained from ultrafiltration contained mainly organic substances with high molecular weight, (fats, lipids, sugars and solids) and high phenol concentrations. Our laboratory experiments using model phenols and OMW showed that part of these phenols may be removed by cooling crystallization. Further the permeate ultrafiltrate was treated in a microfiltration or reverse osmosis system. The concentrated fraction contained high concentrations of phenols. The permeate of this process obtained at the outlet (~70-80 % of the initial OMW volume) consisted mainly of transparent aqueous phase containing dissolved salts and may be used for irrigation purposes or may be disposed in any aqueous reservoir without risk. All parameter values for the components of the final fraction were found within the limits imposed by EU regulations.

Funding: Program: Quality of Life and Management of Living Resources (5FP-RS), Key Action 5: Sustainable Agriculture, Fisheries and Forestry, CRAFT- Contract No: QLK5-CT-2002-71666

**HOMER: ΜΙΑ ΚΑΙΝΟΥΡΙΑ ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΠΟΥ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΤΗΝ
ΠΡΟΔΡΟΜΗ ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΤΟΥ ΑΜΥΛΟΕΙΔΟΥΣ****Παρισιάδου Λ., Μπεθάνη Ι. και Σ. Ευθυμιόπουλος**Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 15784, Αθήνα

Οι πρωτεΐνες Homer ανήκουν σε μια οικογένεια κυτταροπλασματικών πρωτεϊνών, οι οποίες διαθέτουν χαρακτηριστικές περιοχές και ευθύνονται για την σύνδεση υποδοχέων της κυτταρικής επιφάνειας με ενδοκυττάρια δεξαμενές ασβεστίου. Έτσι, φαίνεται να συμμετέχουν στην απόκριση του κυττάρου σε εξωκυτταρικά σήματα, μέσω της ρύθμισης των πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων. Όλες οι γνωστές αλληλεπιδράσεις της Homer πραγματοποιούνται μέσω της αμινοτελικής EVHI περιοχής της. Η στερεοδιάταξη της EVHI παρουσιάζει ομολογία με την περιοχική πρόσδεσης στην φωσφορυλιωμένη τυροσίνη (PTB περιοχή), μέσω της οποίας επιτυγχάνεται η αλληλεπίδραση νευροειδικών πρωτεϊνών με το καρβοξυτελικό άκρο της πρόδρομης πρωτεΐνης του αμυλοειδούς (Amyloid Precursor Protein, APP). Με βάση τα παραπάνω δεδομένα, εξετάσαμε με πειράματα ανοσοκατακρήμνισης κατά πόσο οι APP και Homer αλληλεπιδρούν. Πράγματι, δείξαμε την αλληλεπίδραση αυτή σε HEK293 κύτταρα, που είχαν παροδικά συνδιαμολυνθεί με τα γονίδια των Homer 3a και APP₇₅₁. Πειράματα ραδιοσήμανσης έδειξαν ότι η Homer 3a επιμηκύνει τον χρόνο ημιζωής της APP μέχρι και τις 6 ώρες. Επίπλέον, επιχειρήσαμε τον προσδιορισμό των αμινοξικών περιοχών που εμπλέκονται στην αλληλεπίδραση, με την δημιουργία ελλείψεων στα γονίδια και των δύο πρωτεϊνών. Τα αποτελέσματά μας υποδηλώνουν πως απαλοιφή των 32 καρβόξυ-τελικών αμινοξέων της APP ή της EVHI περιοχής της Homer καταργούν την αλληλεπίδραση. Πειράματα βρίσκονται σε εξέλιξη για να μελετηθεί ο ρόλος της πρωτεΐνης Homer 3a στην ενδοκυτταρική κυκλοφορία και τον μεταβολισμό της APP.

Αυτή η εργασία χρηματοδοτήθηκε από την American Health Assistance Foundation, τα Ευρωπαϊκά προγράμματα GLK3-CT-2001-02362 και LSHM-CT-2003-503330, τη Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας (ΠΕΝΕΔ), το Πανεπιστήμιο Αθηνών (Καποδίστριας) και το Υπουργείο Παιδείας (Πυθαγόρας).

HOMER: A NOVEL BINDING PARTNER OF THE ALZHEIMER'S AMYLOID PRECURSOR PROTEIN (APP).

Parisiadou L. Bethani I. & S. Efthimiopoulos

Dept of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, National and Kapodistrian
University of Athens, Panepistimiopolis, 157 84, Athens - Greece

Homer is a family of multidomain cytosolic proteins that have been postulated to serve as scaffolds that possibly link cell surface transmembrane receptors and intracellular calcium stores, and thus, affect responses to extracellular signals by regulating protein-protein interactions. All the known protein-protein interactions between Homer proteins and their binding partners are due to the Homers' N-terminal EVH1 domain. The three-dimensional structure of the EVH1 domain has been shown to be similar to the phosphotyrosine-protein binding (PTB) domain, which mediates the interaction of neuronal proteins with the C-terminus of amyloid precursor protein (APP). Therefore, we investigated a possible interaction between Homer and APP by immunoprecipitation experiments. Indeed, we have characterized this interaction by transiently co-expressing Homer 3 α and APP₇₅₁ proteins in HEK293 cells. Pulse-chase analysis demonstrated that Homer 3 α prolongs the half-life of APP up to 6h. To a further extent, we attempted to identify the amino acid regions involved in the interaction, by creating deletion mutants of both proteins. It seems that deletion of the last 32 carboxyterminal amino acids of APP or deletion of Homer's EVH1 domain abolishes the interaction. Work is in progress to elucidate the role of Homer 3 α on APP trafficking and processing.

This work was funded by the American Health Assistance Foundation, European grants GLK3-CT-2001-02362 and LSHM-CT-2003-503330, the General Secretariat for Research and Technology (PENED), the University of Athens (Kapodistrias) and the Ministry of Education (Pythagoras).

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΡΥΘΜΙΣΗΣ ΤΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΤΗΣ
APP ΑΠΟ ΤΙΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ MDABI ΚΑΙ ΧΙΙΑ****Παρισιάδου Λ. και Σ. Ευθυμίουπουλος.**Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 84, Αθήνα

Το κύριο συστατικό των πλακών αμυλοειδούς της νόσου Alzheimer's, το πεπτίδιο Αβ, προκύπτει από την προτεολυτική επεξεργασία την πρόδρομης πρωτεΐνης του αμυλοειδούς (Amyloid Precursor Protein, APP). Πρωτεΐνες, όπως οι ΧΙΙΑ, Fe65, mDabI, που διαθέτουν μια περιοχή πρόσδεσης σε φωσφορυλιωμένη τυροσίνη (PTB domain), αναγνωρίζουν ειδικά το υψηλά συντηρημένο μοτίβο -YENPTY- στο καρβοξυτελικό άκρο της APP, ρυθμίζοντας έτσι την ενδοκυτταρική κυκλοφορία και τον μεταβολισμό της. Παρ' όλο που η αλληλεπίδραση της APP με τις πρωτεΐνες αυτές έχει προταθεί από μια σειρά μελετών, ο ακριβής μηχανισμός δράσης τους στον μεταβολισμό της APP παραμένει αδιευκρίνιστος. Συν-διαμόλυνση της ΧΙΙΑ με την APP επιβραδύνει την ωρίμανση της τελευταίας, επιμηκύνει τον χρόνο ημιζωής της και ελαττώνει τα επίπεδα των εκκρινόμενων παραγώγων της στο μέσο καλλιέργειας HEK293 κυττάρων. Η επίδραση αυτή αναστέλλεται τόσο από σημειακές μεταλλαγές στην NPTY περιοχή της APP όσο και από ελλείψεις στην καρβοξυτελική ουρά της πρόδρομης πρωτεΐνης. Στα πειράματά μας, δείξαμε πως υπερέκφραση της mDabI οδηγεί σε ενίσχυση των κυτταρικών και εκκρινόμενων επιπέδων της APP και έχει ως αποτέλεσμα αυξημένη παραγωγή του Αβ πεπτιδίου. Μεταλλαγές της APP αναστέλλουν την επίδραση της mDabI στον μεταβολισμό της APP. Η μελέτη των πρωτεϊνών, που αλληλεπιδρούν με την APP, μπορεί να συμβάλλει στην κατανόηση των μοριακών και κυτταρικών μονοπατιών, που συμμετέχει η APP και στην ανάπτυξη μεθόδων με σκοπό την αναστολή ή την καθυστέρηση παραγωγής των αμυλοειδών πλακών.

Αυτή η εργασία χρηματοδοτήθηκε από την American Health Assistance Foundation, τα Ευρωπαϊκά προγράμματα GLK3-CT-2001-02362 και LSHM-CT-2003-503330, την Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας (ΓΕΝΕΔ), το Πανεπιστήμιο Αθηνών (Καποδίστριας) και το Υπουργείο Παιδείας (Πυθαγόρας).

INVESTIGATING THE REGULATION MECHANISM OF XIIIA AND MDABI ON APP METABOLISM

Parisiadou L. & S. Efthimiopoulos

Dept of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, 157 84, Athens - Greece

The principal component of Alzheimer's amyloid plaques, A β , derives from proteolytic processing of the Alzheimer's Amyloid Precursor Protein (APP). Adaptor proteins with phosphotyrosine binding (PTB) domain, including those in the XII, Fe65, mDabl, bind specifically to the conserved –YENPTY- motif in the APP C-terminus to regulate its trafficking and processing. Although a number of studies have characterized the interaction of APP with these proteins, the exact mechanism by which these proteins exert their effects on APP metabolism remains unclear. We found that coexpression of XIIa with APP retarded its maturation, prolonged its half life, and inhibited the production of its soluble fragments recovered in conditioned medium of transiently transfected HEK293 cells. These effects were impaired by both point mutations in the NPTY motif of APP and deletions of its carboxy-tail. We determined that overexpression of mDabl protein increases the levels of cellular and secreted APP, and leads to elevated A β production. APP mutations abolished the effects of mDabl on APP processing. The study of proteins that interact with APP could be a valuable tool in our understanding of cellular and molecular mechanisms of APP processing, and developing strategies for the prevention or retardation of amyloid plaque formation.

This work was funded by the American Health Assistance Foundation, European grants GLK3-CT-2001-02362 and LSHM-CT-2003-503330, the General Secretariat for Research and Technology (PENED), the University of Athens (Kapodistrias) and the Ministry of Education (Pythagoras).

**ΟΙ ΧΕΙΜΑΡΡΟΙ ΚΡΑΥΣΙΔΩΝΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΥΡΟΣ ΩΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΙ
ΔΙΑΔΡΟΜΟΙ ΓΙΑ ΤΗ ΧΛΩΡΙΔΑ ΣΤΗΝ ΠΟΛΗ ΤΟΥ ΒΟΛΟΥ****Παρχαρίδου Π., Κρίγκας Ν., Κοκκίνη Σ.**

Εργαστήριο Συστηματικής Βοτανικής & Φυτογεωγραφίας, Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη

Στην παρούσα μελέτη καταγράφηκε η χλωρίδα των δύο χειμάρρων που διασχίζουν το πολεοδομικό συγκρότημα του Βόλου. Επιλέχθηκαν τμήματα περίπου ίσης έκτασης (Κραυσίδωνα: 18, Άναυρος: 8) από την εκβολή έως τους πρόποδες του Πηλίου («φυσικότερο» τμήμα), ώστε να διαπιστωθεί κατά πόσο αυτοί λειτουργούν ως βιολογικοί διάδρομοι για τους φυτικούς οργανισμούς.

Συνολικά, καταγράφηκαν 416 αυτοφυή taxa του αθροίσματος των Σπερματοφύτων, ενώ δεν βρέθηκαν Πτεριδόφυτα. Και στους δύο χειμάρρους απαντά το ενδημικό είδος *Centaurea pelia*. Τόσο στη συνολική χλωρίδα, όσο και στον κάθε χειμάρρο κυριαρχούν τα μεσογειακά αυτόχθονα taxa και ως προς τις βιοτικές μορφές, τα θερόφυτα και τα ημικρυπτόφυτα. Συνολικά, καταγράφηκαν 76 αλλόχθονα taxa (18,2%), κυρίως αμερικανικής και ασιατικής προέλευσης.

Μεταξύ των δύο χειμάρρων 230 taxa είναι κοινά. Από τα 366 taxa της χλωρίδας του Κραυσίδωνα, το 37,2% δεν απαντά κατά μήκος του Αναύρου, ενώ από τα 280 taxa της χλωρίδας του Αναύρου το 17,9% δεν απαντά στον Κραυσίδωνα. Οι παρατηρούμενες μεταβολές από την εκβολή προς τους πρόποδες του Πηλίου (Κραυσίδωνα: τάση μείωσης της συμμετοχής των θεροφύτων, Άναυρος: τάση μείωσης της συμμετοχής των αλλοχθόνων) φαίνεται να σχετίζονται με το βαθμό ανθρώπινης παρέμβασης στον κάθε χειμάρρο (εγκιβωτισμός της κοίτης).

Η ανάλυση της κατανομής των φυτικών taxa στα τμήματα των χειμάρρων έδειξε ότι ο Άναυρος είναι συγκριτικά περισσότερο κατακερματισμένος. Αν και η χλωριδική σύνθεση απομακρυσμένων τμημάτων (π.χ. εκβολή - πρόποδες Πηλίου) εμφανίζει έντονες διαφορές, στα όμορα τμήματα με παρόμοια μορφολογία κοίτης οι δύο χειμάρροι λειτουργούν ως βιολογικοί διάδρομοι για τα αυτοφυή φυτά.

THE KRAFSIDON AND ANAVROS STREAMS AS WILD FLORA CORRIDORS IN THE CITY OF VOLOS

Parcharidou P., Krigas N., Kokkini S.

Laboratory of Systematic Botany & Phytogeography, Department of Botany,
School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece

In the present study, the flora of the two streams, Krafsidon and Anavros that run through the urban area of the city of Volos (C Greece) has been recorded. In order to investigate whether the streams function as corridors for plant organisms sections of about the same size were selected (Krafsidon: 18, Anavros: 8) from the mouth to the foothill of Mt Pelion (section with the most "natural" appearance).

In total, 416 spontaneous plant taxa have been recorded all belonging to the group of Spermatophyta, whereas taxa belonging to the group of Pteridophyta were not found. Along both streams the endemic species *Centaurea pelia* has been encountered. Both in total as well as in the flora of each stream indigenous Mediterranean plant taxa dominate and with respect to life-forms, therophytes and hemicreptophytes. In the total area studied 76 alien taxa were recorded (18.2%) mostly of American and Asiatic origin.

The floras of the two streams have 230 taxa in common. Among the 366 taxa of the flora of Krafsidon 37.2% were not found along Anavros, whereas among the 280 taxa of the flora of Anavros 17.9% were not encountered along Krafsidon. The recorded differences from the mouth to the foothill of Mt Pelion [Krafsidon: decrease of therophytes (%), Anavros: decrease of aliens (%)] seem to be related to the human impact along each stream (built-up streambed).

The study of the distribution of the plant taxa in the sections of each stream showed that the Anavros stream is comparatively more fragmented than that of Krafsidon. Although the floristic composition in distant sections (such as mouth and foothill of Mt Pelion) shows remarkable differences, in adjacent sections with similar streambed morphology the two streams function as corridors for wild plants.

**ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΥΡΙΩΝ ΚΑΙ ΑΝΕΞΑΡΤΗΤΩΝ ΣΥΝΙΣΤΩΣΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ
ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ****Παυλίδης Π.², Σαλίχος Λ.¹, Μπουγιούκος Κ.³, Σούρδης Ι.¹**¹Τμήμα Γεωπ. Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. ²Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης. ³Center for Bioinformatics, University of Pennsylvania

Η τεχνολογία των μικροσυστοιχιών DNA έχει ανοίξει έναν ευρύ τομέα έρευνας, δεδομένου ότι πάρα πολλά δεδομένα γονιδιακής έκφρασης είναι διαθέσιμα για διάφορους τύπους αναλύσεων. Λόγω του μεγάλου αριθμού γονιδίων και της πολυπλοκότητας των βιολογικών διαδικασιών, η ομαδοποίηση των γονιδίων είναι μια χρήσιμη διερευνητική τεχνική για την ανάλυση των δεδομένων αυτών. Έχουν προταθεί πολλοί αλγόριθμοι ομαδοποίησης για την ανίχνευση γονιδίων με συσχετισμένες γονιδιακές εκφράσεις. Η Ανάλυση Κυρίων Συνιστωσών και η Ανάλυση Ανεξαρτήτων Συνιστωσών μπορεί να είναι κατάλληλες μέθοδοι για τον εντοπισμό αυτών των ομάδων γονιδίων. Μελετάμε την αποτελεσματικότητα της Ανάλυσης Κυρίων Συνιστωσών και της Ανάλυσης Ανεξαρτήτων Συνιστωσών στο προσδιορισμό της δομής των γονιδιακών ομαδοποιήσεων. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιώντας δεδομένα έκφρασης γονιδίων από προσομοίωση, συγκρίνουμε την ποιότητα των ομαδοποιήσεων που προκύπτουν από τις μεθόδους αυτές. Η προσομοίωση γίνεται με την χρήση θεωρητικών προτύπων γονιδιακής έκφρασης που έχουν προταθεί αλλά και με πρότυπα προσομοίωσης απλών γονιδιακών δικτύων που αναπτύσσουμε.

PRINCIPAL AND INDEPENDENT COMPONENT ANALYSIS OF GENE EXPRESSION DATA

Pavlidis P.², Salihos L.¹, Bouyoukos K.³, Sourdis J.¹

¹Department of Agr. Biotechnology, Agricultural University of Athens ²Department of
Biology University of Crete ³Center for Bioinformatics, University of Pennsylvania

The DNA microarray technology has opened up a wide area of research as a vast amount of gene expression data has become available for various types of analysis. Because of the large number of genes and the complexity of biological networks, clustering is a useful exploratory technique for analysis of gene expression data. Many clustering algorithms have been proposed to detect genes with correlated expression patterns. Principal Component Analysis and Independent Component Analysis can be valuable tools for this detection. We study the effectiveness of Principal Components Analysis and Independent Component Analysis in capturing cluster structure. Specifically, using simulated gene expression data, we compared the quality of clusters obtained from these methods. For this reason we apply proposed theoretical models of gene regulation and models for the simulation of simple gene networks we have developed.

**ΚΑΣΠΕΑΣΗ-3 ΣΤΟΝ ΙΣΧΑΙΜΙΚΟ ΕΓΚΕΦΑΛΟ, ΕΠΙΔΡΑΣΗ
ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ****Περούλης Ν., Κουρουνάκη Α.¹, Παραμυθιώτης Δ.², Κοτζαμπάση Κ.²
Γιάγκου Μ., Χατζηπέτρου Λ.**

Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών επιστημών. ¹Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας, Τμήμα Φαρμακευτικής Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών. ²Τομέας Χειρουργικής, Τμήμα Ιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Σκοπός της συγκεκριμένης έρευνας είναι η συσχέτιση των NSAIDs φαρμάκων (όπου η αντιφλεγμονώδης και υπολιπιδαιμική δράση τους πιθανά να έχει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της αθηρωμάτωσης), με την ελάττωση των συνεπειών της ισχαιμίας. Η αγωγή με NSAIDs ελαττώνει τη βλάβη του εγκεφάλου μετά από ισχαιμία που πιθανά προκαλείται από στένωση των αγγείων λόγω αθηρωματικών πλακών. Σε αρουραίους, με ή χωρίς αγωγή με αντιφλεγμονώδες φάρμακο (παράγωγο της Δικλοφενάκης), που υπέστησαν ισχαιμικό πλήγμα, ανιχνεύθηκε η ενεργός μορφή του ενζύμου της κασπεάσης-3 τόσο σε τομές εγκεφάλου με ανοσοανίχνευση όσο και σε εκχυλίσματα εγκεφάλου, φωτομετρικά. Η κασπεάση-3 είναι η τελική κασπεάση στο μονοπάτι του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (απόπτωση). Τα αποτελέσματα έδειξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα της ενεργού μορφής της κασπεάσης-3 στους εγκεφάλους των ισχαιμικών αρουραίων και μάλιστα σε συγκεκριμένες περιοχές του εγκεφάλου (κυρίως τον υποθάλαμο, τον ιππόκαμπο και την παρεγκεφαλίδα), σε σχέση με τους εγκεφάλους των φυσιολογικών πειραματόζων. Επίσης, στατιστικά σημαντικά ποσοστά μείωσης εμφανίζονται στους εγκεφάλους των ισχαιμικών αρουραίων στα οποία έγινε αγωγή με φάρμακο σε σχέση με αυτά στα οποία δεν έγινε αγωγή, κατά το χρονικό διάστημα των 3 ημερών μετά την επαγωγή της ισχαιμίας.

NSAIDs: Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα

CASPASE-3 IN THE ISCHEMIC BRAIN, INFLUENCE OF ANTI-INFLAMMATORY DRUGS

**Peroulis N., Kourounakis A.¹, Paramithiotis D.², Kotzampasi K.²,
Yiangou M. & L. Hadjipetrou**

Dept of Genetics, Develop. & Molecular Biology, School of Biology, Faculty of Sciences.
¹Department of Pharmaceutical Chemistry, School of Pharmacy, National & Kapodistrian
University of Athens ²Department of Surgery, School of Medicine, Aristotelian University
of Thessaloniki

Aim of this study is the correlation of NSAID drugs (the anti-inflammatory and hypolipidemic activity of which may play a significant role in the process of atherosclerosis), with the prevention of the consequences of ischemia. Treatment with NSAIDs reduces brain damage after ischemia that may be induced by stenosis of vessels due to atherosclerotic plaques. In drug (a derivative of Diclofenac) treated or not treated rats, undergoing ischemic shock activated caspase-3 was detected in rat brain slices immunohistochemically and in brain homogenates colorimetrically. Caspase-3 activation is thought to be the key committed step of programmed cell death (apoptosis). Results showed statistically significant differences in the levels of activated caspase-3 in the rat ischemic brain and in particular in specific regions of the brain (mainly the hippocampus, hypothalamus and parencephalitis) compared to the brains of normal animals. Results also demonstrated statistically significant lower levels of activated caspase-3 in the brain of treated animals compared to those of not treated, by 3 days post ischemia induction.

NSAIDs: non-steroidal anti-inflammatory drugs

**ΟΙ ΠΟΛΥΑΜΙΝΕΣ ΑΝΑΣΤΕΛΛΟΥΝ ΤΗΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ
ΡΙΒΟΣΩΜΑΤΩΝ Μ' ΕΝΑ ΜΑΚΡΟΛΙΔΙΟ, ΤΗΝ ΣΠΙΡΑΜΥΚΙΝΗ****Πετρόπουλος Α. και Δ.Λ. Καλπαξής**

Εργ. Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500 - Πάτρα

Η σπιραμυκίνη, ένα αντιπροσωπευτικό αντιβιοτικό της οικογένειας των μακρολιδίων με δεκα-εξαμελή δακτύλιο λακτόνης, δρα κατά τα αρχικά στάδια της πρωτεϊνικής σύνθεσης, παρεμποδίζοντας την έξοδο της πολυπεπτιδικής αλυσίδας μέσω δέσμευσης στη μεγάλη ριβοσωματική υπομονάδα. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η σπιραμυκίνη μπορεί επίσης να αναστείλει το σχηματισμό του πεπτιδικού δεσμού, μέσω απ' ευθείας επίδρασης στην ενεργότητα της πεπτιδυλο-τρανσφεράσης. Συγκεκριμένα, η σπιραμυκίνη (I) αλληλεπιδρά ταχέως με το εναρκτήριο σύμπλοκο (C), AcPhe-tRNA^{poly(U)} 70S ριβόσωμα, και σχηματίζει το ενδιάμεσο C^I που στη συνέχεια ισομερίζεται βραδέως σ' ένα σταθερότερο σύμπλοκο, το C*^I. Στην παρούσα μελέτη, αναλύουμε την αλληλεπίδραση της σπιραμυκίνης με το σύμπλοκο C σε ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει πολυαμίνη (6 mM Mg²⁺, 100 mM NH₄⁺, 100 μM σπερμίνη). Δείχνουμε ότι η παρουσία σπερμίνης έχει ευεργετική δράση στην αρχική δέσμευση της σπιραμυκίνης στο ριβόσωμα, περιορίζοντας το εντροπικό κόστος της σύζευξης των δύο μορίων (σχηματισμός του C^I). Όμως, επηρεάζει αρνητικά, και μάλιστα σε υπερβατικό βαθμό, το αργό στάδιο ισομερισμού που διευθετεί τη σπιραμυκίνη στην τελική της θέση στο ριβόσωμα (σχηματισμός του C*^I). Δεδομένα σταυρο-σύνδεσης συμφωνούν απόλυτα με τα κινητικά μας αποτελέσματα και υποστηρίζουν ότι η σπερμίνη προσδεδεσμένη πλησίον της θέσης δέσμευσης του αντιβιοτικού, ρυθμίζει την αλληλεπίδραση του φαρμάκου με το ριβόσωμα. Από άποψη φαρμακευτικών εφαρμογών, η παρούσα μελέτη εισηγείται ότι, κάθε φορά που ένα αντιβιοτικό σχεδιάζεται με μοριακό στόχο το ριβόσωμα, η επίδραση του ιοντικού περιβάλλοντος πρέπει να λαμβάνεται σοβαρά υπόψη.

Η εργασία έχει επιχορηγηθεί από το Υπουργείο Υγείας (Ε/108/ΔΥ2β/178) και την Επιτροπή Ερευνών του Παν/μίου Πατρών (Πρόγραμμα: Κ. Καραθεοδωρή)

POLYAMINES INHIBIT THE INTERACTION OF RIBOSOMES WITH A MICROLIDE ANTIBIOTIC, SPIRAMYCIN

Petropoulos A. & D.L. Kalpaxis

Laboratory of Biochemistry, School of Medicine, University of Patras, 26500-Patras

Spiramycin, a representative of the 16-membered lactone ring macrolides, acts during the early stages of protein synthesis by binding to the large ribosomal subunit and blocking the nascent polypeptide exit tunnel. In the course of kinetic studies, recent analyses have indicated that spiramycin can also inhibit peptide bond formation by directly reducing the peptidyl transferase activity. Namely, spiramycin (I) has been found to react rapidly with the initiation ribosomal complex, AcPhe-tRNA poly(U) 70S ribosome (C), to form the encounter complex CI which is then isomerized slowly to a more tight complex, C*I. In the present study, we analyze the interaction of spiramycin with complex C under polyamine buffer conditions (6 mM Mg²⁺, 100 mM NH₄⁺, 100 μM spermine). We demonstrate that spermine exerts a positive effect by lowering the entropic cost of the initial spiramycin binding (formation of CI), but exhibits a negative, more pronounced, effect on the subsequent slow isomerization step which accommodates spiramycin at its final position on complex C (formation of C*I). Cross-linking data correlate well with our kinetic results and suggest that spermine by anchoring in close proximity to the antibiotic binding pocket, modulates the interaction of this drug with ribosomes. From the standpoint of pharmaceutical applications, the present work postulates that whenever a drug is designed to target the ribosome, the influence of the ionic environment should be taken into account.

This work was supported by a grant (E/I08/DY2b/I78) from the Ministry of Health of Greece, and by a grant from the Research Committee of University of Patras (Programme K. Karatheodoris)

ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΤΑΘΕΡΩΝ ΙΣΟΤΟΠΩΝ C, N ΚΑΙ S ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΚΑΙ ΖΩΪΚΩΝ ΥΠΟΜΕΙΜΑΤΩΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΡΩΤΟΕΛΛΑΔΙΚΗ ΘΕΣΗ ΤΗΣ ΠΕΡΑΧΩΡΑΣ ΚΟΡΙΝΘΟΥ ΚΑΙ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΥΣΤΕΡΟΕΛΛΑΔΙΚΗ ΘΕΣΗ ΤΗΣ ΑΓΙΑΣ ΤΡΙΑΔΑΣ ΗΛΕΙΑΣ**Πετρουσά Ε.Ι.¹, Richards Μ.Ρ.^{2,3} και Σ.Κ. Μανώλης¹**¹Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών²Dept of Archaeological Sciences, University of Bradford, Bradford, BD7 1DP, U.K.³Dept of Human Evolution., Max Planck Instit. for Evol. Anthropol., Leipzig, Germanyepetr@biol.uoa.gr, smanol@biol.uoa.gr, M.P.Richards@bradford.ac.uk

Σε μικρή απόσταση από την Πρωτοελλαδική θέση στη Λίμνη Βουλιαγμένης στην Περαχώρα υπάρχει ένα σπήλαιο που θεωρείται ότι χρησιμοποιήθηκε αποκλειστικά ως οστεοφυλάκιο από τους κατοίκους της περιοχής. Το οστεοφυλάκιο έχει τοποθετηθεί χρονολογικά στην Πρώιμη Ελλαδική ΙΙ. Η ανάλυση των σταθερών ισotόπων Άνθρακα, Αζώτου και Θείου, σε ανθρώπινα και ζωϊκα οστά, έγινε με σκοπό τον χαρακτηρισμό των διατροφικών συνηθειών της θέσης συνολικά, την διερεύνηση διαφορών μεταξύ φύλλων ή κοινωνικών τάξεων καθώς και την πιθανότητα μετανάστευσης στην περιοχή.

Παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη απουσία διατροφικών διαφορών μεταξύ των ατόμων της Περαχώρας δείχνοντας ότι όλα τα άτομα είχαν τις ίδιες δυνατότητες πρόσβασης στις πηγές τροφών. Η σύγκριση με την Υστεροελλαδική θέση της Αγίας Τριάδας δεν έδωσε σημαντικές διαφορές, ώστε να φανούν διατροφικές διαφορές ανάλογες των κοινωνικών της Εποχής του Χαλκού. Τα ισotοπικά δεδομένα δίνουν πρόσθετες πληροφορίες για την συμπλήρωση της καθημερινής εικόνας για την Εποχή Χαλκού.

Η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από την Ε.Ε. (Marie Curie Development Host Fellowships)

**STABLE C, N AND S ISOTOPE ANALYSIS OF HUMAN AND FAUNAL
REMAINS FROM THE EARLY HELLADIC SITE OF PERACHORA,
KORINTH AND COMPARISON WITH THE LATE HELLADIC SITE OF
AGHIA TRIADA, ILIDA, GREECE**

Petroutsas E.I.¹, Richards M.P.^{2,3} & S.K. Manolis¹

¹Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens

²Department of Archaeological Sciences, University of Bradford, Bradford, BD7 1DP, U.K.

³Department of Human Evolution, Max Planck Institute for Evolutionary Anthropology,
Leipzig, Germany

epetr@biol.uoa.gr, smanol@biol.uoa.gr, M.P.Richards@bradford.ac.uk

A short distance away from the Early Helladic settlement at Limni Vouliagmenis, at Perachora is a cave, with a form of a pit, that was used by the settlement exclusively as an ossuary. The ossuary is dated and belongs to the Early Helladic II period. Stable Carbon, Nitrogen and Sulphur analysis, from human and animal bones was conducted with the purpose of characterizing the diet of the burial community as a whole, to analyse dietary patterns within sub-groups determined by sex and age and to investigate any migration within the group. A notable absence of dietary differentiation was noted between individuals at Perachora indicating that sex-based or social status classification did not significantly influence an individual's access to the various food sources available to the community. The comparison with the Late Helladic site of Aghia Triada showed no important differences, indicating dietary changes between the two Bronze Age Periods. Isotopic data are of use in adding to the picture of daily life and social structure in Bronze Age in Greece.

This work was supported by a grant from the E.U. (Marie Curie Development Host Fellowships) to E.I. Petroutsas

**ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΠΟΥ ΚΑΤΕΥΘΥΝΟΝΤΑΙ ΣΕ
ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑ ΚΑΙ ΧΛΩΡΟΠΛΑΣΤΕΣ ΑΠΟ ΤΗΝ
ΑΚΟΛΟΥΘΙΑ ΤΟΥΣ ΚΑΙ ΜΟΝΟ****Πετσαλάκη Ε.Ι., Μπάγκος Π.Γ., Λίτου Ζ.Ι. και Χαμόδρακας Σ.Ι.**Τομέας Βιολ. Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 157 84, Αθήνα

Ο αριθμός των πρωτεϊνών που προσδιορίζεται η αλληλουχία τους και κατατίθενται στις δημόσιες βάσεις δεδομένων αυξάνεται διαρκώς, χωρίς να υπάρχει αποτελεσματικός τρόπος προσδιορισμού της λειτουργίας τους με αντίστοιχο ρυθμό. Ανάλογα με τη θέση τους στο κύτταρο, οι πρωτεΐνες επιτελούν κάποια συγκεκριμένη λειτουργία. Επομένως, είναι σημαντική η δημιουργία μεθόδων πρόγνωσης της υποκυτταρικής θέσης. Οι πρωτεΐνες που παράγονται στο κυτταρόπλασμα και κατευθύνονται σε συγκεκριμένα οργανίδια (χλωροπλάστες και μιτοχόνδρια) έχουν στο αμινοτελικό τους άκρο ένα μικρό πεπτίδιο-οδηγητή, μήκους περίπου 20-70 καταλοίπων που περιέχει την πληροφορία για την πορεία της πρωτεΐνης. Αφού εισέλθει το πεπτίδιο στο οργανίδιο, αφαιρείται το πεπτίδιο-οδηγητής με τη βοήθεια πεπτιδάσης, που κόβει σε συγκεκριμένο πάντα σημείο. Μελετήσαμε τα χαρακτηριστικά των πεπτιδίων-οδηγητών των πρωτεϊνών που κατευθύνονται στους χλωροπλάστες και τα μιτοχόνδρια (cTP και mTP αντίστοιχα) και στη συνέχεια απομονώσαμε από την βάση δεδομένων SwissProt 43.0 όλες τις πρωτεΐνες που είχαν σίγουρα προσδιορισμένο πεπτίδιο-οδηγητή. Απομονώσαμε ένα σύνολο 352 πρωτεϊνών (117 χλωροπλαστικές και 235 μιτοχονδριακές), το οποίο χρησιμοποιήθηκε για την εκπαίδευση ενός νευρωνικού δικτύου, αλλά και για την κατασκευή profile Hidden Markov Models. Στόχος μας είναι η δημιουργία μίας αποτελεσματικής μεθόδου για την εύρεση πεπτιδίων-οδηγητών για χλωροπλάστες και μιτοχόνδρια (cTP και mTP) με βάση την ακολουθία τους και μόνο, με απώτερο στόχο την κατασκευή μιας διαδικτυακής εφαρμογής για την πρόγνωση της υποκυτταρικής θέσης των πρωτεϊνών από την ακολουθία τους και μόνο.

PREDICTION OF MITOCHONDRIAL AND CHLOROPLAST PROTEIN TARGETING FROM SEQUENCE ALONE

Petsalakis E.I., Bagos P.G., Litou Z.I. & Hamodrakas S.I.

Dept of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University
of Athens, Panepistimiopolis, 15784 Athens - Greece

The rate of the number of proteins that are being sequenced and deposited in public databases is rapidly increasing, whereas there is still no effective way to determine their function at the same rate. The subcellular location of a protein is indicative of its function, so it is crucial to create computational methods to predict protein subcellular location. Proteins, which are synthesized into the cytosol and are further sorted to a certain subcellular compartment (chloroplasts and mitochondria), have an N-terminal targeting sequence of approximately 20-70 amino acids (cTP and mTP respectively), containing the information for the translocation of the protein. During or after the protein's entry into the organelle, the targeting sequence is removed by a proteolytic enzyme, which cuts the protein at a specific cleavage site. After examining the properties of targeting peptides (cTPs and mTPs), we extracted all proteins having a definite targeting peptide from the public database SwissProt 43.0, and created a set of 352 proteins, 117 destined to chloroplasts and 235 to mitochondria. These sets were used to train a neural network and to create profile Hidden Markov Models. The objective is to create an effective method to identify targeting peptides (mTP or cTP) from sequence information alone, thus creating a web application for the prediction of protein subcellular location.

**Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΩΝ ΜΟΝΤΕΛΩΝ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗΣ ΣΤΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ
ΟΙΚΟΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ (ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΕΣ – ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ -
ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ). Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΟΥ ΠΑΓΑΣΗΤΙΚΟΥ ΚΟΛΠΟΥ****Πετυχάκης Γ.¹, Τριανταφύλλου Γ.¹ και Α. Θεοδώρου²**

¹Ελληνικό Κέντρο Θαλασσίων Ερευνών, Ινστιτούτο Ωκεανογραφίας (Παράρτημα Κρήτης),
Τ.Θ. 2214, Iraklio, 71003 Ηράκλειο, Κρήτης, τηλ. +281 0337753, fax +281 0337822,
E-mail: pet@imbc.gr

²Τμ. Γεωπονίας Ζωικής Παραγωγής & Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
Φυτόκο, Ν. Ιωνία, Μαγνησία Τ.Κ. 38446, τηλ. 2421 0 93052, fax 2421 0 93054

Στην εργασία αυτή παρουσιάζονται οι δυνατότητες των ολοκληρωμένων μοντέλων προσομοίωσης και η συμβολή τους στη προσπάθεια διαχείρισης ευαίσθητων οικοσυστημάτων. Το οικοσύστημα του Παγασητικού κόλπου επηρεάζεται άμεσα τόσο από τις φυσικές διεργασίες όσο και από τις ανθρωπογενείς παρεμβάσεις λόγω του ημίκλειστου χαρακτήρα και του μικρού σχετικά βάθους. Οι μικρής έντασης άνεμοι που πνέουν στην περιοχή σε συνδυασμό με το στενό δίαυλο του Τρίκκερι περιορίζουν την ανανέωση των υδάτων ενώ παράλληλα η ανάπτυξη της περιοχής του Βόλου κατά την δεκαετία του 60 με κύρια χαρακτηριστικά την πληθυσμιακή αύξηση, την βιομηχανοποίηση καθώς και την εντατικοποίηση της γεωργίας είχε ως αποτέλεσμα την επιβάρυνση του οικοσυστήματος του Παγασητικού ο οποίος υπήρξε και ο κύριος αποδέκτης μεγάλων ποσοτήτων αστικών, βιομηχανικών και γεωργικών λυμάτων. Τα παραπάνω συντέλεσαν στην ανάπτυξη συνθηκών ευτροφισμού και την παρουσία ζελατινωδών αφρών κατά το παρελθόν, δημιουργώντας σημαντικά προβλήματα σε κάποιες οικονομικές ομάδες της ευρύτερης περιοχής.

Λόγω της υψηλής αισθητικής και οικονομικής αξία του κόλπου γίνεται επιτακτική η ανάγκη ανάπτυξης ενός ολοκληρωμένου διαχειριστικού σχεδίου το οποίο θα εξασφαλίζει την προστασία και ανάδειξη του συστήματος. Βασική όμως προϋπόθεση για την επίτευξη του σκοπού αυτού αποτελεί η κατανόηση των σημαντικών διεργασιών καθώς επίσης και ο τρόπος λειτουργίας όπως αυτός καθορίζεται από τη δυναμική του οικοσυστήματος.

Για το σκοπό αυτό εφαρμόστηκε ένα τρισδιάστατο πολύπλοκο μοντέλο προσομοίωσης φυσικών και βιολογικών παραμέτρων τα αποτελέσματα του οποίου συμβάλουν ουσιαστικά στη κατανόηση του συγκεκριμένου συστήματος και ιδιαίτερα του φαινομένου απότομης φυτοπλαγκτονικής αύξησης.

Επιπρόσθετα από τη παρουσίαση της λειτουργίας του οικοσυστήματος, στη εργασία αυτή γίνεται διερεύνηση των διαχειριστικών δυνατοτήτων του συγκεκριμένου εργαλείου καθορίζοντας παράλληλα τους μελλοντικούς στόχους.

**THE CONTRIBUTION OF SIMULATION MODELS IN THE ECOSYSTEM
MANAGEMENT (CAPABILITIES – LIMITATIONS – PERSPECTIVES)
THE CASE OF PAGASITIKOS GULF**

Petihakis G.¹, Triantafyllou G.¹ & A. Theodorou²

¹Hellenic Centre for Marine Research, Institute of Oceanography (Branch of Crete),
P.O.Box 2214, Iraklio, 71003 Crete, Greece, tel. +30 281 0337753, fax +30 281 0337822,
E-mail: pet@imbc.gr

²Department of Agriculture and Water Environment, University of Thessaly, Fytoko, Nea
Ionia Magnisias (38446), Greece, tel. +30 421 93052, fax +30 421 93054

In this work the capabilities of integrated simulation models and their contribution towards management of environmentally sensitive ecosystems are presented. The ecosystem of Pagasitikos gulf is influenced by both physical processes as well as anthropogenic processes due to its semi-enclosed and shallow depth characteristics. The relatively weak winds blowing in the area in conjunction with the narrow communication channel of Trikkeri, limit water renewal, while the development of the wider area of Volos during the 60's with dominant characteristics the population increase, the industrialization and the intensification of farming, resulted in the degradation of the gulf ecosystem which received significant quantities of civil, industrial and agricultural sewage runoffs. The above contributed in the development of eutrophic conditions and in the appearance of gelatinous masses in the past, causing significant problems to some groups in the wider area. Due to the high aesthetic and economic value of the gulf there is an imperative need for the development of an integrated management plan, which will ensure the protection and the prominence of the system. An essential prerequisite is the understanding of the key processes and the mode of functioning as it is determined by the ecosystem dynamics. For this purpose a complex 3D model has been applied with simulation results essentially contributing towards the understanding of the particular system with emphasis in the phenomenon of rapid phytoplanktonic bloom. Additionally to the above, the management capabilities of the simulation tool are explored while the future aims are defined.

**ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΣΧΕΤΙΚΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΑΠΟΠΤΩΣΗ
ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ**

Πορίχη Ο.¹, Τσερκέζογλου Α.¹, Τσιτσιλώνη Ο.², Μαργαρίτης Λ.Χ.²,
Πανοτοπούλου Ε.¹

¹ΠΑΘΝΑ «Ο ΑΓ. ΣΑΒΒΑΣ», ²ΕΚΠΑ Τμήμα Βιολογίας

Η ισορροπία μεταξύ κυτταρικής αύξησης και κυτταρικού θανάτου στο ενδομήτριο των γυναικών είναι ορμονοεξαρτώμενη και ελέγχεται από παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την απόπτωση. Η απόπτωση είναι ένας αυστηρά ρυθμιζόμενος μηχανισμός αυτοκαταστροφής κατεστραμμένων, γηρασμένων ή άχρηστων κυττάρων. Τα προϊόντα των αποπτωτικών γονιδίων ρυθμίζουν τη διαδικασία αυτή μέσω της δράσης διαφόρων προ και αντιαποπτωτικών παραγόντων. Μεταξύ των πλέον σημαντικών από αυτούς είναι η πρωτεΐνη p53 και οι πρωτεΐνες της οικογένειας Bcl-x. Σε αυτή τη μελέτη επιχειρήθηκε η ανάλυση και η συσχέτιση της διαφορικής έκφρασης γονιδίων ρυθμιστών της απόπτωσης σε γυναίκες με υπερπλασία και καρκίνο του ενδομητρίου. Συνολικά ελέγχθηκαν 40 βιοψικά δείγματα γυναικών εκ των οποίων 10 ήταν φυσιολογικές περιπτώσεις, 20 καλοήθεις νεοπλασίες και 10 αδενοκαρκινώματα. Ο έλεγχος πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο RT-PCR και η έκφραση των γονιδίων με τη μέθοδο mPCR. Στις 10 περιπτώσεις φυσιολογικών ενδομητρίων το γονίδιο p53 εμφανίστηκε στο 50 % των περιπτώσεων, το bcl-2 στο 25%, το bag στο 75 %, το bad στο 12,5%, το bax σε καμία περίπτωση, το bim στο 12,5%, ενώ δεν υπήρχε καμία περίπτωση που να μην ανιχνεύεται κανένα γονίδιο. Στις 20 συνολικά περιπτώσεις καλοήθων νεοπλασιών, το γονίδιο p53 εμφανίστηκε στο 50 % των περιπτώσεων, το bcl-2 στο 16,5%, το bag στο 58 %, το bad στο 4,2%, το bax στο 33%, το bim στο 16,5%, ενώ στο 16,5% των περιπτώσεων δεν ανιχνεύτηκε κανένα γονίδιο. Στις 10 περιπτώσεις αδενοκαρκινωμάτων, το γονίδιο p53 εμφανίστηκε στο 50 % των περιπτώσεων, το bcl-2 στο 33%, το bag στο 50 %, το bad σε καμία περίπτωση, το bax στο 50%, το bim σε καμία περίπτωση, ενώ στο 33% των περιπτώσεων δεν ανιχνεύτηκε κανένα γονίδιο. Τα αποτελέσματα αυτά δεν παρέχουν στατιστικά σημαντικές πληροφορίες (λόγω του μικρού αριθμού δειγμάτων) είναι όμως ενδεικτικά της διαταραχής η οποία παρουσιάζεται στα ποσοστά έκφρασης των αποπτωτικών γονιδίων μεταξύ φυσιολογικών και παθολογικών περιπτώσεων.

THE DIFFERENTIAL EXPRESSION OF APOPTOTIC GENES IN ENDOMETRIAL CANCER

Porichi O.¹, Tserkezoglou A.¹, Tsitsiloni O.², Margaritis L.², Panotopoulou E.¹

¹“Saint Savvas” Hospital, ²University of Athens, Department of Biology

The balance between cellular proliferation and cell death in endometrium is a hormone-dependent process which is controlled by factors, affected the cellular proliferation and apoptosis. Apoptosis is a regulating mechanism of self-suicide of damaged, aged or unuseful cells. The procedures of apoptotic genes regulate this process by the action of pro and antiapoptotic agents. Among the most important proteins are p53 and Bcl-x family proteins. In this study we analyzed the relation and the differential expression of these apoptotic genes in women with hyperplasia and endometrial cancer. In a total of 40 biopses, 10 out of 40 were normal cases, 20 out of 40 were benign neoplasies and 10 out of 40 were adenocarcinomas. All of them were analyzed by RT-PCR and mPCR. In the 10 cases of the normal endometrium p53 was expressed in 50% of them, bcl-2 in 25%, bag in 75 %, bad in 12,5%, bax in no one, bim in 12,5%, while were no cases without any of these genes. In the 20 cases of benign neoplasies p53 was found in 50 % of them, bcl-2 in 16,5%, bag in 58 %, bad in 4,2%, bax in 33%, bim in 16,5%, while in the 16,5% of the cases wasn't detected expression of these genes. In the 10 cases of adenocarcinomas p53 was expressed in 50% of them, bcl-2 in 33%, bag in 50 %, bad in no one, bax in 50%, bim in no one, while in the 33% of the cases wasn't detected expression of these genes. These results aren't statistically important (due to the small number of the sample) but it is an incidence of the disorder, which is illustrated by the percentage of the pro and antiapoptotic genes in normal and pathological cases.

ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΠΟΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΗΣ J / ΚΛΑΣΤΕΡΙΝΗΣ (CLU) ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΠΑΓΩΓΗ ΣΥΝΘΗΚΩΝ ΥΠΟΞΙΑΣ ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ**Πούλιος Ε., Τρουγκάκος Π.Ι. και Ε.Σ. Γκόνος**

Εργαστήριο Μοριακής και Κυτταρικής Γήρανσης, Ινστιτούτο Βιολογικών Ερευνών και Βιοτεχνολογίας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, Βασ. Κωνσταντίνου 48, 11635, Αθήνα.

Η Απολιποποπρωτεΐνη J / Κλαστερίνη (CLU) είναι μια συντηρημένη εκκρινόμενη γλυκοπρωτεΐνη που εκφράζεται σε πολλούς τύπους κυττάρων και βρίσκεται σχεδόν σε όλα τα ανθρώπινα υγρά. Συμμετέχει σε διάφορες φυσιολογικές λειτουργίες, ενώ τα επίπεδά της βρέθηκαν αυξημένα τόσο σε γηρασμένα, όσο και σε καρκινικά κύτταρα. Δεδομένου ότι διάφοροι παράγοντες stress επάγουν την έκφραση της CLU, μελετήσαμε την επαγωγή της σε ανθρώπινους ινοβλάστες, μετά από την επίδραση ενός παράγοντα μιμητικού της υποξίας, του CoCl_2 , καθώς και μετά από επίδραση υποξίας (1.5% O_2). Συγκεκριμένα, μετά από επίδραση CoCl_2 σε ινοβλάστες WI38 αθανατοποιημένους με το T-αντιγόνο του ιού SV40 (WI38/T), ανιχνεύτηκε επαγωγή του HIF-1 α , καθώς και 2 γονιδίων στόχων του (VEGF και EPO), σε πρωτεϊνικό επίπεδο. Παράλληλα, ανιχνεύτηκαν αυξημένα επίπεδα της CLU και του Bcl-2. Σε φυσιολογικούς ινοβλάστες WI38, ανιχνεύτηκε επαγωγή του HIF-1 α , τα επίπεδα της CLU δεν παρουσίασαν σημαντικές μεταβολές, ενώ παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα του Bcl-2. Παράλληλα, μετά από καλλιέργεια κυττάρων WI38/T και WI38 σε ειδικό νορμοξικό κλίβανο σε συνθήκες υποξίας (1.5% O_2), για διάφορα χρονικά διαστήματα, στα WI38/T ανιχνεύτηκε μικρή αύξηση στα επίπεδα της CLU, και επαγωγή του HIF-1 α και του Bcl-2. Σε κύτταρα WI38, η CLU επάγεται έντονα, ενώ επάγονται και ο HIF-1 α , το Bcl-2 και το p21. Συμπερασματικά, διαπιστώσαμε ότι μετά από επίδραση CoCl_2 η CLU επάγεται σημαντικά σε κύτταρα WI38/T ενώ δε σημειώνει αξιοσημείωτες μεταβολές σε κύτταρα WI38. Αντίθετα σε συνθήκες κανονικής υποξίας, επάγεται και στις 2 κυτταρικές σειρές (πιο έντονα σε κύτταρα WI38). Η διερεύνηση του μηχανισμού επαγωγής της CLU από την υποξία, καθώς και η επίδρασή της στον κυτταρικό φαινότυπο αποτελούν μελλοντικούς ερευνητικούς στόχους του εργαστηρίου.

BIOLOGICAL FUNCTION OF APOLIPOPROTEIN J / CLUSTERIN (CLU) AFTER HYPOXIA INDUCTION IN HUMAN CELLS

Poulios E., Trougakos P.I. & E.S. Gonos

Laboratory of Molecular and Cellular Aging, Institute of Biological Research and Biotechnology, National Hellenic Research Foundation (48 Vas. Konstantinou Avenue, 11635, Athens)

Apolipoprotein J / Clusterin (CLU) is a conserved secreted glycoprotein being expressed in many cell types and found in almost all human fluids. CLU participates in many physiological functions and its levels were found elevated in both senescent and cancer cells. We studied CLU induction in human fibroblasts, following cell exposure to hypoxic conditions. We either treated cells with CoCl_2 , a hypoxia mimic, or we grew them continuously in 1.5% O_2 . Following CoCl_2 treatment of fibroblasts WI38 immortalized with the T-antigen of SV40 (WI38/T), we detected induction at the protein level of HIF-1 α , and of two known HIF-1 α target genes, VEGF and Epo. Additionally, we found elevated levels of CLU and Bcl-2. In normal fibroblasts WI38, exposed to CoCl_2 , we observed an induction of HIF-1 α protein and Bcl-2, whereas there were no significant changes in the levels of CLU. We then cultured WI38/T and WI38 under hypoxic conditions (1.5% O_2) for different time points. We detected a moderate induction of CLU protein in WI38/T and a significant induction of HIF-1 α and Bcl-2. In WI38 cells, CLU is induced significantly, and we also detected induction of HIF-1 α , Bcl-2 and p21. In conclusion, we observed that after CoCl_2 treatment, CLU is mainly induced in WI38/T cells, whereas there were no significant changes of its expression in WI38 cells. On the other hand, in hypoxic conditions CLU is strongly induced in both cell types. We are now focusing on understanding the molecular mechanisms of CLU gene up-regulation following cell exposure to hypoxic conditions.

ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΕΜΠΝΕΥΣΗΣ: ΑΡΧΕΣ, ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗ ΒΙΟΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗ**Προμπονάς Β.Ι. και Χαμόδρακας Σ.Ι.**

Τομέας Βιολ. Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784, Αθήνα

Οι Τεχνολογίες της Πληροφορικής διαδραματίζουν ολοένα και σημαντικότερο ρόλο στην Επιστημονική Έρευνα αλλά και στη σύγχρονη καθημερινή ζωή. Η εγγενής ιδιότητα που παρουσιάζουν διάφορα Βιολογικά Συστήματα για την αποδοτική διαχείριση πληροφοριών και σημάτων, από το χαμηλό μοριακό επίπεδο μέχρι το επίπεδο οργανισμού αλλά και οικοσυστημάτων, προσφέρει πληθώρα εναλλακτικών παραδειγμάτων για την επεξεργασία πληροφοριών από Τεχνητά Συστήματα. Παρουσιάζουμε το δανεισμό Βιολογικών εννοιών για την επινόηση νέων Υπολογιστικών Μοντέλων τόσο σε επίπεδο Υλικού (Hardware) όσο και σε επίπεδο Λογισμικού (Software). Οι μεθοδολογίες αυτές, εκμεταλλεύονται χαρακτηριστικά διαφόρων Βιολογικών Συστημάτων, τα οποία έχουν αποδειχθεί ιδιαίτερα αποδοτικά στην πράξη, για την επιτυχή λύση δύσκολων υπολογιστικών προβλημάτων, όπως η Αναγνώριση Προτύπων, η Ανάλυση Σήματος, η Βελτιστοποίηση, αλλά και η αποδοτική επίλυση προβλημάτων υψηλής συνδυαστικής πολυπλοκότητας. Συγκεκριμένα, θα αναφερθούν οι αρχές στις οποίες βασίζονται η Νευροϋπολογιστική, η Ανοσοϋπολογιστική, η Εξελικτική Υπολογιστική και το σχετικά νέο πεδίο των Μοριακών Υπολογισμών με βάση το DNA.

Η σύγχρονη Βιολογική έρευνα (ιδίως στο πεδίο της Μοριακής Βιολογίας) παράγει μεγάλο πλήθος πολύπλοκων και εξαιρετικά ανομοιογενών δεδομένων. Η ανάλυση τους σε μεγάλη κλίμακα απαιτεί ιδιαίτερα αποδοτικές υπολογιστικές τεχνικές. Η Βιολογική Κοινότητα, βρίσκεται στη θέση να «εξαργυρώσει» την έμμεση συνεισφορά της στην Πληροφορική, αντιδανειζόμενη τις Υπολογιστικές μεθοδολογίες που προέκυψαν με έμπνευση από Βιολογικά συστήματα για τη μελέτη των ίδιων αυτών των συστημάτων! Παρουσιάζουμε εν συντομία επιτυχημένες πρακτικές εφαρμογές της Βιοπληροφορικής βασισμένες σε μεθοδολογίες αυτού του είδους.

BIOLOGICALLY INSPIRED COMPUTATION: PRINCIPLES, METHODS AND BIOINFORMATICS APPLICATIONS

Promponas V.J. & Hamodrakas S.J.

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, National & Kapodistrian
University of Athens, Panepistimiopolis, 15784, Athens - Greece

Information Science Technologies play an overwhelming role in Research and in modern every-day life. Several Biological Systems, ranging from the molecular level to whole organisms or even ecosystems, possess the intrinsic feature of information and signal processing, thus providing a rich repertoire of alternative paradigms for Artificial Information Processing Systems. We present how specific Biological concepts have driven the development of new Computational Models both at the Hardware and the Software level. These methods exploit relevant features of Biological Systems that have been proved to be very efficient in real world life, and have already been deployed to successfully tackle difficult computational problems, such as Pattern Recognition, Signal Processing, Computational Optimization, and Combinatorial problems of high complexity. Particularly, we will present fundamental concepts of Neurocomputing, Immuno-computing, Evolutionary Computing and the new field of DNA-based Molecular Computing.

Furthermore, contemporary Biological Research (especially in the field of Molecular Biology) produces a huge amount of rather complex and exceptionally inhomogeneous data. High-throughput, large scale data analysis requires efficient computational techniques. The Biological Community has now come to “encach” its indirect contribution in Information Science, back-lending Computational Methods inspired from Biological Systems to study the Systems themselves! We briefly present Bioinformatics applications based on such methodologies.

**ΑΥΤΟΜΕΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΚΟΣ ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΣΕ
ΤΟΜΕΣ ΡΗΤΙΝΗΣ, ΚΡΥΟΤΟΜΕΣ ΚΑΙ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ
ΤΟΥ ΜΥΔΙΟΥ *Mytilus galloprovincialis*****Ραφτοπούλου Ε.Κ., Δομουκτσίδου Γ.Π., Δημητριάδης Β.Κ.**Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο, 54124 Θεσσαλονίκη

Τα μύδια χρησιμοποιούνται ως βιολογικοί δείκτες για την εκτίμηση της θαλάσσιας ρύπανσης, συσσωρεύουν στους ιστούς τους βαρέα μέταλλα και άλλους ρυπογόνους παράγοντες. Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκε ο ενδοκυτταρικός εντοπισμός των βαρέων μετάλλων σε τομές ρητίνης, σε κρυοτομές και σε απομονωμένα κύτταρα μυδιών. Για το σκοπό αυτό συλλέχθηκαν μύδια *Mytilus galloprovincialis*, έγινε εξαγωγή του πεπτικού αδένου, των βραγχίων και της αιμολέμφου και εφαρμόστηκε η τεχνική της αυτομεταλλογραφίας. Σε τομές ρητίνης του πεπτικού αδένου, παρατηρήθηκε απόθεση μετάλλων στα υπολειπόμενα σωματίδια και στα ετερολυσοσώματα των πεπτικών κυττάρων, καθώς επίσης και στα σκούρα σωματίδια των βασεόφιλων κυττάρων. Σε τομές ρητίνης των βραγχίων, αυτομεταλλογραφικοί κόκκοι εντοπίστηκαν στα σκούρα σωματίδια των επιθηλιακών κυττάρων, ενώ στα αιμοκύτταρα αυτομεταλλογραφική αντίδραση εντοπίστηκε σε δομές του κυτταροπλάσματος που πιθανόν αντιστοιχούν σε λυσοσώματα. Σε κρυοτομές και απομονωμένα κύτταρα πεπτικού αδένου, βραγχίων και αιμολέμφου, η αυτομεταλλογραφική αντίδραση ήταν πιο έντονη σε σχέση με τις τομές ρητίνης και οι μαύροι κόκκοι αργύρου εντοπίστηκαν στις λυσοσωμικές δομές του κυτταροπλάσματος. Η έντονη αυτομεταλλογραφική αντίδραση στις κρυοτομές και στα απομονωμένα κύτταρα ενισχύει τη χρήση τους σε ιστοχημικές μελέτες, ακόμη κι αν υπάρχει μικρή ποσότητα μετάλλων. Τέλος, η προετοιμασία των απομονωμένων κυττάρων δεν απαιτεί ειδικά όργανα ή εξειδικευμένο προσωπικό, με αποτέλεσμα να μπορούν εύκολα να χρησιμοποιηθούν για εφαρμογές της αυτομεταλλογραφίας σε μελέτες βιοπαρακολούθησης.

**AUTOMETALLOGRAPHIC LOCALIZATION OF HEAVY METALS IN
RESIN SECTIONS, CRYOSECTIONS AND ISOLATED CELLS OF THE
MUSSEL *Mytilus galloprovincialis***

Raftopoulou E.K., Domouhtsidou G.P., Dimitriadis V.K.

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

The mussels have been used as biological indicators of marine pollution due to the fact that they accumulate heavy metals and other contaminants in their tissues. In this study, the intracellular localization of heavy metals was studied in resin sections, cryosections and isolated cells of *Mytilus galloprovincialis*. The mussels were collected from the field and the method of autometallography (AMG) was applied in the digestive gland, the gills and the haemolymph of *Mytilus galloprovincialis*. In resin sections of the digestive gland, the deposition of metals was found in the residual bodies and the heterolysosomes of the digestive cells, as well as in the dense bodies of the basophilic cells. In resin sections of the gills, autometallographic black silver deposits (BSD) were localized in the dense bodies of the epithelial cells, while in the haemocytes the autometallographic reaction was observed on cytoplasmic structures, possibly lysosomes. In cryosections and isolated cells of the digestive gland, the gills and the haemolymph, the autometallographic reaction was more intense compared to resin sections and BSD were accumulated in lysosomal structures of the cytoplasm. The intense AMG reaction found in cryosections and in isolated cells and the time effectiveness of the procedures enhances their use in a variety of studies, even if small amount of metals are to be detected. In addition, the preparation of isolated cells does not require specific instruments or qualified personnel and, thus, the use of isolated cells is encouraging for AMG applications in bio-monitoring studies.

ΠΕΡΙ ΑΝΘΗΣΗΣ

Ριζοπούλου Σ.Θ.*

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Πανεπιστημιόπολη, 157 84, Αθήνα. E-mail: srhizop@biol.uoa.gr

Τα άνθη, τα οποία έχουν σύνθετη δομή, είναι τα όργανα που εξυπηρετούν την αναπαραγωγή, κατά την εποχή της ανθοφορίας. Επιδεικνύονται με τις παροχές τους (γύρη, νέκταρ), τη μορφολογία, το άρωμα, το χρώμα τους. Με τα άνθη ασχολήθηκαν πολλοί & πολύ. Ίσως επειδή τα άνθη έχουν σημειολογική αξία για τον άνθρωπο και σχετίζονται με την κοινωνική του συμπεριφορά (γέννηση, γιορτή, νίκη, βραβείο, επιτυχία, θάνατος, φιλοξενία, επιστροφή...). Σηματοδοτούν το δομημένο ή ανθρωπογενές περιβάλλον. Εναλλακτικά, εκχυλίσματα ανθικών ιστών θεραπεύουν κι ομορφαίνουν.

Ενδελεχής, ερευνητική μελέτη του άνθους, έχει γίνει κυρίως στο ζιζάνιο των αγρών *Arabidopsis* και σε ορισμένα καλλιεργούμενα και καλλωπιστικά φυτά: *Petunia*, *Pelargonium*, *Ipomoea*, *Tulipa*, *Rosa*, *Dianthus*, *Zea mays*.

Πότε και πως ανθίζουν τα φυτά, πυροδοτώντας τις αισθήσεις; Πώς εκπύσσονται τα πέταλα; Πόσο διαρκεί η άνθηση;

Τα φυτά ανθίζουν όταν α) οι περιβαλλοντικές συνθήκες (φως, θερμοκρασία, υδατική διαθεσιμότητα) και β) η ωριμότητα ή το αναπτυξιακό στάδιο του φυτικού σώματος το επιτρέπουν. *Γιατί κάθε πράγμα ορίζεται, όταν έχει φθάσει στην πραγμάτωσή του μάλλον παρά όταν υπάρχει εν δυνάμει*, όπως λέει ο Αριστοτέλης (2^ο βιβλίο Φυσικών). Σύμφωνα με τον Θεόφραστο (Περί Φυτών Αιτία Ζ.15.2), η άνθηση είναι ένα είδος ζύμωσης που επιφέρει μεταβολή του υπάρχοντος κι εκδηλώνεται με την εμφάνιση και με το ξεδίπλωμα στεφάνης. Το έναυσμα της πυροδότησης της άνθησης που προέρχεται από τα φύλλα και μεταφέρεται σε ανθικό μερίστωμα, συνοδεύεται από αντικρουόμενες επιστημονικές απόψεις ως προς την προέλευσή του. Έτσι έχει αναφερθεί ότι μπορεί να είναι ή μια χημική ουσία (π.χ. florigen, ανθογόνο), ή το μήκος της αδιατάρακτης σκοτεινής περιόδου ή ένα πολυπαραγοντικό ερέθισμα, ή αυξητικοί ρυθμιστές ή ο συνδυασμός περιβαλλοντικών παραμέτρων, όπως θερμοκρασία και φωτοπερίοδος.

Η εξειδικευμένη ανάπτυξη ή η αρχιτεκτονική των ανθικών ιστών, σχετίζεται με την διαφοροποίηση των μεριστωμάτων και ελέγχεται από γονίδια που ονομάστηκαν *LEAFY*, *APETALA*, *SEPALLATA*... Επικρατέστερο πρότυπο ανάπτυξης του άνθους θεωρείται το ABC, όπου *A=APETALA* υπεύθυνο γονίδιο για τα σέπαλα, για τη δημιουργία των πετάλων απαιτείται

* Προσκεκλημένη ομιλήτρια

ο συνδυασμός των A και $B=PISTILLATA$, οι στήμονες εξαρτώνται από το συνδυασμό των B και $C=AGAMOUS$.

Έτσι τα άνθη, με τη συμβολή της πίεσης σπαργής, ανοίγουν τα πέταλά τους και φαίνεται το χρώμα τους ή ό,τι αποκαλούμε χρώμα. Τι είναι χρώμα; Μήπως,

...ένα μαβί χωρίς φωνή... (Σεφέρης) ή...όσο ένα γιασεμί λευκό... (Ελύτης).

Το χρώμα εξαρτάται από τη φασματική σύνθεση του ερεθίζοντος φωτός. Ένα ορισμένο ερέθισμα δημιουργεί το αίσθημα ορισμένου χρώματος. Τα χρώματα του λευκού φωτός, ή τα χρώματα της ίριδος είναι τα αισθήματα, τα παραγόμενα από μονοχρωματικές ακτινοβολίες (Αλεξόπουλος). Το χρώμα που παρατηρούμε στα άνθη είναι στην πραγματικότητα το αποτέλεσμα μιας σχέσης του φωτός με την ύλη.

Ο χρωματισμός των πετάλων οφείλεται κυρίως σε δύο τύπους χρωστικών, στα πλαστοχρωμικά καροτινοειδή (κίτρινο, πορτοκαλί, κόκκινο) και στα χυμοχρωμικά φλαβονοειδή (ιώδες, μενεξεδί, κυανό). Η πιο διαδεδομένη ομάδα από τα φλαβονοειδή, είναι οι ανθοκυανίνες, (ιώδη χρώματα) που ελέγχονται από το pH του χυμοτοπιακού χυμού. Τα πέταλα ορισμένων ανθέων απορροφούν στην περιοχή της υπεριώδους ακτινοβολίας, η οποία είναι αόρατη για τον άνθρωπο, δίνοντας ωστόσο, *χρωματική* αντίληψη σε άλλους οργανισμούς που διαθέτουν τους κατάλληλους δέκτες. Τα φλαβονοειδή που απορροφούν στο UV, με κατάληξη στην ορατή χαμηλού μήκους κύματος, είναι υπεύθυνα για ό,τι δεν βλέπουμε. Οι άνθρωποι αναγνωρίζουμε ύστερα από ανάλυση, στο εργαστηριακό επίπεδο, τις χρωστικές και βλέπουμε μακροσκοπικά το χρώμα των λουλουδιών, επειδή το μάτι του ανθρώπου μπορεί να διακρίνει τουλάχιστον 200 χρώματα, χάρη στους ποικίλους συνδυασμούς των τριών υποδοχέων (τριχρωμική θεωρία).

Υπάρχει κάτι που δεν το βλέπουμε; «*Φύσις κρύπτεσθαι φιλεί*» Ηράκλειτος (Περί φύσεως).

Η εργασία αυτή δεν θα είχε υπόσταση χωρίς ερεθίσματα από τη φύση και από συνεργασίες με (χρονολογική σειρά): Γιώργο Κοτζαμάνη, Γιώργο Καπόλα, Katja Schneider, Κουμή Φιλίππου, Ευγενία Ιωαννίδη, Νίκο Αλεξανδρίδη, Αποστόλη Αργυρόπουλο, Δημήτρα Ζερβού, Γιώτα Γεωργαντέα, Αννέτα Ρίζου, Κωνσταντίνα Ψαθά, Κώστα Μαργαζή, Νίκο Μπαρδούτσο, Κώστα Ξυπνητό.

ON ANTHESIS

Rhizopoulou S.*

Dept of Botany, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of Athens,
Panepistimiopolis, 15784, Athens – Greece, E-mail: srhizop@biol.uoa.gr

The flower is the reproductive structure of the angiosperms. Anthesis is a distinct phenophase that is controlled by moisture, photoperiod and temperature interactions, all known to enhance or delay timing of flower initiation, in combination with autonomous factors, such as age. Floral primordia develop at the shoot apex as a result of cellular and biochemical changes leading to the production of floral organs; the transition to flower involves a complex system of interacting factors that include carbohydrates and plant growth regulators. Although the morphological changes occur at the floral meristems, the (still unknown) signal is triggered from the leaves. In literature, conflicting results have been published, leading to different hypotheses; i.e. the florigen hypothesis, the light-dark cycle, a combination of environmental conditions. Nowadays, different genes are known to specify floral organ identity: *APETALA*, *PISTILLATA*, *AGAMOUS*, *TERMINAL FLOWER*. The most popular ABC model has been proposed to explain that each whorl is determined by a unique combination of the three organ identity gene activities; where *A*=*APETALA*, *B*= *PISTILLATA*, *C*= *AGAMOUS*. Therefore, gene *A* specifies sepals, formation of petals requires *A* and *B*, stamens are formed by a combination of *B* and *C* and *C* alone specifies carpels.

The majority of the research work in flowers and flowering is referred to *Arabidopsis*, cultivated and rapidly grown species, e.g. *Petunia*, *Pelargonium*, *Ipomoea*, *Tulipa*, *Rosa*, *Dianthus*, *Zea mays*.

Floral axes usually bear sepals, which are generally green and petals that are characteristically colourful. The flower colour together with flower shape, scent and nectar attracts insects and birds to higher plants to ensure fertilization. Also, flower colour gives immense aesthetic pleasure to humans and conscious selection for colour varieties among garden plants and horticultural crops has been practiced. Flower colour is largely due to the presence of pigments in chromoplasts and/or in cell vacuoles of floral tissues.

* Invited speaker

What is colour? *a mauve without voice* (Seferis); *like a white jasmine* (Elytis)
The considerable groups of colouring matter in higher plants are the carotenoids and the flavonoids. The yellow and orange pigment components are carotenoids and flavonols; the cream, ivory and white pigment components are flavonols and flavones; the blue, red and pink flower pigment components are anthocyanins. The interaction of other factors (i.e. pH of the vacuolar sap, co-pigments located in cells of petal epidermis) controlling pigment synthesis has a considerable effect on flower colour. It has been investigated that some flavones and flavonols absorb light at shorter wavelengths than anthocyanins, and they are not visible to the human eye..., though, they produce visible-patterns for other organisms, e.g. like bees.

People can see more than 200 colours. Is there anything invisible?

This work is based, to a great extent, on observations from nature and on collaboration with (chronological order): George Kotzamanis, George Kapolis, Katia Schneider, Koumis Philippou, Evgenia Ioannidi, Nicolaos Alexandredes, Apostolis Argiropoulos, Anneta Rizou, Konstantina Psatha, Kostas Margazis, Nicos Mpardoutsos, Kostas Xypnitos.

Η ΧΡΩΜΑΤΙΝΗ ΕΜΠΛΕΚΕΤΑΙ ΣΤΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗΣ ΤΩΝ ΔΙΠΛΩΝ ΣΠΑΣΙΜΑΤΩΝ ΤΟΥ DNA

Ρογκάκου Ε.

Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, ΕΚΒΕ. «Αλ. Φλέμιγκ» rogakou@fleming.gr

Μέχρι πρόσφατα, η χρωματινή εθεωρείτο να προσθέτει στο DNA «δομή» και να αφαιρεί «λειτουργία». Σήμερα, είναι ευρέως αποδεκτό ότι οι «ουρές» των ιστονών υφίστανται μετά-μεταφραστικές τροποποιήσεις, που δημιουργούν διαφορετικά μικροπεριβάλλοντα κατά μήκος της χρωματιδικής ίνας. Μόλις πρόσφατα δείχθηκε ότι αυτή η γενική θεώρηση ισχύει επίσης στην περίπτωση των διπλών σπασμάτων του γενωμικού DNA. Η2ΑΧ είναι μια ιστονική ποικιλομορφία που υφίσταται φωσφορυλίωση στην σερίνη 139 του καρβοξυτελικού άκρου της, όταν διπλά σπασίματα εισάγονται στο DNA (επονομαζόμενη γΗ2ΑΧ). Το βιολογικό αυτό φαινόμενο είναι συντηρημένο κατά την εξέλιξη από το μύκητα μέχρι τον άνθρωπο, και επάγεται από διπλά σπασίματα του DNA που δημιουργούνται από διάφορες αιτίες όπως ιονίζουσα ακτινοβολία και χημικούς παράγοντες, αλλά και κατά την διάρκεια κυτταρικών λειτουργιών όπως γενωμικός ανασυνδιασμός (μειωτικός και V(D)), μεταστροφή ανοσολογικών τάξεων, και απόπτωση. Το μοντέλο το οποίο βασισμένο στην στοιχειομετρία της γΗ2ΑΧ προτάθηκε από την ομάδα W. Bonner, περιγράφει πως για κάθε ένα διπλό σπάσιμο του DNA φωσφορυλιώνονται χιλιάδες μόρια νουκλεοσωμικής Η2ΑΧ σε απόσταση πολλών μεγαβάσεων κατά μήκος της χρωματιδικής ίνας. Ορατή επιβεβαίωση αυτού του μοντέλου παρέχεται από πειράματα ανοσοκυτταροχημείας ακτινοβολημένων κυττάρων όπου οι εστίες γΗ2ΑΧ εμφανίζονται ως μεγάλοι, περίπου σφαιρικοί σχηματισμοί στην μεσοφασική χρωματινή, και ως χρωμοσωμικές λωρίδες στά μιτωτικά χρωμοσώματα. Έχει δείχτεί ότι πάνω στην γΗ2ΑΧ χρωματινή συναθροίζονται με χρονική σειρά, παράγοντες κυτταρικής σηματοδότησης και επιδιόρθωσης του DNA (όπως 53BP1, MRN complex, BRCA1, MDC1 κλπ), και πως αυτή η συνάθροιση γίνεται με ελαττωματικό τρόπο όταν έχει εξουδετερωθεί η Η2ΑΧ (knockout βιολογικά μοντέλα). Από την ομάδα A. Nussenzweig έχει προταθεί ένα μοντέλο σύμφωνα με το οποίο η γΗ2ΑΧ χρωματινή λειτουργεί ως εξέδρα όπου οι παράγοντες αυτοί υφίστανται μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις έτσι ώστε να ενισχύσουν και διαβιβάσουν το μήνυμα περαιτέρω στο κυτταρόπλασμα.

CHROMATIN INVOLVEMENT IN DNA DOUBLE-STRAND BREAK REPAIR PATHWAYS

Rogakou E.

B.S.R.C. «Alexander Fleming» e-mail: rogakou@fleming.gr

It was not long ago that chromatin was widely regarded as adding more “structure” to DNA, but less “function”. Today, it is broadly perceived that histone tails accommodate post-translational modifications that create different microenvironments along the chromatin fiber.

It was only recently shown that this general theme applies also in the case of double-strand breaks introduced into cellular DNA. H2AX is a mammalian histone variant that becomes phosphorylated on S139 in the C-terminus when double-strand breaks are generated (named γ H2AX). This biological phenomenon is conserved in evolution from yeast to human and follows DNA double-strand breaks that are generated by different means, irradiation and chemicals, or during highly specialized cellular processes such as meiotic and V(D)J recombination, class switching, and apoptosis.

The model based on the stoichiometry of γ H2AX formation, proposed by the W.M. Bonner group, states that one double-strand break induces the γ H2AX modification on thousand of nucleosomes, along megabase-long domains of chromatin. Visual confirmation of this model is provided by immuno-cytochemistry of irradiated cells where γ H2AX foci appear as large, roughly spherical conformations in interface chromatin, but they adopt a band-like conformation in mitotic chromosomes.

It has been demonstrated that there is a time-dependent sequential assembly of repair factors and signal mediators (e.g. 53BP1, MRN complex, BRCA1, MDC1) on γ H2AX chromatin, that is impaired in the absence of H2AX (knockout biological models). A model by the A. Nussenzweig group has been proposed, where γ H2AX chromatin functions as a platform to concentrate repair and signal transduction factors.

ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΚΑΙ ΕΞΕΛΙΚΤΙΚΗ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗ**Σαλίκος Α.¹, Παυλίδης Π.², Μπουγιούκος Κ.³, Σούρδης Ι.¹**¹Τμήμα Γεωπ. Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. ²Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης. ³Center for Bioinformatics, University of Pennsylvania

Η προσομοίωση του ανοσοποιητικού συστήματος είναι απαραίτητη όχι μόνο για την μελέτη ποικίλων προβλημάτων που αφορούν τη δομή και τη λειτουργία του συστήματος αυτού αλλά και διότι παρέχει ένα χρήσιμο υπολογιστικό εργαλείο. Τα τελευταία χρόνια αυξανόμενος είναι ο αριθμός των μελετών που προτείνουν διάφορους τύπους τεχνητών ανοσοποιητικών συστημάτων. Παρόμοια με άλλες εμπνευσμένες από τη φύση τεχνικές, ένα τέτοιο σύστημα προσπαθεί να αντλήσει ιδέες από το ανοσοποιητικό σύστημα των σπονδυλωτών, προκειμένου να δημιουργηθούν αποτελεσματικές υπολογιστικές λύσεις σε πολύπλοκα συστήματα. Τα κυριότερα στοιχεία που χρησιμοποιούνται σε τέτοιους αλγορίθμους είναι: η διατήρηση κυττάρων μνήμης αποσυνδεδεμένα από το ρεπερτόριο των διαφοροποιούμενων κυττάρων, επιλογή και δημιουργία κλώνων των πιο διεγερμένων κυττάρων, θανάτωση των μη διεγερμένων, ωρίμανση συγγένειας και επαναεπιλογή των κλώνων με την μεγαλύτερη συγγένεια, παραγωγή και διατήρηση της ποικιλότητας, συμμετοχή υπερμεταλλάξεων στην συγγένεια των κυττάρων. Ένα τυπικό παράδειγμα των εφαρμογών αυτών είναι το ακόλουθο: δημιουργούμε ένα αρχικό πληθυσμό «κυττάρων», μαζί με ένα υποσύνολο κυττάρων μνήμης (υποψήφιος λύσεις του προβλήματος). Επιλέγουμε τα «καλύτερα» άτομα του πληθυσμού με βάση τον υπολογισμό της συγγένειας. Ένας προσωρινός πληθυσμός κλώνων δημιουργείται από αυτά τα άτομα με συνεπακόλουθη αύξηση της συγγένειας με τα αντιγόνα. Ο ώριμος πληθυσμός αντισωμάτων δημιουργείται με την υποβολή των κλώνων σε υπερμεταλλάξεις. τα βελτιωμένα άτομα του ώριμου πληθυσμού αντισωμάτων απαρτίζουν τα κύτταρα μνήμης. Σημαντικές προσπάθειες γίνονται για τη θεωρητική περιγραφή και μοντελοποίηση των κύριων διαδικασιών της κλωνικής επιλογής, της συγγενικής ωρίμανσης και του ανασυνδυασμού γονιδίων καθώς και η επιλογή διαφόρων τύπων εκτιμητών, όπως της απόστασης συγγένειας.

IMMUNE SYSTEM AND EVOLUTIONARY COMPUTATION

Salihos L.¹, Pavlidis P.², Bouyoukos K.³, Sourdis J.¹

¹Department of Agr. Biotechnology, Agricultural University of Athens, ²Department of Biology University of Crete, ³Center for Bioinformatics, University of Pennsylvania

The simulation of the Immune System is necessary not only for the study of the various problems concerning the structure and function of the system itself, but also because it provides a useful computational tool. Recently, there have been an increasing number of studies in which several types of Artificial Immune Systems are proposed. Like other biologically inspired techniques, it tries to extract ideas from the vertebrate immune system, in order to create effective computational solutions to complex problems in a wide range of domain areas. We try various implementations of such Artificial Immune Systems in conventional Evolutionary Algorithms in order to study their efficiency. The main immune aspects used in the algorithms are: maintenance of the memory cells functionally disconnected from the repertoire, selection and cloning of the most stimulated cells, death of non-stimulated cells, affinity maturation and re-selection of the clones with higher affinity, generation and maintenance of diversity, hypermutation proportional to the cell affinity. A typical example of the implementation of these aspects is the following: We generate an initial population of “cells”, with a subset of memory cells (candidate solutions of the problem). We select the “best” individuals of the population based on an estimation of affinity. A temporary population of clones is created by these individuals with subsequent increase of the affinity with the antigen. A mature antibody population is generated after the submission of clones to a hypermutation proportional to the antibody-antigen affinity. The improved individuals of the mature antibody population constitute the Memory cells. Major efforts are being made to the theoretical description and modeling of the main procedures of Clonal Selection, Affinity Maturation and Gene Recombination and the choice of various type of estimators, such as of the Affinity distance.

**ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΘΑΛΑΣΣΑΙΜΙΚΩΝ ΣΥΝΔΡΟΜΩΝ ΣΤΗΝ ΚΕΝΤΡΙΚΗ
ΕΛΛΑΔΑ: ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ****Σαμαρά Μ.¹, Βαγενάς Χ.², Χιώτογλου Ι.¹, Παπαδάκης Μ.³, Χασανίδης Χ.¹,
Βαγενά Α.¹, Λυκούση Σ.¹, Βαμβακόπουλος Ν.¹, Κόλλια Π.¹**¹Εργαστήριο Βιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα²Μονάδα Πρόληψης Μεσογειακής Αναιμίας, Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας, Λάρισα³Μονάδα Προγεννητικού Ελέγχου, Λαϊκό Νοσοκομείο, Αθήνα

Η θαλασσαιμία είναι η πιο συχνή γενετική ασθένεια στην Ελλάδα με υψηλό ποσοστό ετεροζυγωτών και μεγάλη μοριακή ετερογένεια. Η συνύπαρξη α-θαλασσαιμίας περιπλέκει το συσχετισμό των αιματολογικών παραμέτρων και του φαινοτύπου με τις υποκείμενες μοριακές βλάβες. Ο σκοπός της μελέτης αυτής είναι ο προσδιορισμός και η κατανομή των θαλασσαιμικών συνδρόμων στην περιοχή της Κεντρικής Ελλάδος καθώς και η συσχέτιση με τα αιματολογικά στοιχεία με σκοπό την καλύτερη και αποτελεσματικότερη οργάνωση της πρόληψης και προγεννητικού ελέγχου στην περιοχή. Μελετήθηκαν 476 άτομα με ομόζυγη και ενδιάμεση β-θαλασσαιμία καθώς και ετεροζυγώτες για α- και β-θαλασσαιμία. Ο χαρακτηρισμός των μοριακών αλλαγών έγινε με αποδιατακτικά πηκτώματα ακρυλαμίδης (DGGE) και/ή με dot-blot ανάλυση και υβριδισμό με ολιγονουκλεοτίδια. Η μοριακή ανάλυση των β-θαλασσαιμικών χρωμοσωμάτων (278) οδήγησε στην καταγραφή 9 μεταλλαγών και 24 ατόμων που φέρουν άλλες αιμοσφαιρινοπάθειες. Η πιο συχνή μεταλλαγή είναι η IVSI-110 και ακολουθούν οι μεταλλαγές cd-39, IVSI-1, IVSI-6, IVS2-745, -101, -87, FSC-6 και -28. Οι πέντε πρώτες από αυτές τις μεταλλαγές αριθμούν περισσότερο από το 80% των β-θαλασσαιμικών γονιδίων. Τα επίπεδα των αιματολογικών παραμέτρων MCH και MCV στα άτομα που φέρουν β⁰ μεταλλαγές είναι χαμηλότερα (19.55±1.59/63.54±3.45, αντίστοιχα) από εκείνα των ατόμων που φέρουν β⁺ μεταλλαγή και ειδικά τη μεταλλαγή IVSI-6 (22.42±1.35/ 71.05±3.29, αντίστοιχα). Σε αντίθεση τα επίπεδα της HbA₂ είναι υψηλότερα (5.5± 0.73) στους φορείς β⁰-θαλασσαιμίας από αυτά (4.78±0.47) των ατόμων με β⁺ μεταλλαγή. Τα άτομα που φέρουν την ήπια μεταλλαγή -101 χαρακτηρίζονται μόνο από μια ελάχιστη αυξημένη HbA₂ (3.73± 0.21) ενώ παραμένουν σε φυσιολογικά επίπεδα όλες οι υπόλοιπες παράμετροι. Είναι αξιοσημείωτο να αναφερθεί το υψηλό ποσοστό (10.6%) των αιμοσφαιρινοπαθειών που απαντώνται στην περιοχή αυτή, περιλαμβάνοντας HbS, HbLepore και HbD-Punjab, σε αντίθεση με την υπόλοιπη Ελλάδα. Επιπλέον, η κύρια μορφή δβ-θαλασσαιμίας που συναντάται στην περιοχή είναι Τουρκικού τύπου και σε μικρότερο ποσοστό Σικελικού, που απαντάται κυρίως σε όλη την υπόλοιπη Ελλάδα. Η ανάλυση της μοριακής βλάβης της α-θαλασσαιμίας έδειξε ότι το 37% των χρωμοσωμάτων φέρουν τις ελλείψεις α^{-20.5}, α^{-3.7} και α^{-Med} και η έλλειψη α^{-Med} αριθμεί για ποσοστό μεγαλύτερο του 50% των προσδιορισθέντων α-θαλασσαιμικών χρωμοσωμάτων. Με βάση τα παραπάνω, ο προσδιορισμός των α- και β-μεταλλαγών στην περιοχή της Κεντρικής Ελλάδος, με υψηλό ποσοστό α- και β-ετεροζυγωτών, είναι απαραίτητος για την καλύτερη οργάνωση του προγράμματος πρόληψης και προγεννητικού ελέγχου των θαλασσαιμιών.

MOLECULAR AND HEMATOLOGICAL HETEROGENEITY OF THALASSEMIC MUTATIONS IN CENTRAL GREECE

Samara M.¹, Vagenas C.², Chiotoglou I.¹, Papadakis M.³, Chassanidis C.¹, Vagena A.¹,
Likousi S.¹, Vamvakopoulos N.¹, Kollia P.¹

¹Department of Biology, School of Medicine, University of Thessaly, Larissa

²Prevention Center of Thalassemia, General Hospital of Larissa, Larissa

³Unit of Prenatal Diagnosis, Laikon General Hospital, Athens

B-thalassemia is the most common genetic disease in Greece with high incidence of carriers and great heterogeneity of the molecular defects. Its interaction with α -thalassemia complicates the interpretation of red blood cell indices and thalassemic phenotype with the molecular analysis.

The aim of this study was to identify the spectrum of thalassemic syndromes and their distribution among the population of Central Greece as well as their correlation with its hematological parameters in order to perform effective prenatal diagnosis, which has been established the last two years in our laboratory.

The data of this study were derived from a total of 476 unrelated subjects including β -thalassemia major, β -thalassemia intermedia as well as carriers for α - and β -thalassemia. Mutation analysis was performed by DGGE, and/or reverse dot-blot analysis and hybridization with specific oligonucleotides. The characterization of β -thal defects in 278 β -genes has shown great molecular heterogeneity, with nine different mutations identified, while 24 individuals carried other hemoglobinopathies. The most common mutation is IVSI-II0 and is followed, in order of frequency, by the mutations cd-39, IVSI-I, IVSI-6, IVS2-745, -101, -87, FSC-6 and -28. However, five of these mutations account for more than 80% of the genes. The levels of the hematological parameters MCH and MCV for carriers of β^0 mutation were lower ($19.55 \pm 1.59 / 63.54 \pm 3.45$) than those with β^+ (especially those with IVSI-6) ($22.42 \pm 1.35 / 71.05 \pm 3.29$). In contrary, HbA₂ levels for those with β^0 mutation were higher (5.5 ± 0.73) than those carried β^+ (4.78 ± 0.47). Within the group of -101 mutation only HbA₂ levels were slightly increased (3.73 ± 0.21) while all the other parameters remained at the normal level. The high representation (10.6%) of other thalassemic syndromes in this region, including HbS, HbLepore and Hb D-Punjab, is not analogous to that described in other Greek regions. The high incidence of the Turkish form of $\delta\beta$ -thalassemic gene in our region is quite unexpected when compared with the high frequency of the Sicilian type in all other country. Analysis for α -thalassemic genes showed that the deletions $\alpha^{-20.5}$, $\alpha^{-3.7}$ and α^{-Med} accounted for more than 50% of the α -thal determinants. Taken all together, the identification of the spectrum of α - and β -thalassemia mutations in our region is necessary for population carrier screening and for accurate prenatal diagnosis.

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΜΑΣΗΣΗΣ ΜΑΣΤΙΧΑΣ ΣΤΗΝ ΑΡΤΗΡΙΑΚΗ ΠΙΕΣΗ
ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΕΦΗΒΩΝ ΓΥΝΑΙΚΩΝ ΗΛΙΚΙΑΣ 16-18
ΕΤΩΝ****Σαραβέλος Σ. και Δ. Γραικίνης**Αμερικανικό Κολέγιο Θεσσαλονίκης, Εργαστήριο Βιολογίας και Πρόγραμμα International
Baccalaureate T.Θ 21021, Πυλαία 55510 Θεσσαλονίκη

Αυτή η εργασία σχεδιάστηκε με σκοπό να εξετάσει τα αποτελέσματα της μάσησης μαστίχας στην αρτηριακή πίεση (ΑΠ) και καρδιακή συχνότητα (ΚΣ) υγιών εφήβων γυναικών ηλικίας 16-18 ετών (ΜΟ±ΣΑ 16.75±0.63 ετών). Σε αντίθεση με άλλου είδους μυϊκές προσπάθειες, η μάσηση συνδέεται με σειρά από δραστηριότητες όπως για παράδειγμα κατάποση και έκκριση σιέλου, που περιλαμβάνουν μεγάλη νευρική δραστηριότητα. Όλες αυτές συνεργάζονται με τέτοιο τρόπο με το καρδιαγγειακό σύστημα που επιφέρουν γενικές καρδιαγγειακές αλλαγές. Εννέα γυναίκες εξετάστηκαν κατά τη διάρκεια δύο φάσεων, ελέγχου και πειραματικής. Στη διάρκεια ελέγχου παρέμειναν χωρίς καμία δραστηριότητα για 40 λεπτά μέχρι που η ΑΠ και ΚΣ παρέμειναν σταθερές. Κατά τη διάρκεια της πειραματικής φάσης, η ΑΠ και ΚΣ μετρήθηκαν κατά τη διάρκεια 10 λεπτών πριν την άσκηση, 20 λεπτών κατά τη διάρκεια της άσκησης (μάσηση μαστίχας Χίου), και τελικά κατά τη διάρκεια 10 λεπτών περιόδου μετά την άσκηση (συνολικά 40 λεπτών). Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν σημαντικές αλλαγές στην διαστολική πίεση (ΔΠ) και ΚΣ (ANOVA, $p \leq 0.05$), ενώ η συστολική πίεση δεν παρουσίασε καμία αλλαγή. Η μέγιστη αύξηση στη ΔΠ και ΚΣ παρατηρήθηκε κατά τη διάρκεια των πρώτων λεπτών της άσκησης. Αυτό μπορεί να συστήνει μια αυξημένη δραστηριότητα του συμπαθητικού κατά την αρχική περίοδο της άσκησης κατά τη διάρκεια της οποίας η αύξηση της καρδιαγγειακής προσαρμογής οφείλεται στην προσδοκία της δραστηριότητας. Παρόμοιες μελέτες στο παρελθόν έδειξαν σε ενήλικες παρόμοιες σημαντικές αλλαγές στην ΑΠ και ΚΣ κατά τη διάρκεια μάσησης μαστίχας. Στις έρευνες αυτές, η ΑΠ και η ΚΣ αυξήθηκαν σταθερά καθ' όλη τη διάρκεια της άσκησης και όχι μόνο κατά την αρχική φάση, όπως στη παρούσα εργασία. Αυτό μπορεί να είναι αποτέλεσμα της διαφοράς των επιδράσεων της μάσησης σε ενήλικες και σε έφηβους οι οποίοι παρουσιάζουν μεγαλύτερη ανταπόκριση στις καρδιαγγειακές προκλήσεις.

THE EFFECT OF GUM MASTICATION ON BLOOD PRESSURE AND HEART RATE OF HEALTHY 16-18 YEAR OLD HABITUAL GUM-CHEWING FEMALES

Saravelos S. & D. Grekinis

American College of Thessaloniki, Biology Lab and International Baccalaureate Program
P.O. Box 21021, Pylea 55510 Thessaloniki

A study was designed to examine the effect of mastication on the blood pressure and heart rate of 9 healthy habitual gum chewing females aged 16-18 years (16.75 ± 0.63 YRS; MEAN \pm SD). In contrast to other muscular exercises, mastication is related to subsequent activities such as swallowing and salivary secretions, which involve a great deal of neurogenic activity. All these interact with moderating systems of the cardiovascular system and induce general circulatory changes. Nine subjects were examined in two phases, control and experimental. In the control phase, subjects remained inactive for 40 minutes while their blood pressure and heart rate were measured. In the experimental phase, subjects' blood pressure and heart rate were taken during a 10-minute pre-exercise period (chewing gum), then a 20-minute exercise period and finally a 10-minute recovery period (overall 40 minutes). The results of the study showed significant increases in diastolic blood pressure and heart rate (ANOVA; $p \leq 0.05$), while systolic blood pressure did not show any significant change. The maximum increase in blood pressure and heart rate was observed during the first minutes of mastication. This could suggest an increased sympathetic activity of the autonomic system during the initial period of the exercise, when subjects were brought into a state of excitation from the anticipation of the exercise. Similar studies performed in the past using on older non-habitual gum chewers, have shown similar significant increases in blood pressure and heart rate during mastication, although their findings did not agree with each other and with the present study. In those studies blood pressure and heart rate increased steadily during the exercise. This could be an indication that mastication induces greater circulatory impacts on non-habitual gum chewers, and that young individuals are more hyperresponsive than older ones.

**ΤΟ ΠΡΟΪΟΝ, FRA10AC1, ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΠΟΥ ΕΥΘΥΝΕΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗΝ
ΕΥΘΡΑΥΣΤΗ ΘΕΣΗ FRA10A, ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΟΥ
SPLICEOSOME****Σαραφίδου Θ¹, Κοκκινάκη Μ¹, Αποστολοπούλου Δ¹, Μοσχονάς ΝΚ^{1,2}**¹Εργαστήριο Μοριακής Γενετικής Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης,²IMBB- ΙΤΕ, Ηράκλειο Κρήτης

Η εύθραυστη θέση FRA10A, μία από τις σπάνιες εύθραυστες χρωμοσωμικές θέσεις που ανιχνεύονται κυτταρογενετικά απουσία φυλλικού οξέος, χαρτογραφείται στην περιοχή 10q23.3 του ανθρώπου. Αυτές οι χρωμοσωμικές θέσεις περιέχουν υπερμεθυλιωμένες αλληλουχίες DNA με επανάληψεις (CGG)_n στο 5' άκρο γονιδίων. Επέκταση της επανάληψης (CGG)_n έχει συσχετιστεί με την επιγενετική καταστολή της ενεργότητας του αντίστοιχου γονιδίου ή/και της ευρύτερης περιοχής και την εκδήλωση νευρολογικών ασθενειών, με γνωστότερο το σύνδρομο του εύθραυστου Χ. Έχει δειχθεί ότι η FRA10A σχετίζεται με διανοητική και αναπτυξιακή καθυστέρηση. Αξιοποιώντας τον φυσικό χάρτη υψηλής ευκρίνειας και την αλληλουχία του χρωμοσώματος 10, ταυτοποιήσαμε το γονίδιο *FRA10AC1* και δείξαμε ότι η εκδήλωση της εύθραυστης θέσης FRA10A σχετίζεται με την επέκταση κατά ~200 φορές, της επανάληψης (CGG)_n στο 5' UTR του. Η επέκταση του (CGG)_n οδηγεί στην υπερμεθυλίωση της περιοχής και συνεπάγεται την μεταγραφική καταστολή του γονιδίου *in cis*. Το *FRA10AC1* είναι μεταγραφικά ενεργό σε όλους τους ιστούς. Στις γονάδες εμφανίζει 5 εναλλακτικά μετάγραφα με συνέπεια δομική ετερογένεια της FRA10AC1 στο C-terminus. Η πρωτεΐνη εντοπίζεται στον πυρήνα και εμφανίζει υψηλή συντήρηση στους πολυκύτταρους ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Διερεύνηση με το σύστημα των 2-υβριδίων και περαιτέρω μοριακή και κυτταρική ανάλυση, αποκάλυψε την αλληλεπίδραση της FRA10AC1 με τις πρωτεΐνες SAPI45 και DGCR14. Και οι δύο πρωτεΐνες σχετίζονται με τη διαδικασία της συναρμογής του mRNA. Η SAPI45 αποτελεί συστατικό του πολυπρωτεϊνικού παράγοντα SF3b που συμμετέχει στο σχηματισμό του συμπλόκου A του spliceosome, ενώ η DGCR14, προϊόν γονιδίου της περιοχής που ευθύνεται για το σύνδρομο DiGeorge έχει πρόσφατα χαρακτηριστεί ως υπομονάδα του spliceosome. Τα αποτελέσματά μας συνηγορούν στην συμμετοχή της FRA10AC1 στην διαδικασία της συναρμογής του pre-mRNA.

***FRA10AC1*, ASSOCIATED WITH THE FOLATE-SENSITIVE FRAGILE SITE
FRA10A MAY PARTICIPATE IN pre-mRNA PROCESSING AS A
SPLICEOSOME COMPONENT**

Sarafidou T.¹, Kokkinaki M.¹, Apostolopoulou D.¹, Moschonas N.K.^{1,2}

¹Laboratory of Human Molecular Genetics, Dept of Biology, University of Crete, ²IMBB-FORTH, Heraklion Crete, Greece

Chromosomal fragile sites are loci showing gaps or breaks in metaphase spreads of cells grown under specific conditions. Rare fragile sites are classified into folate-sensitive and distamycin A or BrdU-requiring. Twenty-two folate-sensitive fragile sites have been cytogenetically described, the best known being the FRAXA at Xq27.3 associated with the "Fragile-X syndrome", the most common form of mental retardation apart from the Down syndrome. The expression of all 5 folate-sensitive rare fragile sites cloned so far, is characterized by the expansion of a CGG-trinucleotide repeat located at the regulatory or 5' UTR of transcribed genes. All these repeats follow the paradigm of expansion and hypermethylation resulting in subsequent gene silencing. The available high-resolution physical map and finished sequence of HClO was explored for the characterization of the fragile site FRA10A, mapped to 10q23.3. FRA10A is the most prevalent among the rare folate-sensitive autosomal fragile sites with a manifestation of about 1 in 500 fetuses. Several studies have suggested that FRA10A is associated with moderate mental retardation. We have recently shown that the expression of FRA10A is caused by expansion of a 5' UTR polymorphic CGG-repeat of a novel gene, *FRA10AC1*, encoding a nuclear, highly conserved protein. In FRA10A carriers the repeat expands beyond 200 times and becomes hypermethylated, resulting in gene silencing *in cis*. The gene is expressed in several tissues and is alternatively spliced particularly in gonads. Our recent yeast 2-hybrid, molecular and cellular analysis data, suggest that *FRA10AC1* may participate in pre-mRNA splicing interacting with two spliceosomal proteins, i.e.: SAPI45, a well-characterized component of SF3b factor involved in spliceosome complex A formation and DGCR14 encoded by a gene of the minimal chromosome 22 critical region associated with the DiGeorge syndrome.

**ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ mRNA ΤΗΣ ΚΑΤΑΛΥΤΙΚΗΣ
ΥΠΟΜΟΝΑΔΑΣ ΤΗΣ ΤΕΛΟΜΕΡΑΣΗΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ
ΙΟΓΕΝΟΥΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ****Σάτρα Μ.¹, Νταλέκος Γ.Ν.², Κόλλια Π.¹, Βαμβακόπουλος Ν.¹ και Α.Τσέζου¹**Ιατρικό Τμήμα Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (¹Εργαστήριο Βιολογίας, ²Εργαστήριο
Παθολογίας)

Η δραστικότητα της τελομεράσης κυμαίνεται γενικώς σε χαμηλά επίπεδα στα περιφερικά λεμφοκύτταρα και υπερεκφράζεται μετά από ενεργοποίησή τους, πιθανώς για να προστατεύσει τα διαιρούμενα λεμφοκύτταρα από την μείωση του μήκους των τελομερών. Η μείωση του μήκους των τελομερών θεωρείται σημείο γήρανσης των κυττάρων. Καθώς η τελομεράση προστατεύει τα λεμφοκύτταρα από την μείωση του μήκους των τελομερών πιθανολογείται ότι μπορεί να παίζει ένα σημαντικό ρόλο στην λειτουργία του ανοσολογικού συστήματος. Μελετήσαμε τον ρόλο της καταλυτικής υπομονάδας της τελομεράσης (hTERT- human telomerase reverse transcriptase) σε περιφερικά λεμφοκύτταρα ασθενών με ηπατίτιδα Β και C. Συνολικά ελέγχθηκαν 42 ασθενείς με ηπατίτιδα Β και C (18 με HBV και 24 με HCV). Την ομάδα ελέγχου αποτελούσαν 22 υγιείς. Η μέτρηση της hTERT μετρήθηκε και ποσοτικοποιήθηκε για πρώτη φορά χρησιμοποιώντας ποσοτική PCR (real time PCR), με την χρήση Light Cycler και TeloTAAGGGhTERT kit (Roche Biochemicals). Βρέθηκε σημαντικά μειωμένη έκφραση της hTERT στο σύνολο των ασθενών με ηπατίτιδα Β και C σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες ($p < 0.05$). Δεν υπήρχε διαφορά μεταξύ των ασθενών με HBV και HCV λοίμωξη. Για πρώτη φορά δείξαμε με ποσοτική PCR ότι υπάρχει μειωμένη έκφραση της hTERT στα περιφερικά λεμφοκύτταρα ασθενών με ηπατίτιδα Β και C. Η μειωμένη αυτή έκφραση της hTERT την υποδεικνύει ως μερικά τουλάχιστον υπεύθυνη για την ανοσοκαταστολή που παρατηρείται σε αυτούς τους ασθενείς καθώς και ως σημείο πρόωμης γήρανσης του ανοσολογικού συστήματος.

QUANTIFICATION OF THE mRNA CATALYTIC SUBUNIT OF TELOMERASE IN PATIENTS WITH VIRAL HEPATITIS

Satra M.¹, Dalekos G.N.², Kollia P.¹, Vamvakopoulos N.¹ & A. Tsezou¹

University of Thessaly, School of Medicine (¹Dept of Biology, ²Dept of Pathology).

Telomerase activity is present at low levels in peripheral lymphocytes and is upregulated upon activation, possibly protecting actively dividing lymphocytes from telomere shortening. Since decreased telomere length is considered a sign of cellular senescence and telomerase protects lymphocytes from telomere shortening, telomerase may, therefore, play an important role in immune function. We investigated the role of the catalytic subunit of telomerase (hTERT- human telomerase reverse transcriptase) in peripheral lymphocytes of hepatitis B and C patients. A total of 42 patients infected with chronic hepatitis B and C were included in the study; 24 with chronic hepatitis C and 18 with hepatitis B. Twenty-two healthy individuals were used as a control group. The hTERT expression was measured and quantified, for the first time, with real time PCR using the Light Cycler Instrument and the teloTAAGGG hTERT kit (Roche Biochemicals). Our results showed that there was a significant decrease of hTERT expression in patients infected with hepatitis B and C viruses compared to healthy individuals ($p < 0.05$). No differences were observed between the patients with HBV and HCV infection. The decreased hTERT expression of lymphocytes in the above patients is suggested to be partly responsible for the immunosuppression observed in these patients and also a sign of premature aging of the immune system.

**Η ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΟΥ ΠΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ ΣΤΗ ΧΩΡΑ ΜΑΣ
ΜΕΙΩΣΕ ΤΗ ΓΕΝΝΗΣΗ ΠΑΙΔΙΩΝ ΜΕ ΣΥΝΔΡΟΜΟ DOWN;****Σεκερλή Ε., Τσίγκα Α., Σιώμου Ε., Βασιλείου Γ., Δημοπούλου Δ.,
Γκατζόλα Μ., Βογιατζής Ν.**Εργαστήριο Κυτταρογενετικής Β΄ Παιδιατρικής Κλινικής Α.Π.Θ., Νοσοκομείο
Α.Χ.Ε.Π.Α., Θεσσαλονίκη

Το σύνδρομο Down είναι η πιο συχνή χρωμοσωμική ανωμαλία και εμφανίζεται σε αναλογία 1/700-800 γεννήσεις. Η εμφάνιση του συνδρόμου σχετίζεται με την ηλικία της μητέρας. Σήμερα, συστήνεται σε όλες τις γυναίκες, άνω των 35 χρόνων, να υποβάλλονται σε προγεννητικό έλεγχο (αμνιοπαρακέντηση) διότι έχουν αυξημένο κίνδυνο για απόκτηση παιδιού με σύνδρομο Down. Σε διάστημα 24 χρόνων (1980-2003), στο εργαστήριο Γενετικής της Β΄ Παιδιατρικής Κλινικής επιβεβαιώθηκε η κλινική διάγνωση του συνδρόμου σε 346 άτομα (210 αγόρια και 136 κορίτσια). Το υλικό το χωρίσαμε σε δύο δωδεκαετίες, 1980-1991 και 1992-2003, δεδομένου ότι η προγεννητική διάγνωση άρχισε να εφαρμόζεται στη Βόρεια Ελλάδα από τις αρχές της δεκαετίας του 1990. Στα πρώτα 12 χρόνια βρήκαμε 132 παιδιά με σύνδρομο Down εκ των οποίων τα 30 είχαν μητέρες άνω των 35 χρόνων (22,73%). Στη δεύτερη δωδεκαετία που είχε αρχίσει ήδη η εφαρμογή του προγεννητικού ελέγχου, προσκομίστηκαν 214 παιδιά με το σύνδρομο, από τα οποία τα 48 είχαν μητέρες άνω των 35 χρόνων (22,42%). Παρατηρούμε ότι, παρά την εφαρμογή του προγεννητικού ελέγχου, δεν βελτιώθηκε το ποσοστό των παιδιών που γεννήθηκαν με το σύνδρομο Down από μητέρες ηλικίας άνω των 35 χρόνων. Τονίζεται η ανάγκη να πεισθούν οι γυναίκες άνω των 35 χρόνων να υποβάλλονται σε προγεννητικό έλεγχο για να μειωθεί μελλοντικά, κατά το δυνατόν, το ποσοστό γεννήσεων παιδιών με σύνδρομο Down.

HAS THE BIRTH OF CHILDREN WITH DOWN SYNDROME BEEN REDUCED, IN GREECE, BY THE USE OF PRENATAL DIAGNOSIS?

**Sekerli E., Tsiga A., Siomou E., Vassiliou G., Dimopoulou D.,
Gatzola M., Voyiatzis N.**

Cytogenetics Laboratory of the 2nd Dept. Pediatrics of Aristotle University,
AHEPA Hospital, Thessaloniki

Down syndrome is the most common chromosome abnormality. The overall frequency of this syndrome is 1/700-800 births. An important risk factor for having a liveborn child with Down syndrome is advanced maternal age and this is why all women older than 35 years should undergo prenatal diagnosis (amniocentesis). During the period 1980-2003 346 cases of Down syndrome were detected (210 boys and 136 girls) in the Cytogenetics Laboratory of the 2nd Dept. Pediatrics of Aristotle University of Thessaloniki (A.H.E.P.A Hospital). Our cases were divided into two 12-year periods, 1980-1991 and 1992-2003, considering that prenatal diagnosis was put into practice, in Northern Greece, in the early 90's. During the first period (1980-1991), 132 children with Down syndrome were detected - 30 of them had mothers older than 35 years (22,73%). During the second period (1992-2003), when prenatal diagnosis was widely performed, 214 children were detected - 48 of them had mothers older than 35 years (22,42%). Our results lead us to the conclusion that despite the utilization of prenatal diagnosis, the number of newborns carrying trisomy 21 was not reduced. This observation emphasizes the need, for women over 35 years old, to undergo prenatal diagnosis in order to avoid the birth of a child with Down syndrome.

**ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΣΥΝΔΡΟΜΟΥ TURNER ΜΕ ΔΑΚΤΥΛΙΟΕΙΔΕΣ
ΧΡΩΜΟΣΩΜΑ Χ****Σκερλή Ε.¹, Σιώμου Ε.¹, Τσίγκα Α.¹, Βασιλείου Γ.¹, Δημοπούλου Δ.¹,
Σύρρου Μ.², Γαλή Α.³, Βογιατζής Ν.¹**¹Εργαστήριο Κυτταρογενετικής Β' Παιδιατρικής Κλινικής Α.Π.Θ., Νοσοκομείο
Α.Χ.Ε.Π.Α., Θεσσαλονίκη²Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων³Δ' Παιδιατρική Κλινική Α.Π.Θ., Νοσοκομείο Παπαγεωργίου, Θεσσαλονίκη

Το σύνδρομο Turner οφείλεται σε ανωμαλία των φυλετικών χρωμοσωμάτων και εμφανίζεται σε συχνότητα 1/1500-2500 γεννήσεις ζώντων κοριτσιών. Είναι αποτέλεσμα απώλειας ολοκλήρου του ενός χρωμοσώματος Χ ή τμήματος αυτού. Τα κυριότερα κλινικά χαρακτηριστικά των γυναικών που πάσχουν από το σύνδρομο αυτό είναι το χαμηλό ανάστημα, η πρωτοπαθής αμηνόρροια, η δυσγενεσία γονάδων, η έλλειψη δευτερογενών χαρακτήρων του φύλου. Οι πιο συχνές χρωμοσωμικές παραλλαγές του συνδρόμου Turner είναι οι εξής: 45,X, 45,X/46,XX, 46,X,i(Xq), 45,X/46,X,r(X), 46,XXp-. Στην εργασία αυτή παρουσιάζουμε μία περίπτωση κοριτσιού, ηλικίας 10 χρονών, που εμφανίζει μωσαϊκισμό με δύο παθολογικές κυτταρικές σειρές. Μία κυτταρική σειρά με μονοσωμία Χ (45,X) και μία με δακτυλιοειδές Χ [46,X r(X)], σε αναλογία 50%. Ο καρυότυπος της ασθενούς είναι 45,X/46,X r(X). Η μελέτη των χρωμοσωμάτων έγινε με την τεχνική των ταινιών G και με FISH (φθορίζουσα in situ υβριδοποίηση με χρήση μοριακού ανιχνευτή ειδικού για ολόκληρο το χρωμόσωμα Χ). Τα άτομα με δακτυλιοειδές Χ αποτελούν το 5% των περιπτώσεων του συνδρόμου Turner, σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία. Το δακτυλιοειδές Χ δεν βρίσκεται σε όλα τα κύτταρα αλλά ανιχνεύεται υπό μορφή μωσαϊκισμού διότι είναι ασταθής δομή με αποτέλεσμα να χάνεται σε μεγάλο ποσοστό κυττάρων. Όσες γυναίκες έχουν δακτυλιοειδές Χ, εμφανίζουν όλες χαμηλό ανάστημα, νοητική υστέρηση και παρουσιάζουν πιο ήπιο φαινότυπο συγκρινόμενες με εκείνες που πάσχουν από τυπικό σύνδρομο Turner. Τέλος, υπάρχουν περιπτώσεις γυναικών με r(X) που έχουν ανεπτυγμένα δευτερογενή χαρακτηριστικά φύλου και είναι γόνιμες.

TURNER SYNDROME WITH A RING X CHROMOSOME: A CASE REPORT

Sekerli E.¹, Siomou E.¹, Tsiga A.¹, Vassiliou G.¹, Dimopoulou D.¹, Sirrou M.², Gali A.³, Voyiatzis N.¹

¹Cytogenetics Laboratory of the 2nd Dept. Pediatrics of Aristotle University, AHEPA Hospital, Thessaloniki, ²Laboratory of General Biology, University of Ioannina
³Fourth Dept. Pediatrics of Aristotle University, Papageorgiou Hospital

Turner syndrome is defined as the loss, or partial loss, of an X chromosome. Overall frequency of Turner syndrome among female live births is 1/1.500-2.500. The most cardinal features are: short stature, gonadal dysgenesis, primary amenorrhoea and non-fully developed secondary sex characteristics. The most common chromosome variations are: 45,X, 45,X/46,XX, 46,Xi(Xq), 45,X/46,Xr(X), 46,XXp-. In this study, we report a case of a 10-year-old girl who presents two pathological cell lines: one cell line with monosomy X (45,X) and one with ring X [46,Xr(X)] in almost equal percentage (50% each). The patient's karyotype is 45,X/46,Xr(X). Chromosomes were studied using the G-banding technique and FISH (fluorescent in situ hybridization using molecular detector specific for the whole X chromosome). According to the international bibliography, people having a ring X chromosome constitute the 5% of the cases of Turner syndrome. The ring X chromosome is unstable that's why it is usually associated with 45,X cell lines. Women having ring X have short stature, mental retardation but they present milder phenotype in comparison to those with typical Turner syndrome. Finally, there are cases of women with r(X) who have fully developed secondary sex characteristics and are fertile.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΟΥ *Aspergillus oryzae* ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ
ΦΘΗΝΩΝ ΑΓΡΟΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ.
ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΚΑΙ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΩΣ
ΙΧΘΥΟΤΡΟΦΗΣ**

Σεργίου Α., Καλιάφας Α.

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500 Ρίο Πατρών.

Η ανάγκη για νέες εναλλακτικές φθηνές πηγές πρωτεϊνών εμφανίζεται ιδιαίτερα πιεστική τα τελευταία χρόνια και οι ερευνητικές προσπάθειες διεθνώς στρέφονται στην παραγωγή μικροβιακής πρωτεΐνης από βιομηχανικά, γεωργικά και αστικά απορρίμματα.

Η μικροβιακή πρωτεΐνη πλεονεκτεί ως προς τον τρόπο παραγωγής της, καθώς αυτός είναι συνεχής και όχι εποχιακός, γίνεται κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες μη εξαρτώμενες από περιβαλλοντικούς παράγοντες και επιπλέον η χρησιμοποίηση των απορριμμάτων προστατεύει το περιβάλλον.

Η εργασία αυτή παρουσιάζει μια βιοτεχνολογική μέθοδο για την παραγωγή πρωτεϊνικής μάζας από στέλεχος του μυκηλιακού μύκητα *Aspergillus oryzae*. (IMI 283876) αναπτυσσομένου σε φθηνά αγροτικά και βιομηχανικά υποπροϊόντα.

Αρχικά εξετάστηκαν διάφορες μεταβλητές (θερμοκρασία, pH, συνθετικά υποστρώματα, υπεριώδης ακτινοβολία) και η επίδρασή τους στην ανάπτυξη του μύκητα. Στη συνέχεια μελετήθηκε η παραγωγικότητα σε βιομάζα με τη χρησιμοποίηση υποστρωμάτων παρασκευασμένων με φθηνά ή μη εμπορεύσιμα αγροτικά προϊόντα (χαρούπια, σταφίδα, καλαμπόκι, βρώμη, ροδάκινα, πορτοκάλια) αλλά και βιομηχανικά παραπροϊόντα (μελάσσα, φλούδες πατάτας, υπολείμματα βιομηχανίας ζυμαρικών). Την καλύτερη απόδοση σε ευρύ θερμοκρασιακό φάσμα (25-37 °C) εμφάνισε η μελάσσα.

Ακολουθώς η παραχθείσα βιομάζα, σε ακατέργαστη και κατεργασμένη μορφή, χρησιμοποιήθηκε ως εντομοτροφή και ιχθυοτροφή σε πειραματόζωα των ειδών *Ceratitidis capitata* και *Carassius auratus* αντίστοιχα. Το υλικό, ως μοναδική τροφή, έγινε αποδεκτό μόνο στη δεύτερη περίπτωση κατά την οποία τα πειραματόζωα διατηρήθηκαν σε καλή κατάσταση για τουλάχιστο 120 ημέρες.

**GROWTH STUDY OF *ASPERGILLUS ORYZAE* WITH THE USE OF
CHEAP AGRICULTURAL AND INDUSTRIAL PRODUCTS.
PRODUCTION OF MICROBIAL PROTEIN AND ITS UTILIZATION AS
A FISH FOOD**

Sergiou A., Kaliafas A.

Biology Department, University of Patras, 26500 Rio Patra.

During the last years the need for new, alternative and cheap protein sources has become greater and researches all over the world turn towards microbial protein production from industrial, agricultural and urban waste.

This study presents a biotechnology method for microbial protein production from *Aspergillus oryzae* (IMI 283876) grown in cheap agricultural and industrial by-products.

Initially, have been examined different variables (temperature, pH, synthetical substrates, UV) and their effect to the mold growth. Next, biomass production was studied with the use of cheap non-merchantable agricultural products (carob, raisin, corn, oat, peaches, oranges) and industrial by-products (molasses, potato peel, industrial paste remains). Molasses had the best yield in temperature range 25-37 °C.

The biomass produced has been used as the only food for insects (*Ceratitis capitata*) and fishes (*Carassius auratus*) and has been accepted only in the second case where the fishes where kept without any problems for at least 120 days.

**Η ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΣΤΗΝ ΥΠΟΞΙΑ: ΜΕΛΕΤΕΣ *IN VITRO* ΚΑΙ
IN VIVO ΤΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΤΟΥ HIF-1α**

Σίμος Γ. *

Εργαστήριο Βιοχημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Παπακυριαζή 22,
Λάρισα 41222

Τα ανθρώπινα κύτταρα αποκρίνονται στην υποξία αυξάνοντας την έκφραση γονιδίων, τα προϊόντα των οποίων μειώνουν τις επιπτώσεις της έλλειψης οξυγόνου, προάγοντας τον αναερόβιο μεταβολισμό, την ερυθροποίηση, την αναπνοή, την αγγειοδιαστολή και την αγγειογένεση. Τα γονίδια που επάγονται από την υποξία περιέχουν στον προαγωγό ή επαυξητή τους κατά κανόνα μια ή περισσότερες νουκλεοτιδικές αλληλουχίες HRE (Hypoxia Response Element - στοιχεία που αποκρίνονται στην υποξία). Στις αλληλουχίες αυτές συνδέεται ο μεταγραφικός παράγοντας HIF-1 (Hypoxia Inducible Factor 1) και ενεργοποιεί την μεταγραφή των αντίστοιχων γονιδίων (1, 2).

Ο HIF-1 είναι ένα ετεροδιμερές που αποτελείται από τις υπομονάδες HIF-1α και HIF-1β ή ARNT και ανήκει στην οικογένεια των bHLH-PAS μεταγραφικών παραγόντων. Η υποξία ρυθμίζει την έκφραση του HIF-1α, η οποία αυξάνει καθώς η μερική πίεση του οξυγόνου μειώνεται. Η ρύθμιση αυτή, που μόλις πρόσφατα άρχισε να γίνεται κατανοητή, περιλαμβάνει αρχικά την αναστολή της πρωτεόλυσης του HIF-1α και ενέχει την ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη pVHL (von Hippel-Lindau) και μια νέα οικογένεια οξυγονο-εξαρτώμενων υδροξυλασών προλίνης και ασπαραγίνης, οι οποίες τροποποιούν τον HIF-1α (3, 4). Η ενεργοποίηση του HIF-1α από την υποξία προκαλεί, εκτός από σταθεροποίηση του, την φωσφορυλίωση του, την ενεργή μεταφορά του στον πυρήνα (5), τον διμερισμό του με τον HIF-1β, την σύνδεση με το DNA στις HRE αλληλουχίες και, τέλος, την αποκαταστολή των περιοχών του που συνδέονται με γενικούς παράγοντες μεταγραφής (6). Επιπλέον, εκτός από την υποξία, ο HIF-1α επάγεται από σιδηροδεσμευτικές ενώσεις, το κοβάλτιο και σηματοδοτικά μονοπάτια που ενεργοποιούνται από αυξητικούς παράγοντες, αλλά οι μηχανισμοί ενεργοποίησης δεν είναι απόλυτα διευκρινισμένοι (7). Στην ομιλία αυτή θα γίνει μια επισκόπηση των πρόσφατων εξελίξεων στο πεδίο της μελέτης της υποξίας. Επίσης θα παρουσιαστούν εν συντομία τα σχετικά πειραματικά αποτελέσματα από το Εργαστήριο μας.

* Προσκεκλημένος ομιλητής

References

1. Semenza, G.L. 2001a. *Curr Opin Cell Biol.* 13:167-71
2. Wenger, R.H. 2002. *FASEB J.* 16:1151-62.
3. Kim, W., and W.G. Kaelin. 2003. *Curr Opin Genet Dev.* 13:55-60.
4. Semenza, G.L. 2001. *Cell.* 107:1-3.
5. Kallio, P.J., K. Okamoto, S. O'Brien, P. Carrero, Y. Makino, H. Tanaka, and L. Poellinger. 1998. *EMBO J.* 17:6573-86.
6. Lando, D., D.J. Peet, D.A. Whelan, J.J. Gorman, and M.L. Whitelaw. 2002. *Science.* 295:858-61.
7. Semenza, G. 2002. *Biochem Pharmacol.* 64:993-8.
8. Lando, D., I. Pongratz, L. Poellinger, and M.L. Whitelaw. 2000. *J Biol Chem.* 275:4618-27.
9. Richard, D.E., Berra. E., Gothie, E., Roux, D. and J. Pouyssegur. 1999. *J. Biol. Chem.* 274: 32631-32637.

**THE CELLULAR RESPONSE TO HYPOXIA: *IN VITRO* AND *IN VIVO*
STUDIES OF THE HIF-1 α FUNCTION****Simos G.***Laboratory of Biochemistry, School of Medicine, University of Thessaly,
22 Papakiriazi str., 41222 Larissa

Upon hypoxia (reduced oxygen availability), cells respond by increasing the expression of genes encoding proteins that facilitate oxygen delivery (e.g. erythropoietin, VEGF), or enhance anaerobic production of energy (e.g. glycolytic enzymes) thus maintaining energy homeostasis (1, 2). A crucial component in the induction of hypoxia-regulated genes is the transcription factor hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1), which activates transcription by binding to a specific cis-acting regulatory sequence referred to as hypoxia response element (HRE), a hallmark of hypoxia-sensitive target genes. The HIF-1 protein complex consists of a heterodimer composed of HIF-1 α and HIF-1 β subunits, both members of the basic-loop-helix-PAS protein family of transcription factors. HIF-1 α is unique to HIF-1 while HIF-1 β (ARNT) also dimerizes with the aryl hydrocarbon receptor. Although HIF-1 β is constitutively expressed, the activity of HIF-1 α is regulated at multiple levels.

First, HIF-1 α is maintained at a low level under normoxic conditions through proteasomal degradation. HIF-1 α is targeted for degradation through its interaction with the von Hippel-Lindau (VHL) tumor suppressor protein and subsequent polyubiquitination (3). VHL can only bind to HIF-1 α when one or possibly two critical proline residues in the ODD (oxygen dependent degradation) domain of HIF-1 α are hydroxylated. The proline hydroxylases that modify HIF-1 α (termed PHDs) are Fe²⁺ dependent and require oxygen (4). According to the current model, hypoxia inhibits the hydroxylation of HIF-1 α thus allowing its stabilization. It is also possible that hypoxia induces the rapid nuclear entry of stabilized HIF-1 α (5). The nuclear import receptor of HIF-1 α , however, is not known. After translocation inside the nucleus, HIF-1 α can dimerize with HIF-1 β , bind to DNA and activate the transcription of target genes. This final step is also thought to be regulated by hypoxia via an asparagine hydroxylase, which when active, modifies the C-terminal transactivation domain (CTAD) of HIF-1 α and inhibits its association with the transcriptional coactivator CBP/p300 (6).

Expression and stability of HIF-1 α under normoxic conditions are also regulated by major signal transduction pathways induced by growth factors and cytokines, including those involving PI3K and ERK/MAPK (7). However, the mechanism of HIF-1 α activation by these pathways is not

* Invited speaker

precisely known. Both increased protein synthesis and regulation of transcriptional activity by phosphorylation have been proposed depending on the signalling pathway involved or the cell system studied. This talk will be a review of the recent developments in the hypoxia field. The relevant experimental data obtained in our laboratory will also be presented.

References

1. Semenza, G.L. 2001a. *Curr Opin Cell Biol.* 13:167-71
2. Wenger, R.H. 2002. *FASEB J.* 16:1151-62.
3. Kim, W., and W.G. Kaelin. 2003. *Curr Opin Genet Dev.* 13:55-60.
4. Semenza, G.L. 2001. *Cell.* 107:1-3.
5. Kallio, P.J., K. Okamoto, S. O'Brien, P. Carrero, Y. Makino, H. Tanaka, and L. Poellinger. 1998. *EMBO J.* 17:6573-86.
6. Lando, D., D.J. Peet, D.A. Whelan, J.J. Gorman, and M.L. Whitelaw. 2002. *Science.* 295:858-61.
7. Semenza, G. 2002. *Biochem Pharmacol.* 64:993-8.
8. Lando, D., I. Pongratz, L. Poellinger, and M.L. Whitelaw. 2000. *J Biol Chem.* 275:4618-27.
9. Richard, D.E., Berra. E., Gothie, E., Roux, D. and J. Pouyssegur. 1999. *J. Biol. Chem.* 274: 32631-32637.

ΠΡΟΘΥΜΟΣΙΝΗ α. ΕΝΑ ΠΟΛΥΠΕΠΤΙΔΙΟ ΜΕ ΑΝΟΣΟΡΥΘΜΙΣΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ**Σκοπελίτη Μ.¹, Ορθόπουλος Γ.¹, Βουτσάς Ι.², Μοράκη Μ.³, Παπαδάκη Ε.³,
Πανόπουλος Χ.⁴, Παπαμιχαήλ Μ.², Voelter W.⁵, Τσιτσιλώνη Ο.¹**

¹Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, ²Τμήμα Ανοσολογίας-³Μονάδα Αιμοδοσίας, ⁴Β' Παθολογική Κλινική, Νοσοκομείο «Ο Άγιος Σάββας», ⁵Τμήμα Φυσιολογικής Βιοχημείας, Πανεπιστήμιο Tuebingen, Γερμανία.

Η προθυμοσίνη α (προΤα) είναι ένα πολυπεπτιδίο μήκους 109 αμινοξέων με συντηρητική αλληλουχία μεταξύ των θηλαστικών και διακριτή ανοσοενισχυτική δράση *in vitro* και *in vivo*. Σκοπός της εργασίας είναι ο εντοπισμός της περιοχής της πρωτοταγούς δομής της προΤα με τη μέγιστη ανοσολογική δράση, ώστε να χρησιμοποιηθεί μελλοντικά σε κλινικά πρωτόκολλα ανοσοθεραπείας του καρκίνου. Αρχικά η προΤα απομονώθηκε από θύμο μοσχάρι, τρυψινοποιήθηκε και τα παραχθέντα πρωτεολυτικά θραύσματα απομονώθηκαν με RP-HPLC, ταυτοποιήθηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν με αμινοξική ανάλυση. Ακολούθως, ελέγχθηκαν ως προς την ικανότητα να επάγουν τον πολλαπλασιασμό (δοκιμασία ενσωμάτωσης ³H-θυμιδίνης) και την κυτταροτοξικότητα (δοκιμασία απελευθέρωσης ⁵¹Cr από ενδοκυτταρικά σημασμένα κύτταρα-στόχους) σε λεμφοκύτταρα περιφερικού αίματος υγιών δοτών και καρκινοπαθών, μετά από τριήμερη επώαση και συνεργιστικά με χαμηλές δόσεις (20 IU/ml) ιντερλευκίνης-2. Από τα 5 ταυτοποιηθέντα πεπτιδία, 1-14, 21-30, 31-87, 89-102 και 103-109, μόνο τα 89-102 και 103-109 αύξησαν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και ενίσχυσαν την κυτταροτοξικότητα των λεμφοκυττάρων έναντι K562 (ευαίσθητα σε NK λύση) και Daudi (ευαίσθητα σε LAK λύση) καρκινικών στόχων, σε επίπεδα παρόμοια με αυτά της προΤα. Με κυτταρομετρία ροής, μελετήθηκε η ενδοκυτταρική παραγωγή περφορίνης στα NK και στα CD8⁺ T λεμφοκύτταρα. Επώαση των λεμφοκυττάρων με τα πεπτιδία 89-102 και 103-109 οδήγησε σε ποσοστά NK κυττάρων με αυξημένη ενδοκυτταρική παραγωγή περφορίνης, παρόμοια με αυτή που επάγεται από την προΤα. Μη σημαντική ενίσχυση της, παρατηρήθηκε στα CD8⁺ T λεμφοκύτταρα. Συμπερασματικά, φαίνεται ότι το καρβοξυτελικό άκρο της προΤα συγκεντρώνει το μέγιστο της ανοσολογικής της δράσης. Μελλοντικά, θα μελετηθούν οι ακριβείς μηχανισμοί δράσης των πεπτιδίων της προΤα και η *in vivo* προστατευτική και θεραπευτική αντικαρκινική τους δραστηριότητα.

**PROTHYMOSIN α .
A POLYPEPTIDE WITH IMMUNOREGULATORY ACTIVITY**

**Skopeliti M.¹, Orthopoulos G.¹, Voutsas I.², Moraki M.³, Papadaki E.³,
Panopoulos C.⁴, Papamichail M.², Voelter W.⁵, Tsitsilonis O.¹**

¹Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens,

²Immun. Laboratory-³Blood Transfusion Unit-⁴B' Pathological Clinic, «St Savas» Hospital,

⁵Department of Physiological Biochemistry, University of Tuebingen, Germany

Prothymosin α (ProT α) is a polypeptide of 109 amino acids, with conservative primary structure among mammals and distinct immunoenhansive activity *in vitro* and *in vivo*. The purpose of this study is the determination of the region that constitutes its major immunologically active center, in order to be subsequently used in clinical protocols of cancer immunotherapy. Initially, ProT α was isolated from calf thymus and digested with trypsin. The produced proteolytic fragments were isolated by RP-HPLC, identified and quantified by amino acid analysis. These were further tested for their ability to enhance proliferation (standard ³H thymidine incorporation assay) and cytotoxicity (standard ⁵¹Cr-release assay from intracellularly labeled target cells) of peripheral blood lymphocytes from healthy donors and cancer patients, after a 3-day incubation and synergistically with low doses (20 IU/ml) of interleukin-2. Of the 5 identified peptides, i.e., 1-14, 21-30, 31-87, 89-102 and 103-109, only peptides spanning residues 89-102 and 103-109 enhanced cell proliferation and cytotoxicity versus K562 (NK-sensitive) and Daudi (LAK-sensitive) tumor targets, to levels similar to those of ProT α . By flow cytometry, the intracellular production of perforin was examined for NK and CD8⁺ T lymphocytes. Incubation of lymphocytes with peptides 89-102 and 103-109 resulted in an increased percentage of perforin positive NK cells, comparable to those of ProT α . No significant increase was observed for perforin positive CD8⁺ T lymphocytes. We conclude that the carboxyl terminus of ProT α concentrates the maximum of its immunological activity. In the future, the exact mechanisms of action of ProT α 's peptides and their potential *in vivo* protective and therapeutic antitumor activity will be explored.

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΔΑΚΟΥ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ
ΣΤΑ ΟΡΓΑΝΟΦΩΣΦΟΡΙΚΑ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΑ****Σκούρας Π.¹, Τρακάλα Μ.², Πυριανιάν Ν., Μαργαριτόπουλος Ι.¹, Τσιτσιπής Ι.¹,
Ματθιόπουλος Κ.²**¹Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας, Νέα Ιωνία, Βόλος, ²Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας, Λάρισα

Το έντομο *Bactrocera oleae* (Gmelin), ο κοινός δάκος της ελιάς, θεωρείται ως ένα από τα πλέον βλαβερά έντομα, δεδομένου ότι προκαλεί τεράστιες καταστροφές στην ελαιοπαραγωγή. Ο έλεγχος του δάκου γίνεται ως επί το πλείστον με χρήση χημικών εντομοκτόνων. Πέρα από τις καταστροφικές επιπτώσεις των εντομοκτόνων στο περιβάλλον και γενικά στο οικοσύστημα, η υπερβολική και η μη ορθολογική χρήση τους έχει δημιουργήσει και ένα έντονο πρόβλημα ανθεκτικότητας των εντόμων στα εντομοκτόνα. Για το λόγο αυτό μελετήθηκε η ανθεκτικότητα του δάκου στο οργανοφωσφορικό εντομοκτόνο dimethoate με βιοδοκιμές σε άτομα από φυσικούς πληθυσμούς που συλλέχθηκαν από πέντε διαφορετικές περιοχές της Ελλάδος, καθώς και από εργαστηριακό πληθυσμό. Οι βιοδοκιμές έγιναν με τοπική εφαρμογή του εντομοκτόνου. Τα αποτελέσματα έδειξαν επίπεδα ανθεκτικότητας στους φυσικούς πληθυσμούς 15-30 φορές μεγαλύτερα σε σχέση με τον εργαστηριακό πληθυσμό. Τα επίπεδα αυτά είναι υπερδεκαπλάσια σε σχέση με το μέχρι τώρα περιγραφόμενο.

Ένας από τους πιο σημαντικούς μηχανισμούς ανθεκτικότητας στα οργανοφωσφορικά αφορά τη δομική μεταβολή του μορίου της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE), η οποία αποτελεί στόχο δράσης των εντομοκτόνων. Η δομική μεταβολή της AChE εκτιμάται ότι οφείλεται σε μεταλλάξεις που αλλάζουν το ενεργό κέντρο του ενζύμου. Τα μέχρι τώρα αποτελέσματα των βιοδοκιμών μας κάνουν να υποπτευόμαστε την παρουσία πολλών διαφορετικών μεταλλάξεων στο γονίδιο της AChE. Για να ελεγχθεί η ύπαρξη τέτοιων μεταλλάξεων συγκρίναμε τις νουκλεοτιδικές αλληλουχίες τμημάτων του γονιδίου της AChE μεταξύ ανθεκτικών εντόμων και ατόμων από τον εργαστηριακό πληθυσμό.

EXAMINATION OF RESISTIBILITY OF OLIVE FRUIT FLY IN THE ORGANOPHOSPHATE INSECTICIDES

Skouras P.¹, Trakala M.², Pirianian N.¹, Margaritopoulos I.¹, Tsitsipis I.¹,
Mathiopoulos K.²

¹Dept of Agriculture, Crop Production and Rural Environment, University of Thessaly, Nea Ionia, Volos, Greece, ²Dept of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Larissa, Greece

The olive fruit fly *Bactrocerae oleae* (Gmelin) is the most important pest of olives, causing extensive damages in olive oil production. The control of the olive fly is based mainly on chemical insecticides. The excessive and not prudent use of insecticides has adverse effects on the environment as well as is responsible for the development of insecticide resistance. The present study aimed at examining the resistance of the olive fruit fly in the organophosphate insecticide dimethoate. Five populations collected from different regions of Greece and a laboratory-reared population were tested. Bioassays were performed by topical application of different concentrations of the insecticide. The natural populations demonstrated a 15 to 30-fold greater resistance than that of the laboratory reared population. These resistance levels are much greater than the ones described previously. One of the most important mechanisms of resistance in organophosphates concerns the structural change of the molecule of acetylcholinesterase (AChE), which constitutes the target of such insecticides. It is considered that the structural change of AChE is caused by mutations that change the active site of the enzyme. The bioassay results suggest the presence of several different mutations in the gene of AChE. In order to confirm this we compared the nucleotide sequences of various exons of the AChE gene between resistant insects and individuals from the laboratory-reared population.

**ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ b-ZIP: ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΕΝΟΣ ΝΕΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ
ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΣΤΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΟΥ ΧΟΡΙΟΥ
ΤΟΥ ΜΕΤΑΞΟΣΚΩΛΗΚΑ *B. mori***

Σουρμελή Σ. και Ρ. Λεκανίδου

Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15 784, Αθήνα

Στον μεταξοσκώληκα *Bombyx mori* τα γονίδια που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες του χορίου εκφράζονται αποκλειστικά στα επιθηλιακά κύτταρα των ωοθυλακίων ακολουθώντας ένα αυστηρό πρόγραμμα χρονικής ρύθμισης. Οι υπεύθυνοι μηχανισμοί για αυτή την ειδική ανά ιστό και αναπτυξιακό στάδιο έκφραση δεν είναι επαρκώς κατανοητοί. Πρόσφατες μελέτες οδήγησαν στην ταυτοποίηση ενός νέου *cis*-ρυθμιστικού στοιχείου στους υποκινητές των γονιδίων του χορίου, το οποίο αντιστοιχεί στην αλληλουχία αναγνώρισης μεταγραφικών παραγόντων b-ZIP. Το *cis*-στοιχείο αναγνωρίζεται από μία υποθετική πρωτεΐνη, που ονομάστηκε BmCbZ.

Σε πειράματα μείωσης κινητικότητας συμπλόκου η BmCbZ αλληλεπιδρά με τα αντισώματα έναντι της C/EBP πρωτεΐνης της οικογένειας b-ZIP του γένους *Drosophila* (C135, C138). *In silico* ανάλυση της τράπεζας EST αλληλουχιών του *B. mori* αποκάλυψε μία αλληλουχία με χαρακτηριστικά λειτουργικά μοτίβα των παραγόντων b-ZIP. Ακολούθησε κατασκευή και σάρωση cDNA βιβλιοθήκης έκφρασης επιθηλιακών κυττάρων βιτελλογενετικών και χοριογενετικών ωοθυλακίων. Εντοπίστηκε ένας cDNA κλώνος και προσδιορίστηκε η πρωτοδιάταξή του. Πειράματα αλληλεπίδρασης της πρωτεΐνης που εκφράζει ο κλώνος με α) τα αντισώματα C135 και C138, και β) το *cis*-στοιχείο αναγνώρισης της υποθετικής BmCbZ υποδηλώνουν ότι ο απομονωμένος κλώνος κωδικοποιεί την πρωτεΐνη αυτή. Η μελέτη της δράσης του νέου αυτού μεταγραφικού παράγοντα, που προσδένεται στους υποκινητές των γονιδίων του χορίου κατά τη διάρκεια της χοριογένεσης, αναμένεται να αποσαφηνίσει τις μοριακές αλληλεπιδράσεις που διέπουν το πρότυπο αναπτυξιακό πρόγραμμα ενεργοποίησης και καταστολής των γονιδίων του χορίου του μεταξοσκώληκα *Bombyx mori*.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτείται από το πρόγραμμα « Πυθαγόρας».

b-ZIP PROTEINS: A NEW TRANSCRIPTION FACTOR IMPLICATED IN SILKMOTH *Bombyx mori* CHORION GENE REGULATION

Sourmeli S. & R. Lecanidou

Dept of Biochemistry and Mol. Biology, Faculty of Biology, University of Athens,
Panepistimiopolis 15784, Athens - Greece

In the silkworm *Bombyx mori* the genes that code for chorion proteins are expressed solely in the follicular cells surrounding the oocyte, following a temporal-specific pattern. The mechanisms responsible for tissue and developmental specificity are not yet well understood. Recent studies resulted in the identification of a new *cis*-element on chorion gene promoters, which corresponds to a binding site for b-ZIP transcription factors. A putative protein, named BmCbZ, recognizes this consensus. Gel retardation assays showed that BmCbZ interacts with antibodies against the *Drosophila* C/EBP factor (CI35, CI38), a member of the b-ZIP family. In this study, we present an effort to isolate the BmCbZ protein. *In silico* analysis of the *B. mori* EST database resulting in a single clone, which was used for screening of a cDNA expression library, constructed with vitellogenic and choriogenic follicular cells. A full-length cDNA clone was obtained. Sequencing analysis revealed characteristic functional motifs of b-ZIP factors. BmCbZ, as expressed from the cDNA clone, was used in interaction experiments with a) antibodies CI35 and CI38 and b) the BmCbZ binding site. These experiments confirmed that the protein of this cDNA clone corresponds to the putative BmCbZ factor. Further study of the BmCbZ transcription factor, which binds to chorion gene promoters during choriogenesis, is important in order to elucidate the regulatory mechanisms involved in the developmental specificity of the silkworm *Bombyx mori* chorion genes.

The "Pythagoras" program supports this research.

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΦΥΛΟΥ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ ΤΟΥ ΑΝΩ
ΧΕΙΛΟΥΣ ΤΗΣ ΟΦΘΑΛΜΙΚΗΣ ΚΟΓΧΗΣ****Σπηλιός Γ., Φουντουλάκης Γ., και Σ.Κ. Μανώλης**

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 157 84, Αθήνα. E-mail: smanol@biol.uoa.gr

Ο προσδιορισμός της ηλικίας και η ταυτοποίηση του φύλου ανθρωπίνων υπολειμάτων, είναι κεφαλαιώδους σημασίας στην ιατροδικαστική και την ανθρωπολογική έρευνα (π.χ. παλαιοδημογραφική ανάλυση κλπ).

Η ταυτοποίηση του φύλου από τον σκελετό, βασίζεται σε διαφορές του σχήματος και του μεγέθους, παρά το γεγονός ότι αυτά τα χαρακτηριστικά μπορεί να διαφοροποιούνται λόγω της ποικιλομορφίας των ανθρωπίνων πληθυσμιακών ομάδων, γεγονός που πρέπει να λαμβάνεται υπ' όψη κατά την ανθρωπολογική έρευνα. Τα σκελετικά μέρη που ερευνώνται συνήθως γι' αυτό τον σκοπό είναι η λεκάνη και το κρανίο. Ένας αρκετά μεγάλος αριθμός ερευνητών περιλαμβάνει την «οξύτητα» του άνω χείλους της οφθαλμικής κόγχης (*supra orbital margin*) στα θηλυκά άτομα, (που για πρώτη φορά περιγράφηκε από τον Broca το 1875) μεταξύ των διαφοροποιήσεων – κριτηρίων, για την ταυτοποίηση του φύλου, από το κρανίο. Η αξιοπιστία της κρανιακής αυτής διαφοροποίησης ως κριτήριο για την αναγνώριση του φύλου, διερευνήθηκε αρχικά από ομάδα Γερμανών ερευνητών, οι οποίοι κατέληξαν στην δημιουργία μιας επταβάθμιας κλίμακας σχημάτων, που προκύπτουν από το αποτυπώμα του άνω χείλους της οφθαλμικής κόγχης σε πλαστελίνη και έχει ακρίβεια ταυτοποίησης του φύλου, από αυτή και μόνο τη διαφοροποίηση, 70%.

Αντίστοιχη έρευνα-μελέτη έγινε στη Σύγχρονη Συλλογή Αναφοράς του εργαστηρίου Βιολογικής Ανθρωπολογίας του Τομέα Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου του Πανεπιστημίου Αθηνών, από την οποία προέκυψε νέα «σχηματική» κλίμακα κατάταξης-ταυτοποίησης που καλύπτει τη βιολογική ποικιλομορφία των Ελλαδικών πληθυσμών με αντίστοιχα ποσοστά επιτυχίας πρόβλεψης.

Η εργασία αυτή επιχορηγήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Εθνικού & Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

SEX DETERMINATION BY OBSERVING THE FORM OF THE SUPRA-ORBITAL MARGIN

Spilias G., Fountoulakis G.E. & 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

Sex determination and age estimation of the skeletal remains is a very important procedure in Forensic and Anthropological research (e.g. paleodemographic analysis etc.). Sex determination of human skeletal remains is based on bone shape and size differences, although these characteristics might differ because of the human population diversity.

Usually, pelvis and skull are the most used bones for sex studies. Most of researchers are using, as a sex indicator, the sharpness of the supra orbital margin in females (first established by P. Broca, 1875). The credibility of this cranial discrete differentiation as a sex discriminating criterion was studied by a group of German researchers, that resulted a seven level scale of shapes. These shapes derived by the study of the produced plasticine casts of the region of the supra orbital margin. This method has an accuracy of 70% in sex determination.

The same study was conducted in the Modern Human Reference Collection of the Laboratory of Biological Anthropology at the University of Athens. The application of this scale has poor results. Thus, we created a new scale of shapes for sex determination, for Greek populations, covering a great range of the biological diversity, with relevant percentage of accuracy in predicting sex.

This study is funded by the Special Research Account of the National & Kapodistrian University of Athens

**ΑΜΦΙΠΛΕΥΡΟΣ ΕΙΣΔΟΧΙΚΟΣ ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥ ΟΡΕΙΝΟΥ
ΛΑΓΟΥ *Lepus timidus Varronis*, ΚΑΙ ΤΟΥ ΕΥΡΩΠΑΪΚΟΥ ΛΑΓΟΥ,
*L. europaeus*****Σταμάτης Κ.¹, Suchentrunk F.², Μαμούρης Ζ.¹**¹Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ²Research Institute of
Wildlife Ecology, Vienna, Austria

Οι λαγοί (γένος *Lepus*) αποτελούν μια δύσκολη ομάδα ταξινομικά, εξαιτίας της υψηλής ενδο-ειδικής μορφολογικής ποικιλότητας και της ευρείας δια-ειδικής επικάλυψης στα περισσότερα μορφολογικά χαρακτηριστικά. Αυτό μπορεί να οφείλεται εν μέρει στην πρόσφατη εξελικτική ιστορία της ομάδας, στην μικρή φυλογενετική διαφοροποίηση μεταξύ πολλών ταξινομικών ομάδων και στην πιθανότητα δικτυωτής εξέλιξης. Στην παρούσα μελέτη διερευνούμε το αν, στις Ελβετικές Άλπεις συνέβη εισδοχικός υβριδισμός μεταξύ δύο φυλογενετικά καλά διαχωρισμένων ειδών του *Lepus timidus* και του *L. europaeus*. Εξετάσαμε 87 *Lepus timidus* και 126 *L. europaeus* από την Ελβετία για διαγνωστικούς χαρακτήρες του πυρηνικού και μιτοχονδριακού DNA. Ανάμεσα στους 53 συνολικά αλληλομορφούς τόπους στα δύο είδη μόνο οι τόποι Sdh- (Sdh*A για το *L. europaeus*, Sdh*B για το *L. timidus*), και ο Acp-I (Acp-I*A για το *L. europaeus* και Asp-I*B για το *L. timidus*) ήταν διαγνωστικοί. Η παρουσία των αντίστοιχων εναλλακτικών αλληλόμορφων των δύο τύπων σε οποιοδήποτε είδος από τα δύο ήταν ένδειξη πυρηνικής εισδοχής. Για το mtDNA, οι πέψεις με ενδονουκλεάσες περιορισμού σε περιοχές ενισχυμένες με PCR (CR/cyt b, COI I2S/I6S rRNA), έδωσε 10 διαγνωστικούς απλότυπους για το *L. europaeus* και 9 για το *L. timidus*. Με βάση την συνδυασμένη ανάλυση των δεικτών του πυρηνικού και mtDNA, 12 άτομα (13.8%) με φαινότυπο *L. timidus* και 10 (7.9%) *L. europaeus* ήταν υβρίδια, τουλάχιστον δεύτερης γενιάς. Αν και έχει ήδη περιγραφεί η μονόπλευρη εισδοχή του mtDNA τύπου *L. timidus* σε φυσικούς Σουηδικούς πληθυσμούς *L. Europaeus*, μέχρι τώρα δεν υπήρχαν αποδείξεις ούτε για αμφίπλευρη, ούτε για πυρηνική εισδοχή. Γενικά, ο υβριδισμός μπορεί να προκαλέσει μειωμένη αναπτυξιακή ομοιότητα, που με τη σειρά της θα μπορούσε να αυξήσει την διατομική ποικιλότητα των χαρακτηριστικών στους πληθυσμούς, αυξάνοντας έτσι και τη μορφολογική επικάλυψη μεταξύ των ειδών που εμπλέκονται. Απ' την άλλη, δεν μπορεί να αποκλειστεί και η συνεισφορά των αλληλομόρφων, όπου αυξημένη γενετική ποικιλότητα των υβριδίων μπορεί να οδηγήσει σε υψηλότερη διατομική μορφολογική ποικιλότητα. Ωστόσο, μορφολογική ενδο-ειδική ποικιλότητα ή επικαλύψεις μεταξύ των ειδών προκύπτουν κυρίως από τον υβριδισμό, όταν τα υβρίδια άτομα συμπίπτουν χωρικά και χρονικά.

**BI-DIRECTIONAL INTROGRESSIVE HYBRIDIZATION BETWEEN
MOUNTAIN HARE, *Lepus timidus Varronis*, AND BROWN
HARE, *L. europaeus***

Stamatis C.¹, Suchentrunk F.², Mamuris Z.¹

¹Dept. of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, ²Research Institute of
Wildlife Ecology, Vienna, Austria

Hares (genus *Lepus*) represent a difficult taxonomic group, because of high intra-specific morphological variation and wide inter-specific overlap in most morphological characters. This might, at least in part, be due to the recent evolutionary history of this group, shallow phylogenetic divergence among many taxa, and the probability of reticulate evolution. In the present study, we investigate whether or not introgressive hybridization between two phylogenetically well-separated species, *Lepus timidus* and *L. europaeus*, does occur in the Swiss Alps. We screened 87 mountain hares and 126 brown hares from Switzerland for diagnostic nuclear and mtDNA characters. Among all 53 structural (allozyme) in the two species, only the Sdh- (Sdh*A for *L. europaeus*, Sdh*B for *L. timidus*), and the Acp-I (Acp-I*A for *L. europaeus* and the Asp-I*B for *L. timidus*) loci were diagnostic. The presence of the respective alternate alleles of both loci in either species indicates nuclear introgression in both species. As for the mtDNA, we used PCR-amplified fragments (CR/cyt b, COI, 12S/16S rRNA), digested with restriction endonucleases. This resulted in 10 diagnostic haplotypes for *L. europaeus* and nine for *L. timidus*. Based on the combined analysis of the nuclear and mtDNA markers, 12 (13.8%) phenotypic *L. timidus* and ten (7.9%) *L. europaeus* were introgressed (second or higher generation hybrids). Although unidirectional introgression of *L. timidus*-type mtDNA into wild living *L. europaeus* from Sweden has been described, so far no bi-directional or nuclear evidence of introgression has been found. In general, hybridization might cause reduced developmental homeostasis. Reduced developmental canalization would raise the inter-individual character variation in populations, and thus likely increase the morphological overlap between the species involved. On the other hand, a certain allelic component of inter-individual character variation cannot be fully excluded. In this latter case, increased genetic diversity of introgressed hares might lead to higher inter-individual variation among morphological characters. However, morphological variation within single species or big overlaps between species should particularly result from introgression, if introgressed individuals were quite common spatially and temporarily.

ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ, ΕΚΦΡΑΣΗ ΚΑΙ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ GLU-ADT ΑΠΟ ΤΟ ΑΡΧΑΙΟ *Pyrococcus abyssi*Σταματοπούλου Β.¹, Blaise M.², Becker H.², Kern D.² & Κ. Σταθόπουλος¹¹Τμ Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πλούτωνος 26, 41221 Λάρισα²Inst. de Biologie Moléculaire et Cellulaire, CNRS, 15 Rue R. Descartes 67084, Strasbourg, France

Η σύνθεση αμινοακυλο-tRNA μορίων είναι μία κεντρική κυτταρική διαδικασία που καταλύεται από μία ιδιαίτερη οικογένεια ενζύμων που καλούνται αμινοάκυλο-tRNA συνθετάσες (aaRSs). Παρά τη γενική παραδοχή της ύπαρξης 20 ενζύμων, ένα για κάθε αμινοξύ, γενωμικές αναλύσεις δείχνουν ότι στην πραγματικότητα στα περισσότερα βακτήρια και σε αρκετά αρχαία η σύνθεση Asn-tRNA^{Asn} και Gln-tRNA^{Gln} καταλύεται από ειδικά ένζυμα, τα οποία καλούνται tRNA αμιδοτρανσφεράσες (amidotransferases, AdTs) και χωρίζονται σε δύο κύριες κατηγορίες. Η πρώτη περιλαμβάνει ετεροτριμερή ένζυμα με διπλή δραστηριότητα ενώ η δεύτερη συναντάται μόνο σε αρχαία, διαφέρει δομικά (ετεροδιμερή) και κωδικοποιούνται από τα γονίδια *gatD* και *gatE*. Η δεύτερη αυτή κατηγορία αμιδοτρανσφερασών δείχνει επίσης απλή εξειδίκευση μόνο ως προς την σύνθεση Gln-tRNA^{Gln}, χρησιμοποιώντας ως βασικό δότη αμινομάδων το γλουταμινικό οξύ (Glu). Για την μελέτη και τον βιοχημικό χαρακτηρισμό της ομάδας αυτής των ενζύμων, κλωνοποιήσαμε τα γονίδια *gatD* και *gatE* από το θερμόφιλο αρχαίο *Pyrococcus abyssi* με PCR, χρησιμοποιώντας γενωμικό DNA το οποίο απομονώθηκε από κύτταρα. Τα προϊόντα της αντίδρασης υποκλωνοποιήθηκαν ξεχωριστά σε πλασμιδιακούς φορείς (pET) οι οποίοι επιτρέπουν την έκφραση των αντίστοιχων πρωτεϊνών με επιπρόσθετες ιστιδίνες στο άκρο τους, για τον επακόλουθο καθαρισμό τους με χρωματογραφία συγγένειας (Ni-NTA agarose). Ακολούθησε μετασχηματισμός ειδικών στελεχών *E. coli* (BL21-Rosetta), και τέλος καθαρισμός των αντίστοιχων πρωτεϊνών μετά από επαγωγή της έκφρασης. Ταυτόχρονα τα γονίδια *gatD* και *gatE* κλωνοποιήθηκαν με την μορφή οπερονίου (*gatDE*) και μελετήθηκε η δυνατότητα έκφρασης του και ο καθαρισμός του ολοενζύμου με την μορφή αυτή.

CLONING, EXPRESSION AND PURIFICATION OF GLU-ADT FROM THE ARCHAEON *Pyrococcus abyssi*

Stamatopoulou V¹, Blaise M.², Becker H.², Kern D.² & C. Stathopoulos¹

¹Dept of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, 26 Ploutonos st., 41221
Larissa, Greece

²Inst. de Biologie Moléculaire et Cellulaire, CNRS, 15 Rue R. Descartes 67084, Strasbourg,
France

Aminoacyl-tRNA synthesis is an essential cellular process, which is catalyzed by an evolutionary conserved family of enzymes called aminoacyl-tRNA synthetases (aaRSs). The notion that 20 of these synthetases exist, one for each amino acid, was challenged by current genomic analyses indicating that in most bacteria and some archaea the formation of Asn-tRNA^{Asn} και Gln-tRNA^{Gln} is carried out by tRNA-dependent enzymes, called tRNA-amidotransferases (AdTs) that are divided in two basic groups. The first one includes heterotrimeric enzymes with dual-specificity, while the second group includes enzymes found only in archaea, they differ in structure (heterodimers) and exhibit single-specificity. The latest are encoded by the *gatD* and *gatE* genes in the archaeal genomes. This second group of amidotransferases is involved only in the Gln-tRNA^{Gln} formation by using glutamic acid (Glu) as aminogroup donor. In order to elucidate the biochemical features of these enzymes, we cloned the *gatD* and *gat E* from the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus abyssi*, and we amplified the genes by PCR using as a template genomic DNA isolated from cells. The PCR products were cloned separately in over-expression plasmid vectors (pET), which allow the expression of His₆-tagged recombinant proteins, thus facilitating the subsequent purification using affinity chromatography (Ni-NTA agarose). The cloned products were transformed into *E.coli* strains (BL21 Rosetta) and after induction of gene expression we purified the recombinant proteins, separately. At the same time the *gatD* και *gat E* genes were cloned together, in an operon-like manner (*gatDE*), and we tested the ability of the holoenzyme production and the yield of purification.

**«ΠΟΡΩΔΗΣ ΥΠΕΡΟΣΤΩΣΗ»: Η ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΗ ΕΚΡΗΣΗ ΣΤΗΝ
ΠΡΟΪΣΤΟΡΙΚΗ ΕΛΛΑΔΑ. ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ ΤΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ, ΝΕΕΣ
ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ****Στραβοπόδη Ε.¹, Κουσουλάκος Σ.², Αλεπόρου-Μαρίνου Β.³ και Σ.Κ. Μανώλης¹**

¹Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, ²Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής,
³Τομέας Γενετικής & Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 157 84, Αθήνα. E-mail: smanol@biol.uoa.gr

Η παρούσα έρευνα μελετά την ταυτότητα, βιογεωγραφία και αιτιολογία της «πορώδους υπερόστωσης», μιας οστικής αλλοίωσης στις προϊστορικές κοινωνίες. Εκτός από την μακροσκοπική εξέταση, επιχειρείται η ιστολογική επεξεργασία, με σκοπό τη διαφορική διάγνωση, την δημιουργία τράπεζας δεδομένων παθολογικού οστίτη ιστού καθώς και στην εφαρμογή αναλυτικών μεθόδων στην παλαιοπαθολογική έρευνα.

Συζητείται η μικροεξελικτική διαδικασία της παθολογίας, ο πολυπαραγοντικός της χαρακτήρας καθώς και τα τεχνικά πρωτόκολλα.

Επίσης προτείνονται νέα μοντέλα μέσα από επαναπροσδιορισμό των μεθόδων.

**“POROTIC HYPEROSTOSIS”: AN EPIDEMIC OUTBREAK IN
PREHISTORIC GREECE. REVISITING THE DATA, SHIFTING TO NEW
CONCEPTS****Stravopodi E., Kousoulakos S., Aleporou-Marinou V. and S.K. Manolis**

¹Dept of Animal & Human Physiology, ²Dept of Cell Biology & Biophysics, ³Dept of
Genetics & Biotechnology, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of
Athens, Panepistimiopolis 15784 Zografou Athens- Greece

This project focuses on the identity, biogeography and etiology of "porotic hyperostosis", bone pathology of humans in prehistoric Greece. Beyond the clinical study, the investigation of the histological profile of the feature is attempted, in order to establish a differential diagnosis, a data bank of pathological tissues in prehistoric collections and introduce new analytical techniques in paleopathological research for further physical evidence.

The micro-regional prevalence of the disease and its multi-factorial character is discussed. A revision of the current model is proposed upon the new research design.

ΤΑ ΠΡΑΚΤΙΚΑ ΚΑΙ ΟΙ ΟΜΙΛΙΕΣ ΤΩΝ ΣΥΝΕΔΡΙΩΝ ΣΕ CD ΚΑΙ DVD

Οι εφαρμογές των πολυμέσων έχουν χρησιμοποιηθεί εδώ και πολλά χρόνια στα συνέδρια της Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών και περιλαμβάνουν την καταγραφή όλων σχεδόν των δραστηριοτήτων (προσφωνήσεις, διαλέξεις, ανακοινώσεις, στρογγυλές τράπεζες, κλπ.).



Βρισκόμαστε στην ευχάριστη θέση να πληροφορήσουμε τους ενδιαφερόμενους, ότι υπάρχουν ήδη διαθέσιμα σε DVD οι παρουσιάσεις των συνεδρίων 2002 (Ερέτρια) και 2003 (Λέσβος). καθώς και σε CD τα Πρακτικά των συνεδρίων 1999-2003

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΗΛΙΚΙΑΣ ΚΑΙ ΑΥΞΗΣΗΣ ΤΟΥ ΝΕΡΟΒΑΤΡΑΧΟΥ
Rana ridibunda (ΑΜΦΙΒΙΑ, ΑΝΟΥΡΑ) ΤΗΣ ΚΥΠΡΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ
ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΟΣΤΕΟΧΡΟΝΟΛΟΓΗΣΗΣ****Στυλιανού Π. και Π. Κυριακοπούλου-Σκλαβούνου**Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 541 24
Θεσσαλονίκη

Η ηλικία και η αύξηση ατόμων δύο πληθυσμών νεροβατράχων *Rana ridibunda* από την Ελλάδα και την Κύπρο μελετήθηκαν με τη μέθοδο της οστεοχρονολόγησης. Η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται ευρέως στα Αμφίβια και Ερπετά της εύκρατης ζώνης, στα οποία η αύξηση είναι κυκλική. Η ηλικία και η αύξηση προσδιορίστηκε με τη μέτρηση του αριθμού των ετήσιων δακτυλίων που δημιουργούνται στις φάλαγγες κατά τη διάρκεια της διαχείμανσης. Οι δακτύλιοι αυτοί γίνονται ορατοί σε εγκάρσιες τομές οστών μετά από κατάλληλη διεργασία χρώσης των τομών. Τα αποτελέσματα αυτής της εργασίας έδειξαν ότι στο είδος *R. ridibunda* οι ηλικίες κυμαίνονται από 1-5 έτη και στα δύο φύλα. Η μέση ηλικία είναι λίγο μεγαλύτερη στα θηλυκά. Το μήκος σώματος των ζώων έχει μια θετική συσχέτιση με την ηλικία. Επίσης φάνηκε ότι τα ώριμα θηλυκά έχουν μεγαλύτερο μήκος από τα ώριμα αρσενικά της ίδιας ηλικίας κι ότι τα αρσενικά ωριμάζουν νωρίτερα από τα θηλυκά. Η απορρόφηση του ενδόστεου δεν αποτελεί μεγάλο πρόβλημα για το είδος αυτό. Η αύξηση των ατόμων προσαρμόζεται στο μοντέλο του Bertalanffy. Ο συντελεστής αύξησης (K) είναι 0.43 στα αρσενικά και 0.34 στα θηλυκά. Αυτό είναι μια ένδειξη ότι ο αναπτυξιακός ρυθμός στα αρσενικά άτομα μειώνεται αμέσως μετά την ωρίμανση, ενώ στα θηλυκά συνεχίζει για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Η τεχνική της οστεοχρονολόγησης έδωσε χρήσιμες πληροφορίες για την αύξηση και τη διάρκεια ζωής του είδους *R. ridibunda* που δεν θα μπορούσαν αλλιώς να αποκτηθούν σε τόσο σύντομο χρονικό διάστημα.

AGE AND GROWTH DETERMINATION OF WATERFROG *Rana ridibunda* (AMPHIBIA, ANURANS) FROM CYPRUS AND GREECE BY THE METHOD OF SKELETOCHRONOLOGY

Stylianou P. & P. Kyriakopoulou-Sklavounou

Dept of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 541 24
Thessaloniki

Age and growth of individuals of two populations of *Rana ridibunda* from Greece and Cyprus were studied using skeletochronology. This method is widely used in Amphibians and Reptiles of the temperate zone in which annual growth is cyclic. Age and growth was assessed by counting the number of lines of arrested growth (LAGs) during the hibernating period, in cross-sections phalanges. The LAGS became visible after the treatment with an applicable pigment. The results of this study showed that in species *R. ridibunda* ages ranged from 1-5 years in both sexes. The mean age is larger in females. Body size and age were positively correlated in both males and females. Furthermore, mean body length was greater in females than in males, while males matured earlier than females. Endosteal resorption that may have eroded away the first resting lines (RL) occurs in a low degree in this species. Growth of adults was fitted by Bertalanffy model. The growth coefficient (K) was 0.43 in males and 0.34 in females, mainly reflected as faster male growth between metamorphosis and maturation. In conclusion the use of phalangeal growth marks provided detailed information on growth and maturation of *R. ridibunda* that could not otherwise have been obtained in a short period of time.

**ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΩΝ ΣΕΙΡΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΡΡΕΝΟ-ΕΙΔΙΚΗ
ΥΠΕΡΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΛΚΟΟΛΙΚΗΣ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗΣ ΣΤΗ
ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΜΥΓΑ****Τατάρη Μ.¹, Θεοδωράκη Μ.Α.¹, Χρυσάνθης Γ.¹, Ζαχαροπούλου Α.¹,
Κομητοπούλου Α.², Μίντζας Α.¹**¹Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, ²Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Στόχος της παρούσης μελέτης είναι η κατασκευή αποτελεσματικών στελεχών διαχωρισμού του φύλου (ΣΔΦ), μέσω διαγονιδιακής τεχνολογίας, για τη βελτίωση της μεθόδου βιολογικού ελέγχου SIT. Αρκετά ΣΔΦ έχουν απομονωθεί με γενετικές μεθόδους και μερικά από αυτά έχουν χρησιμοποιηθεί σε προγράμματα SIT. Η διαγονιδιακή τεχνολογία επιτρέπει εναλλακτικούς τρόπους δημιουργίας ΣΔΦ, όπως για παράδειγμα την κατασκευή ενός στελέχους που θα περιέχει το γονίδιο της αλκοολικής αφυδρογονάσης (ADH) υπό τον έλεγχο ενός ισχυρού άρρενο-ειδικού υποκινητή με αποτέλεσμα το θάνατο των θηλυκών ατόμων παρουσία αυξημένων συγκεντρώσεων αλκοόλης. Σε προηγούμενες μελέτες έχουν κλωνοποιηθεί οι υποκινητές μιας οικογένειας άρρενο-ειδικών γονιδίων της Μεσογειακής μύγας, *mssp-a1*, *-a2*, *-β1*, *-β2* και *-γ2* και έχει γίνει ο λειτουργικός χαρακτηρισμός των *mssp-a2* και *-β2* υποκινητών. Οι μελέτες αυτές υποστηρίζουν τη δυνατότητα δημιουργίας ΣΔΦ τα οποία θα εκφράζουν υψηλά επίπεδα ADH στα αρσενικά άτομα.

Χρησιμοποιώντας το γονίδιο της ADH της *D. melanogaster* (*Dmadh*) υπό τον έλεγχο του τμήματος -522/+37 του υποκινητή του *MSSP-a2* γονιδίου, το οποίο περιλαμβάνει πιθανά ενισχυτικά στοιχεία, κατασκευάστηκαν 35 διαφορετικές ομόζυγες διαγονιδιακές σειρές Μεσογειακής μύγας. Οι ενθέσεις των παραπάνω σειρών χαρακτηρίστηκαν με ανάλυση κατά Southern. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι 33 από τις παραπάνω σειρές περιείχαν μία μόνο ένθεση στο DNA τους. Τα επίπεδα έκφρασης του *Dmadh* διαγονιδίου μελετήθηκε με ανάλυση κατά Northern. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα διαγονιδιακά στελέχη παρουσίασαν σημαντικές διαφορές στα επίπεδα του *Dmadh* mRNA, ενώ δύο από αυτά παρουσίασαν ιδιαίτερα αυξημένα επίπεδα διαγονιδιακού mRNA γεγονός που υποδηλώνει ότι τα στελέχη αυτά πιθανόν να αποδειχθούν κατάλληλα για διαχωρισμό του φύλου.

CONSTRUCTION OF TRANSGENIC LINES FOR ENHANCED MALE-SPECIFIC EXPRESSION OF ALCOHOL DEHYDROGENASE IN THE MEDITERRANEAN FRUIT FLY

Tatari M.¹, Theodoraki M.A.¹, Chrysanthis G.¹, Zacharopoulou A.¹,
Komitopoulou A.², Mintzas A.¹

¹Department of Biology, University of Patras, ²Department of Biology, University of Athens

The objective of the present study is the development of effective genetic sexing strains (GSS) for improvement of the effectiveness of the SIT- pest control method in the medfly, via gene transfer technology. Current medfly SIT programs use genetic sexing strains (GSS) carrying chromosome aberrations. However these strains tend to be unstable and reduce the fitness of the insects, making them less effective agents for SIT. An alternative method for making GSS is to use transgenic technology. For example, a transgenic strain containing the gene of the alcohol dehydrogenase (ADH) under the control of a strong male-specific promoter could be used for sexing, by killing the females in the presence of high concentration of alcohol. In previous studies the promoters of a medfly multigene family of male-specific genes, *mssp-a1*, *-a2*, *-β1*, *-β2* and *-γ2*, have been cloned and the promoters of *mssp-a2* and *-β2* genes have been functionally characterised. These studies suggested the possibility of developing GSS expressing high levels of ADH in the male flies only.

Using the *D. melanogaster adh* gene (*Dmadh*) under the control of the -522/+37 fragment of the *mssp-a2* promoter, which includes potential enhancing elements, we developed 35 different transgenic medfly lines. The insertions of these lines were studied by Southern analysis. The results showed that 33 of these lines had only one insertion in their DNA suggesting strong position effects in the medfly genome. The expression levels of the *Dmadh* transgene were estimated by Northern analysis. The results indicated that the transgenic strains had important differences in their *Dmadh* mRNA levels, while two of them presented particularly high transgenic mRNA, suggesting that these strains could prove effective for genetic sexing.

**ΧΡΗΣΗ ΕΝΟΣ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΜΑΤΟΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΙΑΣ
ΓΙΑ ΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΤΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΣΤΟ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΟ****Tchamitchian M. και K. Κίττας**

Εργαστήριο Γεωργικών Κατασκευών και Ελέγχου Περιβάλλοντος, Τμήμα Γεωπονίας,
Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, ,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Οδός Φυτόκου, 38446, Ν. Ιωνία Μαγνησίας

Στα θερμοκήπια, η συμπεριφορά της καλλιέργειας (αύξηση-ανάπτυξη) μπορεί να ελεγχθεί κυρίως μέσα από τη ρύθμιση της θερμοκρασίας. Η θέρμανση των θερμοκηπίων αποτελεί το σημαντικότερο κόστος, μετά το κόστος εργασίας. Συνεπώς, η ρύθμιση της θερμοκρασίας αποτελεί σημαντική αλλά και δύσκολη διαδικασία. Στην καλλιέργεια, οι περισσότερες φυσιολογικές διαδικασίες όπως η φωτοσύνθεση, η αναπνοή, η αύξηση και η ανάπτυξη επηρεάζονται από τη θερμοκρασία. Παρόλα αυτά, η βέλτιστη τιμή της θερμοκρασίας δεν είναι απαραίτητα η ίδια για όλες τις παραπάνω φυσιολογικές διεργασίες. Στις περισσότερες εργασίες, χρησιμοποιείται ένα υποπροσομοίωμα της καλλιέργειας (παραγωγή ξηράς ουσίας, εμφάνιση ανθέων, αύξηση της φυλλικής επιφάνειας) μέσω του οποίου γίνεται η βελτιστοποίηση των επιπέδων της θερμοκρασίας. Στη συγκεκριμένη εργασία και προκειμένου να ξεπεραστεί το πρόβλημα αυτό, χρησιμοποιήθηκε πολυμεταβλητός ελέγχος λαμβάνοντας υπόψη διάφορα υπο-προσομοιώματα της καλλιέργειας. Έτσι, για μια καλλιέργεια τριανταφυλλιάς, ο ρυθμός εμφάνισης ανθέων τα οποία βρίσκονται στο στάδιο της συγκομιδής είναι το αποτέλεσμα δύο επιμέρους, ανεξάρτητων διαδικασιών (έκπτυση ανθέων, αύξηση-ανάπτυξη), οι οποίες προσομοιώνονται ξεχωριστά. Με τη βοήθεια των παραπάνω προσομοιωμάτων γίνεται βελτιστοποίηση της ημερήσιας πορείας της θερμοκρασίας στο θερμοκήπιο, προκειμένου να επιτευχθούν στόχοι, όπως η μέγιστη ανάπτυξη και αύξηση της καλλιέργειας και η μείωση της κατανάλωσης ενέργειας, ανάλογα με τη βαρύτητα που δίνεται από τον παραγωγό σε καθένα από τους στόχους αυτούς.

AN ALTERNATIVE ROSE CROP MODEL FOR GREENHOUSE TEMPERATURE CONTROL

Tchamitchian M. and C. Kittas

Dept of Agriculture, Crop Production and Rural Environment, School of Agricultural Sciences, University of Thessaly, Phytokou St., N. Ionia, GR-38446, Magnisia, Greece.

E-mail: ckittas@uth.gr, Marc.Tchamitchian@avignon.inra.fr

In greenhouses, the behaviour of the crop can be controlled by manipulating the climate. Temperature is the main controlled climate variable controlled. Heating represents one of the main running costs of greenhouses, after labour. Deciding upon the adequate temperature in the greenhouse is therefore paramount, but a difficult problem. Part of the behaviour of the crop is driven by temperature: photosynthesis; respiration; growth and development. However, the optimal temperature for one of these functions may not be the best for another. Therefore conflicting interests may arise.

In most studies, temperature optimisation tries to maximise the harvest or the benefit from crop. To overcome this major drawback, we have chosen to reconsider both the criterion used and the underlying model of the production. A multicriteria approach has been selected and the model is built as a set of sub-models, each devoted to the simulation of a given process and sharing some variables when necessary. For rose production, the rate at which new flowers are available for harvest is the result of the two key processes, which are modelled independently. First, flowering shoots must be initiated, second they must grow into flowers. On a given day, the current climate will drive both rates. Dry matter production is also modelled through a carbon balance model.

These models will be used to optimise the daily course of greenhouse temperature, according to a goal set by the grower. The balance between development, growth and energy expenditure will be set by the grower. Using simulations, standard temperature control strategies will be evaluated and then iteratively modified to enhance the criterion.

**ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ ΤΟΥ ΑΕΡΟΘΥΛΑΚΑ ΓΙΑ
ΤΟΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ****Τέστα Θ.¹, Κουρελής Α.¹, Κοτζαμανίδης Χ.¹, Περούλης Ν.¹,
Τζανετάκης Ν.², Γιάγκου Μ.¹**¹Τομέας Γενετ., Αναπτ. Και Μορ. Βιολ., Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ.²Εργαστ. Μικροβιολ. και Υγιειν. Τροφ., Τμήμα Γεωπονίας, Α.Π.Θ.

Ένα από τα κριτήρια για το χαρακτηρισμό βακτηρίων ως προβιοτικά είναι η ικανότητά τους να τροποποιούν το ανοσοβιολογικό σύστημα του ξενιστή. Η διαδικασία αυτή είναι χρονοβόρα αφού προϋποθέτει τη σίτιση του ξενιστή για διάστημα 2-3 εβδομάδων. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο του ραχιαίου αεροθύλακα για τη μελέτη της επίδρασης του προβιοτικού στελέχους *Lactobacillus acidophilus* NCFB⁽¹⁾1748 και του μη προβιοτικού στελέχους *Lactobacillus helveticus* Wiesby σε διάφορες ανοσοβιολογικές παραμέτρους. Μία ώρα μετά τη χορήγηση στον αεροθύλακα 10^9 κυττάρων είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση τόσο στον αριθμό κυττάρων που συσσωρεύονται στον αεροθύλακα όσο και στην ικανότητά τους να φαγοκυτταρώνουν ζύμες. Η αύξηση αυτή, ήταν κατά πολύ μεγαλύτερη στην περίπτωση του προβιοτικού στελέχους. Επιπλέον, στο εξίδρωμα των αεροθυλάκων προσδιορίστηκαν, με ανάλυση κατά Western, τα επίπεδα των κυτοκινών της IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, TNF α , IFN- γ καθώς και οι παράγοντες φλεγμονής COX-1 και COX-2. Τα αποτελέσματα έδειξαν ανίχνευση μόνο των κυτοκινών της IL-6, TNF α και IFN- γ και ήταν αυξημένες μόνο στο εξίδρωμα του αεροθύλακα που χορηγήθηκε το προβιοτικό στέλεχος. Τα παραπάνω δείχνουν ότι η χορήγηση του *L. acidophilus* δεν επάγει φλεγμονή και προάγει την Th1 ανοσοβιολογική απόκριση. Η επίδραση του *L. acidophilus* στις παραπάνω ανοσοβιολογικές παραμέτρους στον αεροθύλακα είναι παρόμοια με την επίδρασή άλλων προβιοτικών στελεχών του ίδιου είδους έπειτα από μακρόχρονη χορήγησή τους μέσω της διατροφής. Τα παραπάνω καθιστούν τον αεροθύλακα ένα κατάλληλο μοντέλο για τον χαρακτηρισμό προβιοτικών στελεχών αφού δεν είναι χρονοβόρο ενώ ταυτόχρονα δίνει τη δυνατότητα μελέτης πολλών ανοσοβιολογικών παραμέτρων.

(1) National Collection of Food Bacteria

THE AIR POUCH MODEL AND CHARACTERIZATION OF PROBIOTIC MICROORGANISMS

Testa T.¹, Kourelis A.¹, Kotzamanidis C.¹, Peroulis N.¹,
Tzanetakis N.², Yiangou M.¹

¹Dept. Genet., Develop. & Mol. Biol., Sch. Biol., Aristotle University of Thessaloniki

²Laboratory of Food Microbiology & Hygiene, Faculty of Agric, Aristotle University of Thessaloniki

One effective probiotic activity is the ability of the microorganism to modulate a host's immunity. However, the above characterization requires sdequate amount of time. In the present study we used the air pouch model to determine the effect of the probiotic *Lactobacillus acidophilus* NCFB⁽¹⁾I748 strain and the non probiotic *Lactobacillus helveticus* Wiesby strain on some immunological parameters. Administration of 10⁹ bacterial cells in rat air pouches results in increased number of cells accumulated in air pouch and in significant increase of phagolytic activity. However, probiotic strain of *Lactobacillus acidophilus* responded stronger than *Lactobacillus helveticus*. Western analysis to detect certain cytokines such as IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, TNF α , IFN- γ and COX-1 and COX-2 in air pouch exudates revealed that only IL-6, TNF α , IFN- γ were significantly increased in *L. acidophilus* treated air pouches suggesting a Th1 type immune response. The above data are similar with previous studies after oral administration of *L. acidophilus* for long time. Taken together the above data indicate that the air pouch could serve as model to characterize probiotic microorganisms since is fast and detects adequate number of immunological parameters.

Η ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΕΝΟΣ ΠΟΛΥ ΑΝΤΙ-ΥΙGSR-FAB ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ ΠΟΥ ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΕΙ ΩΣ ΑΝΤΙΜΕΤΑΣΤΑΤΙΚΟ ΕΜΒΟΛΙΟ

Τοπουρίδου Κ., Χριστοφορίδου Μ., Κολιάκος Γ.

Εργαστήριο της Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής ΑΠΘ και Εργαστήριο Κλινικής Ογκολογίας, Θεαγένειο Αντικαρκινικό Ινστιτούτο Θεσσαλονίκη.

Σκοπός: Το συνθετικό πενταπεπτίδιο της λαμινίνης τυροσυλ-ισολευκύλ-γλυκυλ-σερυλ-αργινίνη (ΥΙGSR), συνδέεται με έναν υποδοχέα που σχετίζεται με την μεταστατική ικανότητα και αναστέλλει την πειραματική μετάσταση και την ανάπτυξη των όγκων. Το ίδιο πεπτίδιο, ραδιοσημασμένο χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση όγκων και μεταστάσεων σε ποντικούς με καρκίνωμα του πνεύμονα τύπου Lewis και με μελάνωμα. Επιπλέον έχει αναφερθεί η χρήση σε πειραματόζωα ενός αντιιδιοτυπικού εμβολίου που βασίζονταν στο πεπτίδιο ΥΙGSR και εμπόδιζε την αυθόρμητη μετάσταση. Στην παρούσα μελέτη παρασκευάσαμε πολυσθενή μόρια αντι-ΥΙGSR-Fab, τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εμβόλιο για την παραγωγή αντι-ιδιοτυπικών ΥΙGSR αντισωμάτων (αντι-Id-ΥΙGSR Ab).

Μέθοδος: Η IgG απομονώθηκε από ορό κουνελιών ανοσοποιημένων με ΥΙGSR με καθίζηση άλατος θειικού αμμωνίου και καθαρισμό σε στήλη πρωτεΐνης A. Τα τεμάχια Fab παρασκευάστηκαν με πέψη με σφαιρίδια παπαΐνης και καθαρίστηκαν σε χρωματογραφία πρωτεΐνης A. Τα τεμάχια Fab συνδέθηκαν έπειτα σε πολυλυσίνη. Τα μόρια που προέκυψαν χρησιμοποιήθηκαν για να ανοσοποιήσουμε 6 ποντίκια. Έγιναν τρεις χορηγήσεις, η πρώτη με πλήρες και οι άλλες δύο με ελλίπες ανοσοενισχυτικό του Freud. Η παρουσία του αντι-Id-ΥΙGSR Ab ελέγχθηκε με ELISA, με την παρεμπόδιση σύνδεσης κυττάρων σε πεπτίδιο και με την παρεμπόδιση σύνδεσης ραδιοσημασμένου ΥΙGSR σε κύτταρα Hep-2.

Αποτελέσματα: Τα πολυμερή-πολυλυσίνης-Fab ήταν σε θέση να δημιουργήσουν μια αντιγονική απάντηση στα ποντίκια όπως αυτό ανιχνεύονταν με ELISA. Ο ορός ποντικών αντι-Id-ΥΙGSR Ab, ήταν σε θέση να εμποδίσει τη σύνδεση των κυττάρων στο πεπτίδιο και τη σύνδεση του ραδιενεργού ΥΙGSR στα κύτταρα Hep-2. Δεν παρατηρήθηκαν παρενέργειες στα ανοσοποιημένα ποντίκια.

Συμπέρασμα: Τα αποτελέσματα μας δείχνουν ότι πολυμερή-πολυλυσίνης-Fab μπορεί να χρησιμοποιηθούν ως εμβόλιο για την παραγωγή αντισωμάτων αντι-Id-ΥΙGSR Ab.

PREPARATION OF A POLY ANTI-YIGSR-FAB ANTIGEN THAT CAN BE USED AS AN ANTIMETASTATIC VACCINE

Topouridou K., Christoforidou M., Koliakos G.

Laboratory of Biological Chemistry, Medical School, AUTH and Laboratory of Clinical Oncology, Theagenion Anticancer Institute Thessaloniki.

Purpose: The synthetic laminin pentapeptide tyrosyl-isoleukyl-glycyl-seryl-arginine (YIGSR), binds to a metastasis-associated receptor and inhibits experimental metastasis and tumor growth. The radiolabeled peptide has been used to detect spontaneous metastasis in Lewis Lung carcinoma and melanoma bearing mice. Furthermore an anti-Id vaccine based on peptide YIGSR that inhibits spontaneous metastasis in Lewis Lung carcinoma bearing mice has been reported. In the present study we prepared polyvalent anti-YIGSR Fab fragments that can be used as a vaccine to initiate anti-Id YIGSR Ab production.

Methods: IgG was purified from YIGSR immunized rabbit serum by ammonium sulphate precipitation and protein A purification. Fab fragments were prepared with papain beads and purified on a protein A column. Fab fragments were then attached on polylysine. Polylysine attached Fab fragments were then used to immunize 6 mice. Three boosts, the first with complete and the other two with incomplete Freud's adjuvant have been done. The presence of an anti-Id YIGSR Ab was then verified by ELISA, cell attachment inhibition and peptide YIGSR-cell binding assays performed on Hep-2 cells.

Results: The polylysine-attached fragments were able to raise an antigenic response to the mice as detected by ELISA. The anti-Id YIGSR mouse serum was able to inhibit cell attachment and radiolabeled YIGSR binding to Hep-2 cells. No adverse effects were observed in immunized mice.

Conclusion: These data indicate that a polylysine anti-Fab molecule may be used as a vaccine for raising anti-Id YIGSR antibodies.

**ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΠΕΡΔΙΚΑΣ -
ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

¹Τριανταφυλλίδης Α., ¹Τηλαβερίδου Κ., ¹Καρατζάς Δ., ¹Γεωργιάδου Μ., ¹Δρίκος Ι.,
³Χατζηνίκος Ε., ³Μάνιος Ν., ²Παπαγεωργίου Ν. & ^{1*}Τριανταφυλλίδης Κ.

¹Τμήμα Βιολογίας, ²Τμήμα Δασολογίας & Φυσικού Περιβάλλοντος, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη

³Δ' Κυνηγετική Ομοσπονδία Στερεάς Ελλάδος, Φωκίωνος 8 & Ερμού, 10563, Αθήνα

*E-mail: triant@bio.auth.gr, Τηλ: 2310998309, Fax: 998374

Στον Ελλαδικό χώρο απαντούν δύο είδη πέρδικας *Alectoris*: 1) Η ορεινή πέρδικα *Alectoris graeca* που αποτελεί βασικό και δημοφιλές θήραμα για χιλιάδες κυνηγούς (και ίσως εξαιτίας αυτού του γεγονότος έχει παρατηρηθεί μείωση των πληθυσμών της) και 2) Η νησιώτικη πέρδικα *Alectoris chukar*, που εκτρέφεται σε ευρεία κλίμακα και απελευθερώνεται σχεδόν σε όλη την Ελλάδα, αν και τα τελευταία χρόνια έχει απαγορευθεί η απελευθέρωση της σε περιοχές εκτός των φυσικών βιοτόπων της. Στα πλαίσια προγράμματος της Δ' Κυνηγετικής Ομοσπονδίας Στερεάς Ελλάδος γίνεται προσπάθεια με τη βοήθεια μοριακών DNA μεθόδων να εκτιμηθεί: α) Η γενετική δομή και ο βαθμός της γενετικής ποικιλότητας των φυσικών πληθυσμών των δύο ειδών, β) Η ύπαρξη υβριδισμών και η πιθανή επέκταση τους ανάμεσα στους φυσικούς πληθυσμούς των ειδών. Για το σκοπό αυτό συλλέχθηκαν δείγματα και από τα δύο είδη από αρκετές περιοχές της ηπειρωτικής και νησιωτικής Ελλάδας. Η ενίσχυση με την τεχνική της Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης (PCR) δύο περιοχών του μιτοχονδριακού DNA (βρόχος D και κυτόχρωμα b) και η πέψη των ενισχυμένων τμημάτων με I3 κατάλληλα ένζυμα περιορισμού επέτρεψε την ταυτοποίηση-διάκριση των δύο ειδών. Επίσης με την ενίσχυση δύο μικροδορυφορικών γονδιακών τόπων διαπιστώθηκε η ύπαρξη υβριδίων με τα περισσότερα από αυτά να εντοπίζονται στην Εύβοια και τα Κύθηρα. Η εργασία θα συνεχιστεί με μελέτη περισσότερων μοριακών δεικτών, με απώτερο στόχο την ανάπτυξη ενός ορθολογικού σχεδίου διαχείρισης της ορεινής και νησιώτικης πέρδικας, βασισμένο σε αξιόπιστα επιστημονικά δεδομένα.

GENETIC IDENTIFICATION OF GREEK PARTRIDGE - PRELIMINARY RESULTS

Triantafyllidis A.¹, Tilaveridou K.¹, Karatzas D.¹, Georgiadou M.¹, Drikos I.¹,
Hatzinikos E.³, Manios N.³, Papageorgiou N.² & C.Triantaphyllidis¹

¹School of Biology & ²School of Forestry and Natural Environment, AUTH, 54124,
Thessaloniki, Macedonia, Greece

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

*E-mail: triant@bio.auth.gr, Tel: 2310998309, Fax: 998374

Two *Alectoris* partridge species are found in Greece: 1) *Alectoris graeca* (distributed mostly in continental Greece), which has been favorite game for hunting around Greece. Its populations have been declining the past years possibly as a result of hunting pressure. 2) *Alectoris chukar* (found mostly in Greek islands), which is widely cultured and released around Greece, though its release has been recently restricted by law only to regions within its natural distribution. In the context of a programme, funded by the 4th Hunting Federation of Sterea Ellada, molecular methods are utilized in order to evaluate: i) The genetic structure and variability of natural *Alectoris* populations of both species, ii) the possible presence of hybrids between the two species. Samples of both species were collected from numerous sites around continental Greece and Greek Islands. The two species were successfully identified through the Polymerase Chain Reaction (PCR) amplification of two mitochondrial regions (D-loop and cytochrome b) and subsequent restriction analysis with 13 restriction enzymes. The amplification of two microsatellite regions was also used. Possible hybrids were identified, most of them located in Euboia and the island of Cythira. This work will be continued with analysis of additional molecular markers with the final aim of establishing a management plan of the two *Alectoris* species based on sound scientific data.

**ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΣΥΝΘΕΤΟΝΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΙΝΗ
ΓΡΑΜΜΙΚΩΝ ΤΕΡΜΑΤΙΚΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΣΤΗΝ ΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗ
ΜΕΜΒΡΑΝΗ ΤΟΥ ΘΑΛΑΣΣΙΟΥ ΡΟΔΟΦΥΚΟΥΣ *ERYTHROCLADIA*****Τσέκος Ι.**

Εργαστήριο Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, GR-54124 Θεσσαλονίκη, Μακεδονία, Ελλάς

Σήμερα υπάρχουν πολλά και ισχυρά δεδομένα ότι η βιοσύνθεση της κυτταρίνης συμβαίνει στη συνδεδεμένη με την πλασματική μεμβράνη συνθάση της κυτταρίνης. Έρευνες κατάψυξης-θραύσης της υπερμοριακής οργάνωσης της πλασματικής μεμβράνης υποστηρίζουν την άποψη ότι οι ροζέτες (ένα σύμπλοκο με έξη υπομονάδες) στα ανώτερα φυτά και αμφότερα ροζέτες και γραμμικά τερματικά σύμπλοκα (TCs) στα φύκη είναι οι δομές που συνθέτουν την κυτταρίνη και εκκρίνουν τα μικροϊνίδια της κυτταρίνης. Ένα τυπικό χαρακτηριστικό γνώρισμα των γραμμικών τερματικών συμπλόκων στα Ροδοφύκη είναι η περιοδική διάταξη των σωματιδιακών γραμμών, που είναι κάθετες προς τον επιμήκη άξονα των TCs. Στους αντιπροσώπους της υποκλάσης των Bangiophyceae τα μικροϊνίδια της κυτταρίνης είναι λεπτές, ταινιοειδείς δομές, πάχους 1-1.5 nm και πλάτους 5-70 nm. Τα τερματικά σύμπλοκα φαίνεται ότι κατασκευάζονται στο ενδοπλασματικό δίκτυο και μεταφέρονται ως μεγάλα γλοβοειδή σωματίδια στα σακίδια Golgi, όπου ενεργοποιούνται οι συνθάσες της κυτταρίνης και θα πρέπει να μεταφέρονται στην πλασματική μεμβράνη. Τα γλοβοειδή συντίθεται από μίαν κεντρική οπή με μικρές υπομονάδες που σχηματίζουν μία περιφερειακή κορυφογραμμή και φαίνεται να αντιπροσωπεύουν ζυμογόνους προβαθμίδες των γραμμικών τερματικών συμπλόκων. Στην πλασματική μεμβράνη τα γλοβοειδή (συγκροτούμενα από περισσότερες υπομονάδες) συσσωματώνονται, διογκώνονται και εκπύσσονται, και διατάσσονται πυκνά συμβάλλοντας στη μορφοποίηση των TCs. Αύξηση του μήκους του τερματικού συμπλόκου (TC) συμβαίνει κατά την έκπτυξη των γλοβοειδών που εφάπτονται και στα δύο άκρα του σχηματιζόμενου TC μέχρις όταν ολοκληρωθεί το TC. Στα Ροδοφύκη με γραμμικά TCs, η απόθεση των μικροϊνιδίων ακολουθεί ένα ακριβές πρότυπο που κατευθύνεται από την κίνηση και τον προσανατολισμό των TCs (μεμβρανική ροή). Ένα κύριο θέμα που πρέπει να υπογραμμισθεί είναι ότι η αρχιτεκτονική των μικροϊνιδίων της κυτταρίνης (μέγεθος, σχήμα, κρυσταλλικότητα και ενδομικροϊνιδιακές συζεύξεις) σχετίζονται απευθείας προς τη γεωμετρία των γραμμικών τερματικών συμπλόκων.

**THE FORMATION AND DEVELOPMENT OF CELLULOSE-
SYNTHESIZING LINEAR TERMINAL COMPLEXES (TCs) IN THE
PLASMA MEMBRANE OF THE MARINE RED ALGA *ERYTHROCLADIA***

Tsekos I.

Institute of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-54124
Thessaloniki, Macedonia, Hellas

There is now ample evidence that cellulose biosynthesis occurs at the plasma membrane-bound cellulose synthase. Freeze-fracture studies of the supramolecular organization of the plasma membrane support the view that the rosettes (a six-subunit complex) in higher plants and both rosettes and the linear terminal complexes (TCs) in algae are the structures that synthesize cellulose and secrete cellulose microfibrils. One typical feature of the linear terminal complexes in red algae is the periodic arrangement of the particle rows transverse to the longitudinal axis of the TCs. In bangiophyte red algae cellulose microfibrils are thin, ribbon-shaped structures, 1-1.5 nm thick and 5-70 nm wide. Terminal complexes appear to be made in the endoplasmic reticulum and are transferred as large globular particles (globules, precursor units) to Golgi cisternae, where the cellulose synthases are activated and may be transported to the plasma membrane. The globules are composed of a central hole (the core) with small subunits forming a peripheral ridge and seem to represent zymogenic precursors. In the plasma membrane the globules (consisting of more subunits) aggregate, swell and unfold, and become closely arranged contributing to TC assembly. Longitudinal elongation of the TC occurs by the unfolding of globules attached to both ends of the TC nucleation unit until the TC is completed (double row-formation centers). In the red algae with linear TCs, deposition of microfibrils follows a precise pattern directed by the movement and the orientation of the TCs (membrane flow). A principal underlying theme is that the architecture of cellulose microfibrils (size, shape, crystallinity, and intramicrofibrillar associations) is directly related to the geometry of TCs.

**Ο ΡΟΛΟΣ ΜΙΑΣ ΜΕΤΑΛΛΑΞΗΣ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΤΗΣ
ΠΑΡΟΜΟΜΥΚΙΝΗΣ ΣΤΟ 18S rRNA ΕΠΙ ΤΗΣ ΜΕΤΑΦΡΑΣΤΙΚΗΣ
ΠΙΣΤΟΤΗΤΑΣ****Τσελίκα Σ. και Δ. Συνετός**

Εργ. Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26110 Πάτρα

Το ζεύγος βάσεων C1409-G1491 του 16S rRNA της *E. coli* είναι σημαντικό για την υψηλή συγγένεια πρόσδεσης του αμινογλυκοζίτη παρομομυκίνη στο προκαρυωτικό ριβόσωμα και την ευαισθησία των κυττάρων στο αντιβιοτικό αυτό. Τα κύτταρα ζύμης είναι φυσικώς ανθεκτικά στην παρομομυκίνη και έχουν αδενίνη (A) αντί γουανίνης (G) στην θέση 1491. Εξετάσαμε την επίδραση της μετάλλαξης A1491G (*rdn15*) στο 18S rRNA του *Saccharomyces cerevisiae*. Η *rdn15* συνδυάστηκε με την μετάλλαξη *sup45-86* του ευκαρυωτικού παράγοντα τερματισμού I (eRF1), που προκαλεί καταστολή των κωδικίων λήξης. Η ευαισθησία του στελέχους *rdn15sup45* στην παρομομυκίνη δείχθηκε με την δοκιμασία αντίστασης έναντι αντιβιοτικού επί φίλτρου και επιβεβαιώθηκε με την αναστολή ανάπτυξης των κυττάρων σε υγρές καλλιέργειες: αναστολή κατά 50% προσδιορίστηκε στα 9.5 μM παρομομυκίνης για το *rdn15sup45* έναντι 52 μM για το *sup45*. Υψηλή ευαισθησία στην παρομομυκίνη συνήθως συνοδεύεται από μειωμένη μεταφραστική πιστότητα. *In vitro* πειράματα έδειξαν ότι η διπλή μετάλλαξη *rdn15sup45* αυξάνει σημαντικά την συχνότητα λάθους στο 0,0244 έναντι 0,0143 της *sup45*. Παρουσία παρομομυκίνης, το 50% της μέγιστης συχνότητας λάθους παρατηρήθηκε στα 12 μM παρομομυκίνης για την *rdn15sup45* έναντι 120 μM για την *sup45*. Η έκταση σύνθεσης πολυφαινυλαλανίνης ήταν παρόμοια για τα δύο στελέχη, αλλά το *rdn15sup45* στέλεχος έδειξε άνοδο της ενσωμάτωσης φαινυλαλανίνης με μόλις 2 μM παρομομυκίνης. Η πρόσδεση στην A θέση ήταν αυξημένη για το διπλά μεταλλαγμένο στέλεχος, όπως στις επιρρεπείς στα λάθη μεταλλάξεις. Συμπερασματικά, η παρομομυκίνη προκαλεί απώλεια της μεταφραστικής ακρίβειας και ευαισθησία στο *rdn15sup45* συγκριτικά προς το *sup45*. Τελικά, η μετάλλαξη *rdn15* δημιουργεί το ζεύγος βάσεων C1408-G1491 όπως στα προκαρυωτικά, που εξουδετερώνει την φυσική υψηλή ανθεκτικότητα του ριβοσώματος της ζύμης στην παρομομυκίνη.

Χρηματοδοτήθηκε από την Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας, Υπουργείο Ανάπτυξης (624/ΠΕΝΕΔ01)

THE ROLE OF A MUTATION IN THE 18S rRNA BINDING SITE OF PAROMOMYCIN IN TRANSLATIONAL FIDELITY

Tselika S. & D. Synetos

Lab. of Biochemistry, School of Medicine, University of Patras, 26110 Patras, Greece

Crystallographic and mutational data in *E. coli* indicate that the C1409-G1491 base pair of 16S ribosomal RNA is important for the high affinity binding of the aminoglycoside paromomycin to the prokaryotic ribosome and the resulting sensitivity of the cells to this antibiotic. Yeast cells are naturally resistant to paromomycin and have an adenine (A) instead of guanine (G) in position 1491. We examined the effects of mutation A1491G (*rdn15*) in the 18S rRNA of *Saccharomyces cerevisiae*. This mutation was combined with the *sup45-86* mutation in eukaryotic release factor I (eRFI), which causes translational readthrough of stop codons. The *rdn15sup45* mutant was shown to be sensitive to paromomycin both by the antibiotic activity disc assay and by the inhibition curves of cell growth in liquid cultures; inhibition of growth by 50% was observed at 9.5 μ M paromomycin for the *rdn15sup45* mutant compared to 52 μ M for the *sup45* alone. High sensitivity to paromomycin is usually accompanied by increased translational infidelity. *In vitro* assays showed that the *rdn15sup45* mutant greatly increases error frequency to 0.0244 from 0.0143 for the *sup45*. In the presence of increasing concentrations of paromomycin, 50% of the maximum error frequency was achieved at only 12 μ M paromomycin for the *rdn15sup45* versus 120 μ M for the *sup45* strain. The extent of polyphenylalanine synthesis was similar in the two strains but, when paromomycin was added, the *rdn15sup45* mutant showed remarkably increased phenylalanine incorporation, even with just 2 μ M paromomycin. A-site binding was higher for the *rdn15sup45* mutant, typical of error prone mutants. In conclusion, paromomycin increases misreading and sensitivity in the *rdn15sup45* strain compared to *sup45* alone. Thus, the *rdn15* mutation creates a C1409-G1491 base pair as in prokaryotes, which seems to abolish the natural high resistance of the yeast ribosome to paromomycin.

Supported in part by a grant from the General Secretariat of Research and Technology, Ministry of Development of Greece (624/PENED01).

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ ΤΟΥ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ
ΣΕ ΤΡΙΑ ΕΙΔΗ ΧΕΡΣΑΙΩΝ ΜΟΝΟΤΟΚΩΝ ΓΑΣΤΕΡΟΠΟΔΩΝ****Τσιλιγιάννη Θ. και Α. Στάικου**

Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54124 Θεσσαλονίκη

Παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που αφορούν στη μελέτη ωρίμανσης του αναπαραγωγικού συστήματος τριών ειδών χερσαίων πνευμονοφόρων γαστεροπόδων. Πιο συγκεκριμένα μελετήθηκαν τα είδη *Ceriuella virgata*, *Helicella rappi* και *Xerolenta obvia*. Οι πληθυσμοί που μελετήθηκαν προέρχονταν από την πόλη της Θεσσαλονίκης για το πρώτο είδος, από τη περιοχή του αρχαιολογικού χώρου των Φιλιππων Καβάλας για το δεύτερο και από τη περιοχή Νέας Καρβάλης για το τρίτο. Είναι ξηρόφιλα και θερμόφιλα είδη, μονοτόκα με σύντομους (1-2 έτη) κύκλους ζωής.

Στη συγκεκριμένη εργασία πραγματοποιήθηκε μακροσκοπική εξέταση του αναπαραγωγικού συστήματος και ιστολογική μελέτη της γονάδας και της σπερματοθήκης σε δείγματα που συλλέχθηκαν από τον Ιούνιο έως τον Οκτώβριο. Παρατηρήθηκε ένα κοινό πρότυπο ωρίμανσης. Τους μήνες Ιούνιο και Ιούλιο το αναπαραγωγικό σύστημα είναι τελείως ανώριμο και δύσκολα διακρίνεται. Επίσης δεν διακρίνεται μακροσκοπικά η γονάδα. Μικροσκοπικά είναι εμφανή τα ωογόνα και τα σπερματογόνα και το μήνα Ιούλιο παρατηρούνται και λίγες σπερματίδες. Τον Αύγουστο παρατηρείται το ανώριμο αναπαραγωγικό σύστημα. Η γονάδα αυξάνεται σε μέγεθος και οι σπερματίδες είναι πιο εμφανείς αν κι η πληθώρα των γεννητικών κυττάρων είναι ωογόνα και σπερματογόνα.

Το Σεπτέμβριο είναι ορατή μακροσκοπικά η γονάδα. Το αναπαραγωγικό σύστημα έχει ωριμάσει αν και ο λευκωματογόνος αδένας δεν είναι ιδιαίτερα αναπτυγμένος, η σπερματοθήκη φαίνεται λεπτή και μικρή και στον ερμαφροδιτικό αγωγό που εμφανίζεται έντονα αναπτυγμένος υπάρχει σπέρμα. Παρατηρείται πληθώρα σπερματίδων και σπερματοζωαρίων αν και εξακολουθούν να υπάρχουν σπερματογόνα και ωογόνα. Επίσης, παρατηρούνται ελάχιστα ωοκύτταρα. Τον Οκτώβριο, η γονάδα είναι λευκή και διακρίνεται εύκολα από το ήπατοπάγκρεας ενώ ταυτόχρονα ο λευκωματογόνος αδένας είναι πολύ αναπτυγμένος. Παρατηρούμε σπερματοζωάρια και λίγα ωοκύτταρα στις τομές της γονάδας. Αυτά βέβαια συνυπάρχουν με σπερματίδες, ωογόνα και σπερματογόνα.

MATURATION OF THE REPRODUCTIVE SYSTEM IN THREE SEMELPAROUS SPECIES OF LAND GASTROPODS

Tsiligianni Th. & A. Staikou

Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University, 54124 Thessaloniki

In this paper we report results on the maturation of the reproductive system of three semelparous species of land snails, namely *Cerņuella virgata*, *Helicella pappi*, and *Xerolenta obvia*. The populations studied came, for the first species from the city of Thessaloniki while for the other two species from the Archaeological site of Filippi, and the area of karvali respectively. The snails studied are semelparous, xerophilic and thermophilic species with short life cycles.

We studied macroscopically the maturation of the genital system and histologically the maturation of the gonad and the spermatheca. Samples studied were collected from the above-mentioned populations once a month from June to October. A common maturation pattern was observed. During June and July the reproductive system is completely immature and very difficult to distinguish macroscopically and the same stands for the gonad. In histological sections oogonia and spermatogonia can be observed while in late July some spermatids are also observed. In August the immature reproductive system is easily seen. The gonad, as seen in histological sections, is bigger and the spermatids more common. The majority of the gametes are oogonia and spermatogonia.

In September the gonad is easily seen macroscopically and the reproductive system is mature. The hermaphrodite duct is swollen and full of sperm, but the albumen gland is not fully grown and the spermatheca is small. The gonad is full of spermatozoa and spermatids and very few oocytes are also seen. In October gonad and reproductive system are in a fully mature state. Spermatozoa and some oocytes are observed in histological sections of the gonad.

ΠΡΟΣ ΜΙΑ ΝΕΑ ΘΕΩΡΗΣΗ ΤΟΥ «ΕΑΥΤΟΥ»**Τσιτσιλώνη Ρ.**Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784 Ζωγράφου Αθήνα

Το ανοσοποιητικό σύστημα εξελίχθηκε για εκατομμύρια έτη, ώστε να μπορεί να αναγνωρίζει και να απαντά στα ξένα, «μη εαυτά» προς τον οργανισμό στοιχεία, προστατεύοντας τον οργανισμό από το πλήθος των παθογόνων παραγόντων, στους οποίους συνεχώς εκτίθεται. Γνωρίζουμε πλέον τους, συχνότατα αλληλοεπικαλυπτόμενους, μη ειδικούς (φυσική ανοσία) και ειδικούς (επίκτητη ανοσία) μηχανισμούς της ανοσίας, τις πρωτεΐνες του ορού που εμπλέκονται σε αυτούς (πχ. πρωτεΐνες του συμπληρώματος, κυτταροκίνες, πρωτεΐνες οξειάς φάσης, ανοσοσφαιρίνες), και τα κυτταρικά στοιχεία που ενεργοποιούνται (πχ. φαγοκύτταρα, κυτταροτοξικά κύτταρα, μαστοκύτταρα, βασεόφιλα, ηωσινόφιλα, λεμφοκύτταρα, αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα). Όμως, τι είναι τελικά το ερέθισμα που καθορίζει αν θα υπάρξει ανοσολογική απάντηση, πού θα εκδηλωθεί, πόσο ισχυρή θα είναι, με ποια τάξη μορίων θα είναι πιο αποτελεσματική και πώς δεν θα καταστρέψει τον ιστό τον οποίο καλείται να προστατέψει; Τι είναι αυτό που ο οργανισμός μας θεωρεί δικό του, «εαυτό», και το ανέχεται και τι ξένο, «μη εαυτό», και το πολεμά; Ή μήπως ο οργανισμός μας έχει την ικανότητα να διακρίνει κάποιες «εαυτές» δομές και κάποιες από τις «μη εαυτές»;

Τα τελευταία 50 περίπου χρόνια, οι διατυπωθείσες Θεωρίες της Ανοσολογίας (η Θεωρία της επιλογής των κλώνων, το Πρότυπο των δύο σημάτων και το Πρότυπο της συνδιέγερσης και το Μοντέλο της διάκρισης του «εαυτού» - λοιμογόνου «μη εαυτού»), αν και θεμελίωσαν βασικούς κανόνες της, δεν κατάφεραν να εξηγήσουν πλήρως τους μηχανισμούς επαγωγής των ανοσολογικών απαντήσεων. Καίρια ερωτήματα, όπως γιατί δεν απορρίπτονται τα έμβρυα, γιατί οι αλλαγές των «εαυτών» δομών στην εφηβεία, την εγκυμοσύνη και τη γήρανση δεν επάγουν ανοσολογική απάντηση, γιατί δεν απορρίπτονται οι όγκοι που εκφράζουν ογκοειδικά αντιγόνα, ή γιατί δεν απορρίπτονται τα ηπατικά μοσχεύματα, αποτελούν ανοσολογικά παράδοξα.

Το 1994, η Polly Matzinger διατύπωσε μια νέα θεωρία, τη Θεωρία του Κινδύνου, επιχειρώντας μια άλλη προσέγγιση του προτύπου των ανοσολογικών απαντήσεων. Το Μοντέλο του Κινδύνου δεν απορρίπτει τις μέχρι σήμερα ισχύουσες ανοσολογικές αρχές. Αντίθετα βασίζεται σε αυτές, δεχόμενο ότι: (1) η απόλυτη πλειονότητα των κυττάρων ενός οργανισμού εκφράζουν μόνο το πρώτο σήμα, άρα επάγουν την ανοσολογική ανοχή τους από τον οργανισμό, (2) η παρουσία ή η απουσία του δεύτερου σήματος είναι αυτή που καθορίζει την ανοσολογική απάντηση ή την ανοχή και (3) ενώ το πρώτο σήμα προέρχεται από την

ειδική αναγνώριση του αντιγόνου, το δεύτερο σήμα προέρχεται είτε από την βοήθεια που παρέχεται από τα βοηθητικά T λεμφοκύτταρα, είτε από τη συνδιέγερση που παρέχεται από αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα. Η κύρια διαφορά μεταξύ του μοντέλου του κινδύνου και της αμέσως προηγούμενα διατυπωθείσας θεωρίας της διάκρισης του «εαυτού»-λοιμογόνου «μη εαυτού», είναι ο τρόπος επαγωγής της ανοσολογικής απάντησης. Η θεωρία της διάκρισης του «εαυτού» - λοιμογόνου «μη εαυτού» θεωρεί ότι η αναγνώριση του ξένου προς τον οργανισμό στοιχείου είναι αρκετή για να επάγει επίκτητη ανοσολογική απάντηση. Στο μοντέλο του κινδύνου, ο κύριος καθοριστής που οδηγεί στην έναρξη της ανοσολογικής απάντησης είναι η παρουσία αντιγόνων που παράγονται μετά από την ιστική καταστροφή. Σύμφωνα με την Polly Matzinger, το ανοσοποιητικό σύστημα απαντά στα τέσσερα D, που είναι τα αρχικά των λέξεων Danger (κίνδυνος), Death (θάνατος), Distruction (καταστροφή), Distress (καταπόνηση). Κάτω από αυτές τις συνθήκες, τα κύτταρα που καταστρέφονται εκπέμπουν σήματα κινδύνου προς τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα, τα οποία τα αναγνωρίζουν μέσω ειδικών επιφανειακών υποδοχέων τους (των ονομαζόμενων REDS), ενεργοποιούνται και σηματοδοτούν την έναρξη της ανοσολογικής απάντησης. Ποια μπορεί να είναι τα σήματα κινδύνου; Μόρια ή μοριακές δομές που απελευθερώνονται ή παράγονται από κύτταρα σε κατάσταση stress ή από κύτταρα που οδηγούνται σε λυτικό (μη αποπτωτικό) κυτταρικό θάνατο (πχ. πρωτεΐνες θερμικού σοκ, ιντερφερόνες). Αντίθετα, εάν δεν υπάρχει καταστροφή και τα κύτταρα παραμένουν υγιή ή πεθαίνουν αποπτωτικά (πχ κατά την εφηβεία, τη γαλουχία, την εγκυμοσύνη), δεν επακολουθεί ανοσολογική απάντηση, αφού δεν εκλύονται σήματα κινδύνου και τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα παραμένουν σε κατάσταση ηρεμίας. Με την νέα αυτή θεώρηση, τα μεν αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα κατέχουν κεντρικό ρόλο, όμως ρυθμιστές της ανοσολογικής απάντησης είναι πλέον όλοι οι ιστοί και στο ανοσολογικό «παιχνίδι» εμπλέκονται όλα τα κύτταρα του οργανισμού. Ο κάθε ιστός χρησιμοποιεί άλλα σήματα κινδύνου ανάλογα με το παθογόνο, ή σωστότερα το «μη εαυτό», απαντά με το δικό του ιδιαίτερο τρόπο, αποφασίζει για το μηχανισμό της απάντησης και επάγει τη δική του ανοχή έναντι του «εαυτού». Ισως τελικά, όπως υποστηρίζει και η ίδια η εμπνεύστρια της Θεωρίας του Κινδύνου, ο έλεγχος της ανοσίας να επιτελείται από την ενδογενή «συζήτηση» μεταξύ ιστών και των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος και τελικά το ανοσοποιητικό σύστημα να αποτελεί τον πυρήνα ενός δικτύου αλληλεπιδράσεων που τροφοδοτείται από τα δεδομένα όλων των ιστών του σώματος.

Ενδεικτική βιβλιογραφία

- Matzinger P, 1994, *Annu. Rev. Immunol.*, 12: 991
- Matzinger P, 1998, *Semin. Immunol.*, 10: 399
- Galucci S, Matzinger P, 2001, *Curr. Opin. Immunol.*, 13: 114
- Matzinger P, 2002, *Science*, 296: 301

TOWARDS A NOVEL DEFINITION OF «SELF»**Tsitsilonis R.**Dept of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, National & Kapodistrian
University of Athens, Panepistimopolis, 15784, Athens - Greece

The immune system has evolved over millions of years, in order to recognize and respond to foreign, «non-self» entities, and protect the organism from a variety of infectious agents, to which it is constantly exposed. We have acquired significant knowledge of the, frequently overlapping, mechanisms both, of the innate (non-specific) and adaptive (specific) immunity, of serum proteins involved in such phenomena (eg. complement proteins, cytokines, acute phase proteins, immunoglobulins), as well as of the cellular elements that become activated upon immune response initiation (eg., phagocytes, cytotoxic cells, mast cells, basophils, eosinophils, lymphocytes, antigen-presenting cells). However, what are the main stimuli which determine if there will be an immune response, where will it take place, how strong will it be, which effector molecules should be recruited in order to achieve an effective immune response and how will it protect the tissue in danger without harming it? What does our organism consider as his own, «self» and subsequently tolerates and what as foreign, «non-self», which has to be eliminated? Or would it be more appropriate to speculate that our organism has the ability to discriminate between some «self» and some of the «non-self» elements?

For the last 50 years, the formulated Theories in the field of Immunology (the Clonal Selection Theory, the Two-signal Model, the Co-stimulation Model and the Self-infectious non-self discrimination Model), although they did set the basis of how immune responses are induced, they could not satisfactorily explain the mechanisms of immune response initiation. Important questions, such as why fetuses are not rejected, why changes in «self» molecules during puberty, pregnancy and ageing do not induce an immune response, why tumors expressing tumor-specific antigens are not rejected, or why liver transplants are not vigorously rejected, are considered as immunological enigmas.

In 1994, Polly Matzinger presented a new theory, called the Danger Theory, proposing an alternative approach to immunological response. The Danger Model incorporates practically all of the preexisting immunological principles. Moreover, it is largely based on them, i.e., it accepts that (1) the absolute majority of body cells present only signal one, thus inducing responding T cell tolerance; (2) the presence or absence of the second signal determines immune responsiveness or tolerance; and (3) whereas the first signal comes from specific antigen recognition, the second signal is generated from either help delivered by T helper lymphocytes, or co-

stimulation delivered by professional antigen presenting cells. The main difference between the Danger Model and the previously presented Self-infectious non-self discrimination Theory is the way of the initiation of an immune response. The self-non self discrimination theory assumes that foreignness is good enough to induce an adaptive immune response. In the Danger Model, it is assumed that the main determinant leading to the initiation of the immune response is the presence or absence of an antigen in the context of tissue destruction. According to Polly Matzinger, the immune system responds to the four Ds, which are the initials of the words Danger, Death, Destruction and Distress. Under these circumstances, cells that are destroyed send danger signals to the antigen presenting cells, which consequently recognize them via specific surface receptors (termed REDS), become activated and initiate the immune response. What could a danger signal consist of? Molecules or molecular structures released or produced by cells that are injured, stressed or die by necrotic (non apoptotic) cell death, (eg heat shock proteins, interferons). On the contrary, if there is no damage and cells are unharmed or they die by apoptosis (eg. during puberty, pregnancy, lactation), no immune response ensues, since no danger signals are released and antigen presenting cells remain in a quiescent state.

In this novel model of immunity, antigen presenting cells still possess a central role in the immune response, however regulators of the immune response are now all tissues and the immunological puzzle involves all cells of the organism. Each tissue uses its own danger signals depending on the pathogen, or more precisely on the «non-self» element, responds with its own specific and unique way, decides on the mechanism of the response and induces its own tolerance versus «self». Taken altogether, as the inspirer of the Danger Theory proposes, the control of immunity is regulated by the internal conversation between bodily tissues and immune cells and therefore, the immune system is an extended highly interactive network making its decisions on the basis of input from all bodily tissues.

Selected references

- Matzinger P, 1994, *Annu. Rev. Immunol.*, 12: 991
- Matzinger P, 1998, *Semin. Immunol.*, 10: 399
- Galucci S, Matzinger P, 2001, *Curr. Opin. Immunol.*, 13: 114
- Matzinger P, 2002, *Science*, 296: 301

**ΕΝΑ ΝΕΟ, ΕΚΚΡΙΤΑΣΗ-ΑΝΕΞΑΡΤΗΤΟ, ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟ ΜΟΝΟΠΑΤΙ
ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ NOTCH Ι ΟΔΗΓΕΙ ΣΤΗ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΕΝΟΣ
ΚΑΡΒΟΞΥΤΕΛΙΚΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ, ΠΟΥ ΣΥΣΣΩΡΕΥΕΤΑΙ ΣΤΙΣ
ΝΕΥΡΙΚΕΣ ΑΠΟΛΗΞΕΙΣ****Φάσσα Α. και Σ. Ευθυμιόπουλος**Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 15784 Αθήνα

Μελετήσαμε την παρουσία της πρεσενιλίνης Ι (PSI), του υποδοχέα Notch Ι (NI) και των προσδετών του σε συναπτοσώματα και μετασυναπτικές πυκνότητες (PSDs) εγκεφάλου ποντικού. Βρήκαμε ότι ένα καρβόξυ-τελικό τμήμα του NI, με μοριακή μάζα 70-75 KDa, εμπλουτίζεται σημαντικά στα συναπτοσώματα (mNI-CTF), προτείνοντας ότι ο NI εκφράζεται στις προσυναπτικές απολήξεις, όπου και διασπάται μέσα στην ενδοκυτταρική της περιοχή. Σε συμφωνία με τα προηγούμενα, βρήκαμε ότι το Jagged Ι (ο προσδέτης του NI) εμπλουτίζεται σημαντικά στις PSDs. Επιπλέον, βρέθηκε ότι οι PSDs εμπλουτίζονται σε N- και E-καδερίνη, όχι όμως σε APP και PSI προτείνοντας ότι η PSI ούτε αλληλεπιδρά ούτε διασπά τα υποστρώματά της μέσα στις PSDs. Διαμόλυνση HEK 293 κυττάρων με την ανθρώπινη πρωτεΐνη NI (hNI) οδήγησε στην παραγωγή του αντίστοιχου με το mNI-CTF, hNI-CTF τμήματος. Η παραγωγή του hNI-CTF δεν ανεστάλη από τον ειδικό αναστολέα της γ-εκκριτάσης L-685,458 προτείνοντας ότι παράγεται με έναν PSI-ανεξάρτητο τρόπο. Αν και στην ενδοκυτταρική περιοχή του NI υπάρχει μια αλληλουχία αναγνώρισης από την κασπάση-3, επαγωγή απόπτωσης ή αναστολείς κασπασών, δεν επηρέασαν την παραγωγή του NI-CTF. Ο ειδικός αναστολέας των πρωτεασών κυστεΐνης E64d μείωσε τα επίπεδα του hNI-CTF και αύξησε τα επίπεδα των πρόδρομων πεπτιδίων του hNI, προτείνοντας ότι μια πρωτεάση κυστεΐνης ευθύνεται για την παραγωγή του hNI-CTF. Επιπλέον, η παραγωγή του τμήματος hNI-CTF απαιτεί την ωρίμανση και μεταφορά του hNI στην κυτταρική επιφάνεια, αφού η BFA και η μονενσίνη ανέστειλαν την παραγωγή του και οδήγησαν στην συσσώρευση του ώριμου NI. Το hNI-CTF μπορεί να είναι υπεύθυνο για την πρόσφατα αναφερθείσα, PSI-ανεξάρτητη σηματοδότηση του NI ή να έχει μια νέα άγνωστη έως τώρα λειτουργία.

Αυτή η εργασία χρηματοδοτήθηκε από την American Health Assistance Foundation, τα Ευρωπαϊκά προγράμματα GLK3-CT-2001-02362 και LSHM-CT-2003-503330, την Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας (ΠΕΝΕΔ), το Πανεπιστήμιο Αθηνών (Καποδίστριας) και το Υπουργείο Παιδείας (Πυθαγόρας).

A NOVEL, SECRETASE-INDEPENDENT, PROCESSING OF NOTCH I RECEPTOR GENERATES A C-TERMINAL FRAGMENT THAT ACCUMULATES IN NEURONAL TERMINALS

Fassa A. & S. Efthimiopoulos

Dept of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, 15784, Athens – Greece.

We examined the presence of presenilin I (PSI), Notch I (NI) and its ligands in mouse brain synaptosomal and post-synaptic density preparations (PSDs). A 70-75 kDa anti-NI C-terminal immunoreactive fragment was found to be significantly enriched in synaptosomes (mNI-CTF) suggesting that NI is expressed at presynaptic terminals where is processed within its intracellular domain. In accordance, Jagged-1 (NI ligand) was found to be significantly enriched in PSDs. PSDs were also found to be enriched in N- and E-cadherin but no APP or PSI were detected suggesting that PSI does not interact with or process its substrates within PSDs. Transfection of human NI (hNI) in HEK293 cells resulted in the production of a hNI-CTF with molecular mass similar to that of mNI-CTF. Production of hNI-CTF was not inhibited by the γ -secretase inhibitor L-685,458 suggesting that it is produced by a presenilin-independent manner. Despite the presence of a suitably located caspase 3 consensus cleavage site within the intracellular domain of NI, induction of apoptosis or caspase 3 inhibitors did not affect hNI-CTF production. The cysteine protease inhibitor E64d was found to decrease the levels of hNI-CTF and to increase those of its putative precursors, 120 kDa membrane-bound hNI fragments, suggesting the involvement of a cysteine protease. Processing towards hNI-CTF requires maturation and transport of hNI to the cell surface since treatment with brefeldin A or monensin inhibited its production and resulted in accumulation of f.l hNI. hNI-CTF could be responsible for the presenilin-independent notch signaling reported recently or have a novel currently unknown function.

This work was funded by the American Health Assistance Foundation, European grants GLK3-CT-2001-02362 and LSHM-CT-2003-503330, the General Secretariat for Research and Technology (PENED), the University of Athens (Kapodistrias) and the Ministry of Education (Pythagoras)

**ΠΑΛΑΙΟΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΚΑΙ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ ΑΠΟ
ΑΡΧΑΙΑ ΝΕΚΡΟΤΑΦΕΙΑ ΤΗΣ ΜΑΓΝΗΣΙΑΣ****Φουντουλάκης Γ.Ε., Πετρουτσά Ε.Ι., Παναγιάρης Γ.Η.¹ και Σ.Κ. Μανώλης**Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Ε. & Κ. Πανεπιστήμιο
Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 157 84, Αθήνα. E-mail: smanol@biol.uoa.gr¹Τμήμα Συντήρησης Αρχαιοτήτων & Έργων Τέχνης, Τ.Ε.Ι. Αθήνας, Αγίου Σπυρίδωνος -
Αιγάλεω

Μελετήθηκαν 11 θέσεις του νομού Μαγνησίας, οι οποίες ανήκουν σε διάφορες χρονικές περιόδους, με σκοπό μια διαχρονική παλαιοδημογραφική και παλαιοπαθολογική μελέτη της περιοχής. Λόγω του κακού βαθμού διατήρησης του σκελετικού υλικού δεν ήταν εφικτός ο προσδιορισμός φύλου και ηλικίας σε όλα τα άτομα.

Βρέθηκε ότι ο ΜΝΙ (ελάχιστος αριθμός ατόμων) είναι 102, από τα οποία αναγνωρίστηκαν 72 άτομα (43 άρρενα και 29 θήλεα) (ποσοστό περίπου 70%). Ακόμα προσδιορίστηκε η ηλικία σε 32 άτομα (με την πλειοψηφία των ενηλίκων να ανήκει στην ηλικιακή κλάση 30-50 χρόνων) ενώ έχουν βρεθεί και 15 ανήλικα άτομα (ποσοστό 46%).

Πολύ χαρακτηριστική για την υπο μελέτη περιοχή είναι η εμφάνιση μιας παθολογικής κατάστασης που ονομάζεται *cribra orbitalia*, (διακριτικό χαρακτηριστικό παρουσίας κυρίως σιδηροπενικής αναιμίας) και η οποία εντοπίστηκε σε 7 άτομα (ποσοστό 6,85%).

Παράλληλα παρουσιάζεται μία περίπτωση επουλωμένου τραύματος στα οστά του θόλου του κρανίου. Επίσης είναι αξιοσημείωτη η παρατήρηση σε μερικές κάτω γνάθους, περιπτώσεων ανώμαλης φυσιολογικής ανάπτυξης των δοντιών. Τέλος, στα κρανία της Μαγνησίας καταγράφεται παρουσία αντιπροσωπευτικών επιγενετικών χαρακτηριστικών όπως είναι ο μετωπισμός, το φτυαροειδές σχήμα (*shovel shaped*) σε άνω πλάγιους τομείς, καθώς και η παρουσία λαμβδοειδών οσταρίων και οβελιαίων τρημάτων.

Η εργασία αυτή επιχορηγήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Εθνικού & Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

PALEODEMOGRAPHIC AND PALEOPATHOLOGICAL OBSERVATIONS IN ANCIENT CEMETERIES OF MAGNISIA PERFECTURE

Fountoulakis G.E., Petroutsas E.I., Panagiaris G.E.¹ & S.K. Manolis

Dept of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, National & Kapodistrian
University of Athens, Panepistimiopolis 15784, Athens - Greece,

¹Dept of Antiquities and Art Conservation, TEI of Athens, Egaleo - Greece

We studied the anthropological material coming from 11 archaeological sites of Magnisia Prefecture. Because the skeletal material is dated to various cultural prehistoric and historical eras, the aim was a temporal palaeodemographic and paleopathologic analysis.

The poor preservation of the skeletal material it was impossible to identify sex and age for all individuals. Thus, the estimated MNI (Minimum Number of Individuals) is 102, but in only 72 individuals we identify sex (43 males and 29 females) (percentage 70%). Additionally, we estimated the age of 32 adult individuals, (where most of the adults are between 30-50 years of age) and 15 subadults (percentage 46%).

We recorded the characteristic pathology of cribra orbitalia in at last 7 individuals (percentage 6,85%). This finding suggests the presence of iron-deficiency anemia. It is remarkable to note a case of healed cranial trauma, and some cases of irregular growth of mandible teeth.

Finally, the skulls of Magnisia present characteristic epigenetic traits such as metopism (not fused frontal suture), shovel shape incisors, lambdoid ossicles and parietal foramina.

This study is funded by the Special Research Account of the National & Kapodistrian University of Athens

**ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΑΝΑΣΤΗΜΑΤΟΣ ΑΠΟ ΑΠΟΣΠΑΣΜΑΤΙΚΑ ΜΑΚΡΑ
ΟΣΤΑ ΣΤΗΝ ΥΣΤΕΡΟΕΛΛΑΔΙΚΗ ΘΕΣΗ ΑΓΙΑ ΤΡΙΑΔΑ ΗΛΕΙΑΣ****Φουντουλάκης Γ.Ε., Πετρουτσά Ε.Ι. και Σ.Κ. Μανώλης**

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 15784 Αθήνα, E-mail: smanol@biol.uoa.gr

Ο προσδιορισμός των παλαιοδημογραφικών παραμέτρων διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην σκιαγράφηση του βιοαρχαιολογικού προφίλ ενός πληθυσμού. Μία σημαντική παράμετρος είναι και το ανάστημα με το οποίο μπορεί να δωθεί μια γενική εικόνα της υπο μελέτης πληθυσμιακής ομάδας και να γίνουν διαπιστώσεις και συγκρίσεις με άλλες αρχαιολογικές θέσεις, καθώς και με άλλες χρονολογικές εποχές.

Μία τέτοια προσπάθεια έχει γίνει και στο εργαστήριο Βιολογικής Ανθρωπολογίας για τα ανθρώπινα σκελετικά κατάλοιπα που προέρχονται από την Υστεροελλαδική θέση της Αγίας Τριάδας Ηλείας. Η θέση αυτή έχει χρονολογηθεί στην περίοδο 1450 π.Χ. με 1150 π. Χ. Σχεδόν το 50 % από το αρχαιολογικό υλικό που έχει αποκαλυφθεί, έχει μεταφερθεί στο εργαστήριο για μελέτη.

Για την ολοκλήρωση της μελέτης αρχικά χρησιμοποιήθηκαν σκελετοί της σύγχρονης συλλογής αναφοράς του εργαστηρίου, από τους οποίους έγινε δυνατή η εξαγωγή γραμμικών εξισώσεων προσδιορισμού του μέγιστου ολικού μήκους από αποσπασματικά τμήματα των μακρών οστών. Στη συνέχεια τα δεδομένα αυτά χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό του μέγιστου ολικού μήκους μακρών οστών του αρχαιολογικού υλικού. Έτσι με τη χρήση του F/S ratio του Feldesman έγινε δυνατή η προσέγγιση του αναστήματος για το διαθέσιμο αρχαιολογικό υλικό. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι μέσες τιμές αναστήματος για τα άτομα του πληθυσμού ανεξαρτήτως φύλου είναι 1612,159 mm, για τα άρρενα είναι 1645,475 mm και για τα θήλεα είναι 1527,222.

Η εργασία αυτή επιχορηγήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Εθνικού & Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

STATURE ESTIMATION FROM LONG BONE FRAGMENTS OF THE LATE BRONZE CEMETERY OF AGHIA TRIADA, ILIDA (W. PELOPONNESE)

Fountoulakis G., Petroutsas E. & S.K. Manolis

Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, School of Sciences,
University of Athens, Panepistimiopolis 157 04 Athens, Greece, E-mail: smanol@biol.uoa.gr

A critical role in the assessment of the bioarchaeological profile, of a population group, has the determination of its demographic parameters. Stature, a leading demographic parameter, always gives valuable information for the researcher's population group and affords data used for comparison with other archaeological sites or chronological era.

Such an effort has taken place in the Laboratory Biological Anthropology of the Department of Animal & Human Physiology concerned the human skeletal remains from the site of Aghia Triada. This cemetery is dated from about 1450 B.C. to about 1150 B.C. (Late Bronze Age Era) and these ages are cultural ages derived from archaeological evidence. Almost the half of the unearthed skeletal material has been moved to the laboratory

At first, in this research, we studied the modern human skeletal collection for assessing linear regression equations, which can be used for estimating the maximum length of the long bones, using as known length only the length of their fragments. Then we calculated the theoretical maximum long bone length by measuring the archaeological remains. Finally by using F/S ratio (Feldesman *et al.* 1992) we estimated the stature from the available archaeological remains. According to the results the average stature is 1612,159 mm (sexes combined), 1645,475 mm for the male individuals and 1527,222 mm for the female individuals.

This study is funded by the Special Research Account of the National & Kapodistrian University of Athens

ΠΡΩΤΕΟΛΥΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΕ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΙΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥ. ΠΑΡΟΥΣΙΑ Ή ΑΠΟΥΣΙΑ ΕΥΣΦΑΙΡΙΝΗΣ**Φράγκου-Μασουρίδου Ε., Μασουρίδου Σ.**

Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, Ιατρικού Τμήματος, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

Πολλά παθογόνα μικρόβια μπορούν να διεισδύσουν στους φραγμούς φυσιολογικών ιστών, όπως στις βασικές μεμβράνες των αγγείων, ενώ άλλα δραστηριοποιούνται εξωκυττάρια της μήτρας. Υπάρχουν ενδείξεις ότι τα παθογόνα μπορούν να χρησιμοποιούν ένζυμα μικροβίων ή ένζυμα των κυττάρων του ξενιστού, ειδικά πρωτεϊνάσες, κατά τη διείσδυση και τις πορείες αυτών. Το πλασμινογόνο αφθονεί στο πλάσμα και στα εξωκυττάρια υγρά του ανθρώπου. Μετατρέπεται στον πρωτεολυτικό τύπο πλασμίνη από ενεργοποιητές, όπως τον tPA (tissue-type plasminogen activator) και ουροκινάση, ή αναστέλλεται η δράση του από PIs (plasminogen inhibitors). Στην εργασία αυτή μελετήθηκε η πρωτεολυτική δραστηριότητα του επιθηλίου τραχήλου μήτρας, σε περιπτώσεις φλεγμονής (τραχηλίτις - κολπίτις), παρουσία ή απουσία ευσφαιρίνης, ως πηγή πλασμινογόνου. Υπάρχουν ελάχιστα βιβλιογραφικά δεδομένα, σε ότι αφορά την πρωτεόλυση στις υπό μελέτη περιπτώσεις φλεγμονής.

Δείγματα κυττάρων ελήφθησαν από επιθήλιο τραχήλου γυναικών, που παρουσίαζαν τραχηλίτιδα και κολπίτιδα. Η πρωτεολυτική δραστηριότητα, παρουσία ή απουσία ευσφαιρίνης, προσδιορίστηκε σύμφωνα με τη μέθοδο Goodwin, και υπολογίσθηκε από τα αμινοξέα % που απελευθερώνονταν σε πρόσφατο ρυθμιστικό διάλυμα καζείνης pH 7,4, μετά από 0, 2, και 4 ώρες επώασης, στους 37⁰ C. Η ευσφαιρίνη παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη μέθοδο Hougje. Η πρωτεολυτική δραστηριότητα σε αμφότερες τις περιπτώσεις βρέθηκε σημαντικά μειωμένη, παρουσία ευσφαιρίνης. Η πτώση αυτή ήταν μεγαλύτερη στις περιπτώσεις φλεγμονής από κολπίτιδα, και πρέπει να οφείλεται στην απελευθέρωση αναστολέων πλασμινογόνου. Τα ευρήματα αυτά παρέχουν σημαντική ένδειξη για την ανάπτυξη εναλλακτικών θεραπειών σε χρόνιες καταστάσεις.

PROTEOLYTIC ACTIVITY IN HUMAN INFLAMMATORY CONDITIONS, IN THE PRESENCE OR ABSENCE OF EUGLOBULIN

Frangou-Massourides H., Massourides S.

Dept of General Biology, Medical School, Aristotle University of Thessaloniki, Greece

Many pathogens microbes can penetrate normal tissue barriers, such as vascular basement membranes other organized extracellular matrices. Several lines of evidence suggest that pathogens can use microbial or host-derived enzymes, particularly proteinases, in their invasion and processes. Plasminogen is abundant in human plasma and extracellular fluids. It is converted to the proteolytic form, plasmin, by activators, such as tissue-type plasminogen activator (tPA) and urokinase, and is inhibited by PIs (plasminogen inhibitors). We study the proteolytic activity of human cervical epithelium in inflammatory cases (cervicitis, vaginitis), in the presence or absence of euglobulin, as a source of plasminogen. There are poor bibliography data of proteolytic processes referred to the above cases of inflammation.

Speciments of cells from cervical epithelium was obtained from women, who indicated symptoms of cervicitis and vaginitis. Proteolytic activity was determined following the method of Goodwin, and estimated from the aminoacids % released in a fresh casein buffer pH 7.4, after 0, 2 and 4 hours of incubation, at 37^o C. The euglobulin was prepared according to the method of Hougie. The proteolytic activity in both cases was found significantly decreased, in the precence of euglobulin. This decrease was much more evident in the case of vaginitis, and must be due to the release of plasminogen inhibitors. These findings provide important clues for the development of alternative therapies in chronic cases.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΒΡΟΧΟΠΤΩΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΕΠΟΧΙΚΟΤΗΤΑΣ
ΣΤΗΝ ΑΠΟΔΟΣΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΕΚΡΟΗΣ ΜΟΝΑΔΑΣ
ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΛΥΜΑΤΩΝ****Φραγκούλη Σ.¹, Ευστρατίου Μ.Α.¹ και Σ. Βασιίλαρος²**¹Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Τμήμα Επιστημών της Θάλασσας ²Μονάδα Επεξεργασίας Λυμάτων
Μυτιλήνης

Η χρήση παράκτιων περιοχών ως αποδέκτη λυμάτων μπορεί να προκαλέσει δυσμενείς επιπτώσεις στο οικοσύστημα, αλλά και στη δημόσια υγεία. Είναι συνεπώς αναγκαία η διαρκής εξασφάλιση εκροών καλής ποιότητας από τις μονάδες επεξεργασίας λυμάτων. Ακραία καιρικά φαινόμενα έχει αποδειχθεί ότι επιδρούν στην επεξεργασία και προκαλούν υποβάθμιση της ποιότητας του τελικού προϊόντος. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν για ένα έτος η ποιότητα εκροής και η απόδοση της Μονάδας Επεξεργασίας Λυμάτων της Μυτιλήνης, σε σχέση με τη βροχόπτωση και την εποχικότητα. Οι αναλύσεις χημικών (BOD, COD, Αιωρούμενα Στερεά-SS, Διαλελυμένο Οξυγόνο-DO, N-NH₄) και μικροβιολογικών (ολικά κολοβακτηριοειδή, κοπρανώδη κολοβακτηριοειδή, κοπρανώδεις στρεπτόκοκκοι) παραμέτρων πραγματοποιήθηκαν με τις πρότυπες μεθόδους σε δείγματα από διάφορα στάδια της επεξεργασίας των λυμάτων. Για κάθε δειγματοληψία καταγράφηκε η ατμοσφαιρική θερμοκρασία, το ύψος και η διάρκεια βροχόπτωσης τις προηγούμενες 12, 24 και 36 ώρες.

Το ύψος βροχής συσχετίστηκε ισχυρά αρνητικά με τη μείωση όλων των μικροβιακών δεικτών που προήλθε από επεξεργασία με ενεργό ιλύ. Η διάρκειά της με ελάττωση των TC. Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση της ατμοσφαιρικής θερμοκρασίας με τη μείωση των μικροβιακών δεικτών και τις συγκεντρώσεις SS, DO και N-NH₄ στην εκροή της μονάδας. Η ατμοσφαιρική θερμοκρασία και το ύψος βροχής των προηγούμενων 24 και 36 ωρών παρουσίασαν θετική γραμμική σχέση με το BOD της εκροής. Αντίθετα, η συγκέντρωση των SS της εκροής ενώ αύξανε απότομα σε μικρά ύψη βροχόπτωσης, μειωνόταν σταθερά από ένα μεγαλύτερο ύψος και μετά, πιθανώς λόγω μεγάλης αραίωσης. Η απόδοση της μονάδας όσον αφορά στην ελάττωση των BOD και SS ήταν μικρότερη το χειμώνα, αλλά οι μετρήσεις ήταν εντός των προδιαγραφών της ΕΕ. Μεγαλύτερες συγκεντρώσεις BOD, COD και N-NH₄ στην εκροή σημειώθηκαν το καλοκαίρι.

IMPACT OF RAINFALL AND SEASONALITY ON EFFECTIVENESS AND EFFLUENT QUALITY OF A WASTE WATER TREATMENT PLANT

Fragouli S.¹, Efstratiou M.A.¹ & S. Vassilaros²

¹University of the Aegean, Dept of Marine Sciences ²Wastewater Treatment Plant of Mytilene

The use of coastal areas as sewage disposal sites can negatively effect the ecosystem and public health. It is, therefore, essential that Waste Water Treatment Plants always produce effluents of high quality. It has been known that extreme weather conditions influence the treatment process and have been responsible for degradation of the quality of the effluent. In this project we monitored for one year the effectiveness and quality of the effluent of the WWTP of Mytilene, in relation to rainfall events and season of the year. Samples were collected from specific stages of the treatment process. The chemical (BOD, COD, Suspended Solids, Dissolved Oxygen, N-NH₄) and microbiological (total coliforms, fecal coliforms, fecal streptococci) parameters were determined by the standard methods. For each sampling day the air temperature, 12h, 24h and 36h preceding rainfall level and duration were obtained.

There was a strong negative correlation between the rainfall level and all microbial indicator reductions after activated sludge treatment. Also between rainfall duration and the reduction of TC. There was no significant correlation between air temperature and microbial indicator reductions or the effluent's SS, DO and N-NH₄ concentrations. The air temperature, 24h and 36h rainfall level showed positive linear association with the effluent's BOD. The effluent's SS concentration presented a sudden increase when the rainfall level was low, but it decreased steadily when the rainfall level exceeded a certain point, possibly because of dilution. The effectiveness of the WWTP, concerning the reduction of BOD and SS, decreased during the winter but did not exceed the EU standards. An increase in effluent's BOD, COD and N-NH₄ concentrations was observed during summer.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΑΡΓΙΛΙΟΥ ΣΤΟΝ ΚΥΤΤΑΡΟΣΚΕΛΕΤΟ ΤΟΥ
ΑΚΡΟΡΡΙΖΟΥ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *Triticum turgidum*****Φραντζιός Γ., Γαλάτης Β., Αποστολάκος Π.**

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 15784

Στην παρούσα εργασία διερευνώνται οι επιπτώσεις της επίδρασης του αργιλίου (ΑΙ) στην οργάνωση των μικρονηματίων ακτίνης (ΜΑ) και των μικροσωληνίσκων (ΜΣ) στο ακρόρριζο του φυτού *Triticum turgidum*. Τα κυριότερα αποτελέσματα συνοψίζονται στα εξής:

Το ΑΙ αρχικά επάγει τον πολυμερισμό νέων ΜΑ, τα οποία σχηματίζουν καλά οργανωμένες δεσμίδες. Σε μικρό όμως χρονικό διάστημα αυτές αποδιοργανώνονται και αντικαθίστανται από κοκκιώδεις σχηματισμούς πολυμερών ακτίνης. Με τη χρήση αναστολέων των μυοσινών βρέθηκε ότι στο μηχανισμό δεσμίδωσης των ΜΑ συμμετέχουν και οι μυοσίνες. Παράλληλα με τις μεταβολές του κυτταροσκελετού των ΜΑ, οι ΜΣ αποδιοργανώνονται και βαθμιαία αντικαθίστανται από μακροσωληνίσκους με διάμετρο μεγαλύτερη από εκείνη των τυπικών ΜΣ. Οι μακροσωληνίσκοι είναι ανθεκτικοί στην τοξική δράση του ΑΙ και σχηματίζουν άτυπα συστήματα, τα οποία διατηρούνται σε παρατεταμένους χρόνους επίδρασης με ΑΙ. Οι παραπάνω επιπτώσεις της δράσης του ΑΙ στον κυτταροσκελετό επηρεάζουν, εκτός των άλλων, την οργάνωση και λειτουργία της μιτωτικής και κυτοκινητικής συσκευής, με αποτέλεσμα τη διατάραξη της κυτταροδιαίρεσης και τη δημιουργία πολυπύρηνων ή πολυπλοειδικών κυττάρων στο ακρόρριζο.

Τα άτυπα κυτταροσκελετικά συστήματα που δημιουργούνται στα επηρεασμένα με ΑΙ κύτταρα πιθανώς συμμετέχουν στους μηχανισμούς άμυνας του φυτού έναντι του ΑΙ, ελέγχοντας τη λειτουργία αντλιών μεταφοράς ιόντων του πλασμαλήμματος και συμβάλλοντας στη διατήρηση της δομικής σταθερότητας του τελευταίου. Οι δραστηριότητες αυτές σε μικρούς χρόνους επίδρασης με ΑΙ φαίνεται ότι εξυπηρετούνται από τα ενισχυμένα συστήματα των ΜΑ ενώ σε παρατεταμένους χρόνους επίδρασης από τα άτυπα συστήματα μακροσωληνίσκων.

Χρηματοδότηση από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του ΕΚΠΑ

ALUMINIUM EFFECTS ON THE CYTOSKELETON OF THE ROOT-TIP CELLS OF *Triticum turgidum*

Frantzios G., Galatis B., Apostolakos P.

Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 157 84

This work deals with the effects of Al on the organization of actin filaments (AFs) and microtubules (MTs) in the root-tip cells of *Triticum turgidum*. The main findings of this study are summarized below:

Initially, the Al induces the polymerization of additional AFs, which together with the existing ones form thick bundles. In short time, these bundles are disintegrated and only granular actin accumulations are found in the cells. Application of myosin inhibitors revealed that myosin(s) are involved in the AF bundling. In parallel to the changes of the AF cytoskeleton, the MTs are depolymerized and are replaced by tubulin macrotubules. The latter resist to the toxic effect of Al and in prolonged treatments form atypical cytoskeletal arrays. The disturbance of the cytoskeleton, which is induced by the Al treatment, among others, affects the organization and function of the mitotic and cytokinetic apparatuses. As a result, multinuclear and polyploid cells are formed in the root-tips.

The atypical cytoskeletal systems, which are formed in the Al-treated cells, appear to be elements of the mechanism which is activated in the affected cells to protect them from the Al. Initially, the enforced AF bundles and later the atypical macrotubule systems, might be involved in the control of the plasmalemma ion pumps.

**ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ BRI ΜΕ
ΤΗΝ ΠΡΟΔΡΟΜΗ ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΤΟΥ ΑΜΥΛΟΕΙΔΟΥΣ APP****Φωτεινοπούλου Α., Ghiso J¹., Ευθυμίου Σ.**Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών
¹Department of Psychiatry, School of Medicine, Univ. of New York

Οι Βρετανικού και Δανέζικου τύπου άνοιες είναι αυτοσωμικές επικρατείς ασθένειες που οφείλονται σε μεταλλαγή του γονιδίου *BRI2*. Οι μεταλλαγές αυτές οδηγούν σε έκφραση μεγαλύτερης πρόδρομης πρωτεΐνης και στην πρωτεολυτική απελευθέρωση των πεπτιδίων ADan και ABri, που συσσωρεύονται στον εγκέφαλο των ασθενών. Ο μηχανισμός αυτός ομοιάζει με εκείνον της νόσου Alzheimer, η οποία χαρακτηρίζεται από συσσώρευση του πεπτιδίου Αβ, το οποίο προέρχεται από πρωτεόλυση της πρόδρομης πρωτεΐνης του αμυλοειδούς (APP). Η ύπαρξη Αβ σε πλάκες εγκεφάλων ασθενών με Δανέζικη άνοια υποδεικνύει ότι η BRI πιθανόν να αλληλεπιδρά με πρωτεΐνες που συμμετέχουν στο μονοπάτι αμυλοειδογένεσης. Έτσι μελετήθηκε αφ'ενός μεν κατά πόσο η BRI αλληλεπιδρά με την APP, αφ'ετέρου δε κατά πόσο η παρουσία της BRI επηρεάζει την παραγωγή του Αβ. Πειράματα συν-ανοσοκατακρήμνισης έδειξαν ότι η φυσική και οι μεταλλαγμένες μορφές της BRI αλληλεπιδρούν με την APP. Για να εντοπιστεί η ακολουθία της κάθε πρωτεΐνης που είναι υπεύθυνη για την αλληλεπίδραση χρησιμοποιήθηκαν ελλείψεις και των δύο πρωτεϊνών. Με πειράματα ανοσοκατακρήμνισης βρέθηκε ότι η περιοχή I-106 της BRI είναι απαραίτητη για την αλληλεπίδραση, ενώ δεν είναι απαραίτητες οι περιοχές I-647 και 719-751 της APP. Η παρουσία της BRI φαίνεται να αυξάνει κατά 20% περίπου την παραγωγή του Αβ₁₋₄₂, ενώ το ποσοστό αυτό δε φαίνεται να επηρεάζεται από τη μορφή της BRI. Περαιτέρω μελέτες βρίσκονται σε εξέλιξη ώστε να διευκρινιστεί η φυσιολογική σημασία αυτών της αλληλεπίδρασης BRI και APP.

Αυτή η εργασία χρηματοδοτήθηκε από την American Health Assistance Foundation, τα Ευρωπαϊκά προγράμματα GLK3-CT-2001-02362 και LSHM-CT-2003-503330, τη Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας (ΠΕΝΕΔ), το Πανεπιστήμιο Αθηνών (Καποδίστριας) και το Υπουργείο Παιδείας (Πυθαγόρας).

CHARACTERISATION OF THE INTERACTION OF THE BRI PROTEIN WITH THE AMYLOID PRECURSOR PROTEIN APP

Fotinopoulou A., Ghiso J.¹, Efthimiopoulos S.

Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis 15784, Athens - Greece

¹Department of Psychiatry, School of Medicine, Univ. of New York

British and Danish dementias are autosomal dominant diseases occurring due to mutations of the *BRI2* gene. These mutations result in the expression of a longer precursor protein and in the release, after proteolysis, of the ADan και ABri peptides, which accumulate on patients' brains. This mechanism is similar to that of Alzheimer's disease, which is characterized by accumulation of the A β peptide, which originates from proteolysis of the amyloid precursor protein APP. The presence of A β at brains of Danish dementia patients suggests that BRI may interact with proteins participating in the amyloidogenesis cascade. Thus, it was studied whether BRI interacts with APP, and whether the presence of BRI influences A β production. Co-immunoprecipitation experiments revealed that the wild type and the mutated forms of BRI interact with APP. In order to allocate the sequence of each protein responsible for their interaction, deletions of both proteins were used. By immunoprecipitation experiments it was found that the 1-106 region of BRI is necessary for the interaction, whilst the regions 1-647 and 719-751 of APP are not. The presence of BRI seems to increase the production of A β ₁₋₄₂ by 20%, whilst this percentage does not seem to be affected by the form of BRI. Further studies are being carried out in order to define the physiological role of the BRI-APP interaction.

This work was funded by the American Health Assistance Foundation, European grants GLK3-CT-2001-02362 and LSHM-CT-2003-503330, the General Secretariat for Research and Technology (PENED), the University of Athens (Kapodistrias) and the Ministry of Education (Pythagoras).

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΟΣΟΓΟΝΙΚΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΠΑΘΟΓΟ-ΝΙΚΟΤΗΤΑΣ
ΠΕΠΤΙΔΙΟΥ ΤΗΣ ΘΥΡΕΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ ΣΕ ΦΥΛΕΣ ΠΟΝΤΙΚΩΝ
ΕΥΑΙΣΘΗΤΕΣ ΚΑΙ ΑΝΘΕΚΤΙΚΕΣ ΣΤΗΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ
ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΤΙΔΑ ΠΟΥ ΕΠΑΓΕΤΑΙ ΑΠΟ ΘΥΡΕΟΣΦΑΙΡΙΝΗ****Χατζηϊωάννου Κ.*, Φατούρος Π.*, Καρράς Ε., Λιακατά Ε., Λυμπέρη Π.**

Εργαστ. Ανοσολογίας, Τμήμα Βιοχημείας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ

Η θυρεοειδίτιδα Hashimoto (ΘΗ) αποτελεί αυτοάνοσο νόσημα που χαρακτηρίζεται από τη διήθηση και καταστροφή του θυρεοειδή αδένου από Τ αυτοδραστικούς κλώνους ειδικούς για τη θυρεοσφαιρίνη (Tg). Η πειραματική αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα (EAT) αποτελεί το μοντέλο της ΘΗ και επάγεται με την ανοσοποίηση πειραματοζώων με Tg ή πεπτίδιά της. Σε προηγούμενες μελέτες του εργαστηρίου, έχει βρεθεί ότι το 20πεπτίδιο της ανθρώπινης Tg p2340 (αα 2340-2359) είναι ικανό να προκαλέσει EAT σε ποντίκια AKR/J (H-2^k) (φυλή ευαίσθητη στην επαγωγή EAT). Στόχος της παρούσας μελέτης είναι ο προσδιορισμός της ανοσογονικότητας (σε Τ και Β κυτταρικό επίπεδο) και παθογονικότητας (επαγωγή EAT) του p2340 σε τέσσερις φυλές ποντικών, δύο ευαίσθητες (CBA/J (H-2^k) και SJL/J (H-2^s)) και δύο ανθεκτικές (C57BL/6 (H-2^b) και BALB/c (H-2^d)). Ενήθησαν υποδορίως τέσσερα ποντίκια από κάθε φυλή: δύο με 150μg p2340 σε Complete Freund's Adjuvant (CFA) και δύο με 90μg Tg σε CFA (για μελέτη ανοσοεπικράτειας του επιτόπου στο πεπτίδιο). Εννιά με έντεκα μέρες μετά, απομονώθηκαν κύτταρα βουβωνικών λεμφαδένων και ακολούθησε *in vitro* δοκιμασία πολλαπλασιασμού (πρόσληψη ³H-θυμιδίνης). Παράλληλα, πέντε ποντίκια από κάθε φυλή ανοσοποιήθηκαν με 110μg p2340 σε CFA και τρεις εβδομάδες αργότερα έγινε αναμνηστική χορήγηση με τη μισή δόση σε ατελές FA (IFA). Μετά από δύο εβδομάδες έγινε λήψη αίματος (για έλεγχο με ELISA της παρουσίας αντι-p2340 IgG αντισωμάτων) και θυρεοειδών αδένων (για ιστολογική μελέτη και προσδιορισμό του βαθμού διήθησης από μονοπύρρηνα κύτταρα). Τα αποτελέσματα δείχνουν πως το p2340: 1) είναι ανοσογονικό σε Τ κυτταρικό επίπεδο σ' όλες τις φυλές και σε Β επίπεδο στις τρεις φυλές που ελέγχθηκαν (CBA/J, C57BL/6, BALB/c) και 2) φέρει κρυπτικό(ούς) επίτοπο(ους). Τα πειράματα για την παθογονικότητα βρίσκονται σε εξέλιξη.

(*Ισότιμη συμμετοχή)

**STUDY OF THE IMMUNOGENICITY AND PATHOGENICITY OF A
THYROGLOBULIN PEPTIDE IN MOUSE STRAINS, SUSCEPTIBLE AND
RESISTANT TO THYROGLOBULIN -INDUCED EXPERIMENTAL
AUTOIMMUNE THYROIDITIS**

Hadjiioannou K.*, Fatouros P.*, Karras E., Liakata E., Lymberi P.

Immunology Lab, Dept of Biochemistry, Hellenic Pasteur Institute, Athens

Hashimoto's thyroiditis (HT) is an autoimmune disease caused by thyroglobulin (Tg)-specific T-cells infiltrating the thyroid gland. Experimental Autoimmune Thyroiditis (EAT) (HT animal model) is induced in animals after challenge with Tg or Tg-peptides. In previous studies of our laboratory it has been found that the human Tg 20mer peptide p2340 (aa 230-2359) is capable of inducing EAT in AKR/J (H-2^k) mice (susceptible strain to EAT). The objective of the present study is the assessment of the immunogenicity (at T and B cell level), and the pathogenicity (EAT induction) of p2340 in four mouse strains, two susceptible (CBA/J (H-2^k) and SJL/J (H-2^s)) and two resistant (C57Bl/6 (H-2^b) and BALB/c (H-2^d)). Four mice of each strain were immunized s.c.: two with 150µg p2340 in Complete Freund's Adjuvant (CFA) and two with 90µg Tg in CFA (used for epitope immunodominance studies). Nine to eleven days later, lymph node cells (LNC) were collected and proliferation assay was performed (incorporation of ³H-Thy). In parallel, five mice of each strain were immunized with 110µg p2340 per animal in CFA and three weeks later were boosted with half the immunizing dose in incomplete FA (IFA). Two weeks later, blood was collected (for the detection with ELISA of anti-p2340 IgG antibodies) and thyroids were removed (for histological examination and detection of the infiltration by monocytes). The results indicate that p2340 peptide: 1) is immunogenic at T cell level in all four strains and at B cell level in the three strains tested (C57Bl/6, CBA/J, BALB/c) and 2) encompasses cryptic epitope(s). Experiments on the pathogenicity of the peptide are in progress.

(*Equal Participation)

Η ΑΣΥΝΕΧΕΙΑ ΠΟΥ ΠΡΟΚΑΛΕΙΤΑΙ ΣΤΟΝ ΠΟΤΑΜΟ ΑΞΙΟ ΑΠΟ ΤΟ ΦΡΑΓΜΑ ΤΗΣ ΕΛΛΗΣ.

Χατζηνικολάου Γ., Λαζαρίδου Δημητριάδου Μ., Bourguignon V.

Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., ΤΘ 134, ΤΤ 54124, Θεσ/νίκη

Η αρχή της συνέχειας των ποταμών (RCC) όπως αναπτύχθηκε από την Vanote *et al.*, 1980, εκφράζεται από την αναμενόμενη ακολουθία της βενθοπανίδας κατά μήκος ενός αδιατάρακτου ποτάμιου συστήματος. Η ιδανική αυτή ακολουθία μεταφρασμένη στις τροφικές κατηγορίες βενθικών μακροασπονδύλων από τις πηγές ως τις εκβολές αντιδρά στην προοδευτική μετάβαση του ποτάμιου συστήματος από ετερότροφο σε αυτότροφο. Οι Ward και Stanford, 1983, ανέπτυξαν την αρχή της ασυνέχειας των ποταμών όταν προκαλείται διαταραχή από την ύπαρξη φραγμάτων.

Στον ποταμό Αξιό η ύπαρξη του φράγματος της Έλλης περίπου 30 km πριν τις εκβολές, που κλείνει κατά τους θερινούς μήνες για αρδευτικούς σκοπούς, συντελεί στο διαχωρισμό του ποτάμιου συστήματος σε δύο τμήματα : ανάντη και κατόντη. Για τη μελέτη των επιπτώσεων του παραπάνω διαχωρισμού και τον έλεγχο της αρχής της Ασυνέχειας στην περίπτωση του Αξιού, έγιναν 16 δειγματοληψίες σε στρατηγικά τυχαία σημεία κατά μήκος των 80 km του ελληνικού τμήματος του ποταμού, τον Αύγουστο του 2000. Οι δειγματοληψίες αφορούσαν σε υδρομορφολογικά, φυσικοχημικά και βιολογικά (βενθικά μακροασπόνδυλα) χαρακτηριστικά του ποταμού. Η ανάλυση των στοιχείων περιλαμβάνει τη χρήση του «Ελληνικού Συστήματος Αξιολόγησης» (ΕΣΑ), και κατάλληλες πολυπαραγοντικές στατιστικές μεθόδους ομαδοποίησης (PRIMER, FUZZY) και ταξιθέτησης (CANOCO). Τα αποτελέσματα της εργασίας, όπως παρουσιάζονται με τη βοήθεια και των ΓΣΠ (GIS), επιβεβαιώνουν την αρχή της ασυνέχειας και αναδεικνύουν τις επιπτώσεις από την ύπαρξη φραγμάτων.

DISCONTINUITY OF AXIOS RIVER (NORTH GREECE) PROVOKED BY THE PRESENCE OF THE ELLIS DAM

Chatzinikolaou Y., Lazaridou Dimitriadou M., Bourguignon V.

Laboratory of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, PO Box 134, GR-54124, Thessaloniki, Greece

The continuity in the community of benthic macroinvertebrates along an undisturbed river system is best described in the River Continuum Concept (RCC) by Vanote et al., 1980. This ideal continuity is expressed as moderate gradual changes from sources to estuaries through the various feeding groups of the benthic macroinvertebrate community responding to the gradual transform of heterotrophy to autotrophy in the river system. Ward and Stanford (1983) developed the Serial Discontinuity Concept concerning the downstream effects of dams.

Ellis dam in Axios River is located 30 km upstream its estuary and serves irrigation purposes. During the summer the dam's portals are closed. Therefore Ellis dam divides Axios river in two parts: upstream and downstream. The present study focuses on the impacts of the above division and consequently tests the Serial Discontinuity Concept. In August 2000 sixteen sites along the Greek length of the river where sampled after being selected in a stratified random way. The sampled parameters concerned hydromorphological, physicochemical and biological (benthic macroinvertebrates) parameters of the river. For the analysis of the data the "Hellenic Assessment System" and proper statistics (the clustering techniques PRIMER, FUZZY and the ordination method of CANOCO) were used. GIS was used for presenting the results.

The results confirm the Serial Discontinuity Concept and offer insight knowledge on the impact of dams.

**ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΕΚΤΟΥ ΚΑΙ ΕΒΔΟΜΟΥ ΣΥΣΤΑΤΙΚΟΥ ΤΟΥ
ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΙΡΙΔΙΖΟΥΣΑ ΠΕΣΤΡΟΦΑ****Χονδρού Μ.Π., Παπαναστασίου Α.Δ. και Ι.Κ. Ζαρκάδης***

Εργαστήριο Γεν. Βιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Παν/μιο Πατρών, Ρίο 26500, Πάτρα

Το σύστημα του συμπληρώματος αποτελεί βασικό συστατικό της άμυνας των σπονδυλωτών έναντι των παθογόνων. Ενεργοποιείται μέσω της κλασικής, εναλλακτικής και λεκτινικής οδού, οδηγώντας στο σχηματισμό του τελικού λυτικού συμπλόκου (MAC), στην επιφάνεια του εκάστοτε μικροοργανισμού. Τα τελικά συστατικά του συμπληρώματος (TCC), C6, C7, C8α, C8β και C9, φαίνεται να έχουν προκύψει από ένα κοινό προγονικό γονίδιο, καθώς φέρουν, εκτός των άλλων κοινών χαρακτηριστικών της δομής των, και την περιοχή MACPF, η οποία υπάρχει και στις περφορίνες. Μέχρι σήμερα, τα συστατικά C6 και C7 έχουν χαρακτηριστεί κυρίως στα θηλαστικά. Προκειμένου να μελετηθεί η μοριακή εξέλιξη της λυτικής οδού του συμπληρώματος, κλωνοποιήθηκαν τα συστατικά C6 και C7 στην ιριδίζουσα πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*), με βάση cDNA βιβλιοθήκες. Η προκύπτουσα αμινοξική αλληλουχία των C6 και C7, παρουσιάζει 40 και 44% ταυτοσημία με τις αντίστοιχες πρωτεΐνες του ανθρώπου και πολύ χαμηλότερη (<30%), με τις άλλες γνωστές TCC πρωτεΐνες. Οι μοριακές δομές των πρωτεϊνών C6 και C7 της πέστροφας ομοιάζουν με τις αντίστοιχες των θηλαστικών και ο κυστεϊνικός τους σκελετός είναι συντηρημένος. Η ιστική έκφραση των μορίων C6 και C7 της πέστροφας, στο επίπεδο του mRNA, παρουσιάζει διαφορετικό πρότυπο, από το πρότυπο των αντίστοιχων γονιδίων του ανθρώπου. Η πλήρης αλληλουχία των C6 και C7 cDNAs της πέστροφας, η σύγκριση με τις αντίστοιχες πρωτεΐνες των θηλαστικών και τα υπόλοιπα μέλη του TCC, η φυλογενετική ανάλυση, η ιστική έκφραση σε επίπεδο mRNA, καθώς και η παρουσία των γονιδίων C6 και C7 στο γονιδίωμα της πέστροφας, θα αποτελέσουν αντικείμενο της παρουσίασης.

*Η εργασία υποστηρίζεται από το πρόγραμμα «Κ.Καραθεοδωρή» (BII7), Επιτροπή Ερευνών, Πανεπιστήμιου Πάτρας.

MOLECULAR CLONING OF THE SIXTH AND SEVENTH COMPONENTS OF COMPLEMENT IN RAINBOW TROUT

Chondrou M.P., Papanastasiou A.D. & I.K. Zarkadis

Department of Biology, School of Medicine, University of Patras, Rion 26500 Patra, Greece.

The complement system is a major humoral component of vertebrate defenses for tagging and killing target microorganisms. Complement activation via the classical, lectin and alternative pathway leads to the formation of the membrane attack complex, which is a multiprotein assembly that perforates cell membranes forming transmembrane channels. The terminal complement components (TCC), C6, C7, C8 α , C8 β and C9 seem to have originated from a common ancestral gene, sharing a characteristic modular structure, that includes the membrane attack complex/perforin (MACPF) domain, which is also found in perforin. To date, the C6 and C7 components have been cloned mainly in mammalian. In order to classify the molecular evolution of the lytic pathway of complement, we have cloned the C6 and C7 components in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from cDNA libraries. The deduced amino-acid sequence of trout C6 and C7 show 40 and 44% identity to human C6 and C7, respectively, and much lower homology (<30%) to the other known TCC proteins. The modular structures of trout C6 and C7 are similar to mammalian counterparts, and the cysteine backbone is conserved. The tissue expression of trout C6 and C7 mRNAs show different profiles in comparison to those of human C6 and C7. The primary and modular structure of trout C6 and C7 proteins, the comparison to other known TCC molecules and the phylogenetic tree analysis, the profiles of the gene presentation in trout genome and mRNA tissue expression, will be presented.

EYPETHPIO

INDEX

A

Amawi K., 142

BBecker H., 338
Blackman R.L., 198
Blaise M., 338
Bourguignon V., 380**C**

Cao L., 214

DD'heygere T., 68
De Marco V., 96
De Pauw N., 68
De Wolf T., 268
Dierckens K., 268
Divanach P., 58
Dooms S., 268
Dowling A., 240**G**Ghiso J., 376
Goethals P.L.M., 68**K**

Kern D., 338

M

Martinez-Gonzales B., 256

R

Richards M.P., 288

SSingehara T., 198
Sorgeloos P., 268
Stoeva S., 76
Suchentrunk F., 336
Swaab D., 254**T**Takada H., 198
Tchamitchian M., 346

Tucker P.A., 270

U

Unmehopa U., 254

VVadstein O., 268
Van Heerikhuze J., 254
Voelter W., 76, 328**A**Αγγελίδου Ε., 268
Αγγελόπουλος Κ. 2, 4, 276
Αγγελόπουλος Μ., 100
Αγριανίδης Α., 146
Αθανασίου Ε., 10
Αθανασούλα Α., 6
Αλατζάς Α., 8
Αλεξόπουλος Ι.Κ., 114
Αλεπόρου-Μαρίνου Β., 144, 342
Αμπατζόπουλος Θ.Ι., 270
Αναγνωστάκης Ν., 10, 128
Ανδρονής Χ., 150
Ανδρούτσος Γ., 182
Ανέστης Α., 12, 30
Αντωνέλου Μ.Χ., 14, 202
Αντωνίου Π., 16
Αντωνοπούλου Ε., 18
Αποστολάκος, Π., 376
Αποστολοπούλου Δ., 316
Αποστολοπούλου Μ., 22
Αποστόλου Ε., 100
Αραμπατζίδου Μ., 24
Αρσένου Ε., 218
Αυγητίδου Α., 26**B**Βαβαρούτα Β., 28
Βαβουλίδου Δ., 30
Βαγενά Α., 312
Βαγενάς Χ., 312
Βαλάκος Ε.Δ., 22
Βαλκανά Θ., 154
Βαμβακόπουλος Ν., 182, 312, 318
Βαρβαρήγος Β., 32
Βασιλάκου Μ., 34

Βασιλείου Γ., 320, 322
Βασιλόπουλος Α., 36
Βασσίλαρος Σ., 144, 374
Βαφία Αικ., 38
Βεϊνή Μ., 50
Βελέντζας Α.Δ., 40, 266
Βενέτης Κ., 42
Βενετσανέας Ν., 44
Βλαβάκη Μ., 46
Βλαχάκη Ε., 26
Βλαχοδημητρόπουλος Δ., 144
Βογιατζής Ν., 320, 322
Βολουδάκη-Μπαλατζή Ε., 144
Βοτέας Β., 250
Βουκελάτου Δ., 48
Βουλγαρέλη Χρ., 66
Βούρτση Αθ., 50
Βουτσάς Ι. 76, 254, 330

Γ

Γαζελοπούλου Ε., 128
Γαϊτανάκη Κ., 52, 54, 134
Γαλάτης Β., 32, 376
Γαλή Α., 322
Γαρεφαλάκη Μ.-Ε., 56
Γεωργάκη Σ., 76
Γεωργακοπούλου Ε., 58, 148
Γεωργιάδου Μ., 354
Γιάγκου Μ., 138, 286, 350
Γιάννης Αθ., 60
Γιαννόπουλος Γ., 214
Γκατζόλα Μ., 320
Γκόγκας Χ.Γ., 64
Γκόνος Ε.Σ., 298
Γκόνου-Ζάγκου Ζ., 70, 74, 136
Γουργού Ε., 52
Γουργουλιάνης Κ.Ι., 10, 128, 140
Γούτας Ν., 144
Γραικίνης Δ., 66, 314

Δ

Δάκου Ε., 68
Δεδούσης Γ., 250
Δελατόλα Ε.Ν., 112
Δεληβοριάς Π., 70
Δερμενούδης Σ., 48
Δευτερέος Σ., 150

Δημακοπούλου Α., 104
Δημητριάδης Β.Κ., 72, 82, 302
Δημητριάδης Ι.Σ., 74
Δημοπούλου Δ., 320, 322
Διαμαντοπούλου Α., 248
Διαπούλη Φ., 76
Δομουκτσίδου Γ.Π., 72, 82, 302
Δουλγέρη-Ιντζεσίλογλου Α., 78
Δρετάκη Ο., 92
Δρίκος Ι., 354
Δρόσος Γ., 144
Δρόσου Μ., 178

Ε

Ελευσινιώτη Α.Λ., 84
Ερπαπάζογλου Ζ., 86
Ευαγγελινός Ν., 88
Ευθυμιάδης Σ., 46, 278, 280, 366,
378
Ευσταθιάδου Χ., 90
Ευστρατίου Μ.Α., 208, 374

Ζ

Ζακοπούλου Ρ., 92
Ζακυνθινός Γ., 178
Ζαρκάδης Ι.Κ., 382
Ζαχαροπούλου Α., 102, 346
Ζούρος Ε., 42, 106, 216
Ζωγράφος Λ.Α., 94

Η

Ηλία Γ., 96
Ηλιοπούλου-Γεωργουδάκη Ι., 44, 122,
222
Ηλιού Μ., 98

Θ

Θάνος Δ., 100
Θεοδωράκη Μ., 102, 346
Θεοδωρή Β., 160
Θεοδωρίτση Δ., 104
Θεοδωροπούλου Β., 156, 158
Θεοδώρου Α., 294
Θεοδώρου Γ., 172, 210
Θεοφιλίδης Γ., 268
Θωμόπουλος Γ., 220

I

Ιακωβίδου Ζ., 218, 220
Ιερεμιάδου Φ., 106
Ίτζου Α., 108
Ιωαννίδου-Παπαγιαννάκη Ε., 26

K

Καλαμπόκη Λ., 236
Καλιάφας Α., 244, 324
Καλινδέρη Κ., 26
Καλιοντζοπούλου Α., 184
Καλμαντή Δ., 156, 158
Καλογερίδης Α., 26
Καλογιάννη Μ., 38, 82, 238, 240
Καλπαξής Δ.Λ., 246, 288
Καναβέτας Π., 110
Κανάρη Μ., 110
Κανέλλης Δ., 270
Κανελλοπούλου Δ., 2, 4, 276
Κανινή Γ.Σ., 112
Καπασά Μ.Γ., 114
Καπετανάκη Γ., 116
Καππός Η., 270
Καραγκούνη Α., 112, 120, 212
Καραδήμα Κ., 122
Καραϊσκού Ν., 124
Καρακάντζα Μ., 172, 210
Καρακασιλιώτης Ι., 126
Καρακατσάνης Ι., 182
Καραμπαμπά Φ.Ι., 14
Καραναστάση Γ., 10, 128
Καράνης Π., 208
Καραπιδάκη Ε., 218
Καρατζά Π., 130
Καρατζάς Δ., 124, 354
Καρίνος Θ., 236
Καρράς Ε., 380
Κασπαριάν Κ., 250
Κασπίρης Π., 132, 148
Κατελανή Μ., 182
Κατσάρα Ό., 250
Κατσαρός Χ., 32
Κατσέλης Γ., 28
Κατσίφας Ε.Α., 112, 212
Κατσούλας Χ., 76
Κατσώρχης Θ., 126, 196, 198, 230
Καψανάκη-Γκότση Ε., 74, 136

Κεντούρη Μ., 58
Κεφαλογιάννη Ε., 52, 134
Κιαπέκου Ε., 226
Κιούπη Β., 136
Κίττας Κ., 348
Κίττας Χρ., 144
Κλέτσας Δ., 182
Κλωνιζάκης Ι., 26
Κλωνιζάκης Φ., 26
Κοζάου Ζ., 48
Κοκκινάκη Μ., 316
Κοκκίνη Σ., 282
Κολιάκος Γ., 38, 160, 352
Κόλλια Π., 182, 312, 318
Κομητοπούλου Α., 162, 346
Κοντάνα Α., 138
Κοντογιάννη Κ., 148
Κοτζαμανίδης Χ., 350
Κοτζαμπάση Κ., 286
Κοτταρίδη Χ., 230
Κουγιανού-Κουτσούκου Σ., 142
Κουμαριανού Π., 142
Κουλούκουσα Μ., 144
Κουμουνδούρος Γ., 58, 148
Κούμπη Δ., 182
Κουντιδής Η., 146
Κουρελής Α., 138, 350
Κουρουνάκη Α., 286
Κουσουλάκος Σ., 226, 342
Κουτσογιαννάκη Σ., 88
Κουτσούκος Π., 2, 4, 276
Κουτσουρέα Α., 218
Κουττούκη Σ., 58, 148
Κρίγκας Ν., 282
Κυπαρίσσης Α., 174
Κυριακόπουλος Γ., 26
Κυριακοπούλου Ι., 26
Κυριακοπούλου-Σκλαβούνου Π., 344
Κωνσταντή Ο., 40, 150
Κωνσταντινίδης Χ.Θ. 152
Κωνσταντινοπούλου Β., 224
Κωνσταντίνου Κ., 154
Κωσταράς Λ., 236
Κωσταρίδης Π., 16
Κωσταρόπουλος Ι., 90, 156, 158
Κωστίδου Ε., 160

Κωτσάκης Σ., 52

Λ

Λαγός Δ., 162
Λαζαρίδου-Δημητριάδου Μ., 68, 96,
382
Λαζάρου Δ., 6, 164, 166
Λάζου Α., 168, 242
Λάμνησου Κ., 34, 250
Λαμπροπούλου Μ., 172, 194, 210
Λάμπρου Ε., 172
Λεβίζου Ε., 174
Λεκανίδου Ρ., 334
Λευκός Ν., 26
Λιαδάκη Κ., 6
Λιακατά Ε., 380
Λιμήτσιου Ο.Κ., 176
Λιόπα-Τσακαλίδη Α., 178
Λίτου Ζ.Ι., 180, 292
Λουμπουρδής Ν., 90, 156, 158
Λουτράδη Α., 14
Λουτράδης Δ., 226
Λυγερού Ζ., 98
Λυκούση Σ., 182, 312
Λυμπεράκης Π., 184, 186
Λυμπέρη Π., 380
Λυμπεροπούλου Δ.Σ., 212

Μ

Μάγκουρα Δ., 188
Μαγκριώτη Χ.Κ., 192
Μαλιδέλης Γ., 256
Μαλούχου-Γκρίμπα Β., 196, 198
Μάμαλη Ε., 194
Μαμούρης Ζ., 338
Μανιάτη Ε., 196, 198
Μάνιος Ν., 354
Μάντζιου Γ., 186
Μανώλης Σ.Κ., 92, 290, 336, 342,
368, 370
Μαργαρίτη Μ., 104, 154
Μαργαρίτης Λ.Χ., 14, 40, 106, 202,
230, 234, 260, 266, 274, 296
Μαργαριτόπουλος Ι., 200, 332
Μαργαρώνη Μ., 124
Μαργέτης Π.Ι., 202
Μαριδάκη Κ., 204

Μαρίνογλου Κ., 162
Μαρίνος Ε., 144
Μαρίνου Χ., 144
Μαρκουλάτος Π., 126, 230
Μαρμάρας Β., 172, 194, 210
Μαρμαρινός Μ., 206
Μαρσώνη Τ., 208
Μασουρίδου Σ., 372
Ματθιόπουλος Κ., 332
Ματσώκης Ν., 104
Μαυραγάνη-Τσιπίδου Π., 108, 146,
232
Μαυραγάνη Γ., 206
Μαυρούλη Μ., 210
Μεγαλοφώνου Π., 50
Μέγας Χ., 108
Μεϊντάνης Χ., 212
Μελά Α., 214
Μεντής Α., 258
Μέριανου Β., 182
Μεσσήνη-Νικολάκη Ν., 10, 110, 128,
140, 204
Μίζη Α., 216
Μίντζας Α., 102, 346
Μιόγλου Ε., 218, 220
Μίτσεβα Η., 194
Μιχαηλίδης Β., 12, 30
Μιχόπουλος Σ., 258
Μοράκη Μ., 254, 330
Μοσχονάς Ν.Κ., 316
Μουδριανάκης Ε.Ν., 114
Μουρελάτος Δ., 218
Μουσικός Σ., 242
Μουστάρδας Π., 220
Μπάγκος Π.Γ., 84, 180, 202, 292
Μπακούλια Π., 222
Μπαλατίνου Ε., 250
Μπαλατσός Ν., 224
Μπαξεβάνης Α., 270
Μπέης Ι., 52, 54, 134
Μπεθάνη Ι., 278
Μπερέτσος Π., 226
Μπιλλίνη Μ., 228
Μπολανάκη Ε., 230
Μπόλαρης Σ., 154
Μπουγιούκος Κ., 284, 310
Μυλωνάς Μ., 184

Ν

Ναζλή Ε., 232
 Νέζης Ι.Π., 234
 Νικολακοπούλου Δ.Λ., 212
 Νικολαρόπουλος Σ., 218
 Νούσης Φ., 236
 Νταιλιάνης Σ., 82, 238, 240
 Νταλέκος Γ.Ν., 318
 Ντάλλας Κ., 24
 Ντρίνια Α. 244
 Νώλης Η., 100

Ξ

Ξαπλαντέρη Μ.Α., 246
 Ξυλούρη Μ., 248

Ο

Οδιάτης Χ., 250
 Οικονομίδου Β.Α., 192, 252
 Ορθόπουλος Γ., 330

Π

Παλαιολόγου Μ., 254
 Παλέτας Κ., 160
 Παναγιάρης Γ.Η., 368
 Παναγιωτακοπούλου Μ., 256
 Παναγιωτοπούλου Ε.Γ., 258
 Παναγόπουλος Ι.Δ., 260
 Παναγόπουλος Ν.Τ., 104
 Παναγοπούλου Ε., 144
 Πανόπουλος Χ., 330
 Πανοτοπούλου Ε., 262, 274, 296
 Πάνου – Φιλοθέου Ε., 232
 Πανταζόπουλος Ν., 250
 Παπαγεωργίου Ν., 354
 Παπαδάκη Ε., 330
 Παπαδάκης Μ., 182, 312
 Παπαδήμας Γ., 266
 Παπαδόπουλος Α., 6, 164, 166
 Παπαδόπουλος Ν., 108, 146
 Παπαζαφείρη Π., 36, 248
 Παπαζαχαρίου Λ., 268
 Παπακώστας Σ., 270
 Παπαμιχαήλ Μ., 254, 330
 Παπαναστασίου Α.Δ., 384
 Παπανδρέου Ν.Χ., 114, 270
 Παπασιδέρη Ι. Σ., 14, 40, 234, 274

Παπασπύρου Η., 274
 Παπατριανταφύλλου Μ., 54
 Παπούλια Ε., 254
 Παππάς Β., 162
 Παραμυθιώτης Δ., 286
 Παρασκευά Χ., 2, 4, 276
 Παρασκευάς Μ., 274
 Παρθενίου Φ., 232
 Παρισιάδου Λ., 278, 280
 Παρχαρίδου Π., 282
 Παστάκα Χ., 140
 Πατεράκης Γ., 182
 Πατσιά Α., 96
 Παυλίδης Π., 284, 310
 Παφίλης Π., 22
 Περούλης Ν., 138, 286, 350
 Περράκης Α., 98
 Περσίδης Α., 150
 Πέστε Κ., 34
 Πετράκη Κ., 258
 Πετρόπουλος Α., 288
 Πετρουτσά Ε.Ι., 92, 290, 368, 370
 Πετσαλάκη Ε.Ι., 292
 Πέττα Β., 142
 Πετυχάκης Γ., 294
 Πιπεράκης Σ.Μ., 10, 110, 128, 176, 204
 Πορίκη Ο., 296
 Πούλιος Ε., 298
 Πουρσανίδης Δ., 186
 Προμπονάς Β.Ι., 64, 94, 176, 300
 Πυριανιάν Ν., 332

Ρ

Ραφτοπούλου Ε.Κ., 72, 82, 302
 Ρεντινιώτη Α.Α., 212
 Ριζοπούλου Σ.Θ., 206, 304
 Ρογδάκης Γ., 28
 Ρογκάκου Ε., 224, 306
 Ροδάκης Γ.Κ., 42, 106, 216
 Ρούβαλη Α., 122
 Ρούκος Β., 98

Σ

Σαϊτάκης Μ., 54
 Σαλίχος Λ., 284, 310
 Σαμαρά Μ., 312

Σαμαράς Π., 138
Σαραβέλος Σ., 314
Σαραφίδου Θ., 316
Σάτρα Μ., 318
Σγούρας Δ., 258
Σέκερη Κ., 182
Σεκερλή Ε., 320, 322
Σεργίου Α., 324
Σίμος Γ., 326
Σιώμου Ε., 320, 322
Σκοπελίτη Μ., 76, 330
Σκούρας Π., 332
Σούρδης Ι., 284, 310
Σουρμελή Σ., 334
Σοφιανοπούλου Β., 86, 228
Σπάθης Α., 36
Σπαθής Α.Δ., 104
Σπηλιάς Γ., 336
Σπηλιόπουλος Γ., 44
Σπορδίλη Ε., 198
Σπυριδωνίδου Α., 218
Σπυρόπουλος Γ.Κ., 192
Σπυροπούλου- Βλάχου Μ., 34
Σταθόπουλος Κ., 340
Σταθοπούλου Δ., 54
Στάικου Α., 56, 360
Σταματάκης Κ., 228
Σταματελοπούλου Κ., 2, 4
Σταμάτης Κ., 338
Σταματίου Δ., 16
Σταματοπούλου Β., 340
Σταυροπούλου-Γκιόκα Αικ., 34
Στεργιόπουλος Κ., 234
Στεφανοπούλου Σ., 206
Στραβοπόδη Ε.Ι., 342
Στραβοπόδης Δ.Ι., 40, 234
Στραϊτούρης Α., 212
Στυλιανού Π., 344
Συνετός Δ., 152, 358
Σύρρου Μ., 322
Σφακιανάκης Δ.Γ., 58

Τ

Ταραβήρας Σ., 98
Τατάρη Μ., 102, 346
Τενέντες Γ., 2, 4
Τέστα Θ., 350

Τζαβάρας Ν., 16
Τζαβάρας Ν., 64
Τζανεδάκη Α., 208
Τζανετάκης Ν., 350
Τζερανάκη Ε., 88
Τζουνάκας Β., 206
Τηλαβερίδου Κ., 354
Τοπουρίδου Κ., 352
Τρακάλα Μ., 332
Τραυλού Α., 16
Τριανταφυλλίδης Α., 124, 270, 354
Τριανταφυλλίδης Κ., 124, 354
Τριανταφύλλου Γ., 294
Τρουγκάκος Π.Ι., 298
Τσάκας Σ., 172, 194, 210
Τσαμακίδης Κ., 274
Τσάπας Α., 160
Τσέζου Α., 318
Τσέκος Ι., 356
Τσεκούρα Χρ., 268
Τσελίκα Σ., 358
Τσέργα Α., 182
Τσερκέζογλου Α., 296
Τσίγκα Α., 26, 320, 322
Τσιλιγιάννη Θ., 360
Τσιλιμιγκάκη Σ., 10, 110, 128, 140, 204
Τσίντζου Μ., 242
Τσιρπανλής Γ., 34
Τσιρώνης Ι., 24
Τσιτσιλώνη Ο., 76, 254, 296, 330,
362
Τσιτσιπής Ι.Α., 200, 332

Φ

Φάσσα Α., 366
Φατούρος Π., 380
Φερλέ Β., 52
Φερτάκης Β., 24
Φλυτζάνης Κ.Ν., 24, 48, 236
Φλώρου Ε., 136
Φουντουλάκης Γ., 336, 368, 370
Φουντούλη Α., 8
Φουστέρης Μ., 218
Φραγκούλη Σ., 374
Φράγκου-Μασουρίδου Ε., 372
Φραντζιός Γ., 232
Φραντζιός Γ., 376

Φριλίγγος Ε., 128
Φωτεινοπούλου Α., 46, 378

Χ

Χαβάκη Σ., 144
Χάλκου Κ.Ι., 212
Χαμόδρακας Σ.Ι., 64, 84, 94, 114, 176,
180, 192, 252, 272, 292, 300
Χαραλαμπίδου-Βρανίτσα Σ., 26
Χασανίδης Χ., 312
Χατζηνίκος Ε., 354
Χατζηϊωάννου Κ., 380
Χατζηνικολάου Γ., 96, 382

Χατζηνικολάου Δ.Γ., 112
Χατζηπαναγή Δ., 34
Χατζηπέτρου Λ., 286
Χατζοπούλου Α., 134
Χατζοπούλου-Κλαδαρά Μ., 268
Χειμώνα Χρ., 206
Χιώτογλου Ι., 312
Χονδρού Μ.Π., 384
Χουντάλα Φ., 236
Χριστόπουλος Γ., 204
Χρίστου Κ., 10, 128, 140
Χριστοφορίδου Μ., 352,
Χρυσάνθης Γ., 102, 346