ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

25ο ΕΤΗΣΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ
25th ANNUAL CONFERENCE

ΠΡΑΚΤΙΚΑ
PROCEEDINGS

Το 25ο Ετήσιο Συνέδριο αφιερώνεται στη μνήμη του Καθηγητή Γεωργίου Πανταζή

29η Μαΐου – 1η Ιουνίου 2003
May 29 – June 1, 2003

ΜΥΤΙΛΗΝΗ – ΠΟΛΥΧΝΙΤΟΣ ΛΕΣΒΟΥ

ISBN / ISSN: 960-87324-1-7

© Ελληνική Εταιρεία Βιολογικών Επιστημών, 2003

Εκτυπώθηκε στο Εκτυπωτικό Κέντρο του
Εθνικού & Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών,
Σταδίου 5 Αθήνα

ΧΟΡΗΓΟΙ - SPONSORS

Νομαρχιακή Αυτοδιοίκηση Λέσβου
Δήμος Μυτιλήνης
Δήμος Πολυχνίτου Λέσβου
Υπουργείο Αιγαίου

Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

MAGENTA ΕΠΕ.
ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΠΑΡΙΣΙΑΝΟΥ Α.Ε.
ΠΑΠΑΣΩΤΗΡΙΟΥ
ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΝΕΩΝ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ

BIOSURE – R & T Cell Co.
BALKAN-MED
Panamed – Μιχαήλ Κ. Τσικαλάκης

ΕΠΟΜ (Ουζο MINI)
ΟΥΖΟ ΤΙΚΕΛΛΗ
Hyper (multimedia store), Μυτιλήνη
Mayaba, Μυτιλήνη
PUB – CAFÉ IPPOCAMPOS

Διοικητικό Συμβούλιο Ε.Ε.Β.Ε. (2001-2003)
Hellenic Society for Biological Sciences Board (2001-2003)

Πρόεδρος :	Καθηγητής Λουκάς Χ. Μαργαρίτης
Αντιπρόεδρος :	Καθηγητής Βασίλης Μαρμάρας
Γενικός Γραμματέας :	Αν. Καθηγ. Σταύρος Κουσουλάκος
Ταμίας :	Επικ. Καθηγ. Σωτήρης Κ. Μανώλης
Μέλη :	Καθηγητής Γιώργος Ν. Θωμόπουλος
	Καθηγητής Νίκος Μοσχονάς
	Αν. Καθηγ. Κάτια Κομητοπούλου

Οργανωτική Επιτροπή
Organizing Committee

Πρόεδρος	Καθηγητής Λ.Χ. Μαργαρίτης
Αντιπρόεδρος Α'	Καθηγητής Β. Μαρμάρας
Αντιπρόεδρος Β'	Καθηγητής Γ.Ν. Θωμόπουλος
Γενικός Γραμματέας	Αν. Καθηγ. Σ.Λ. Κουσουλάκος
Ειδικός Γραμματέας	Καθηγητής Ν. Μοσχονάς
Ταμίας	Επικ. Καθηγητής Σ.Κ. Μανώλης
Μέλη	Καθηγητής Θ. Παταργιάς
	Καθηγητής Μ. Καρύδης
	Καθηγητής Α. Τρούμπης
	Αν. Καθηγ. Γ. Ροδάκης
	Επικ. Καθηγ. Μ. Λαμπροπούλου
	Επικ. Καθηγ. Ε.Δ. Βαλάκος
	Καθηγητής Μ.Ε. Κ. Ταξείδης

- **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
Δρ. Σταύρος Λ. Κουσουλάκος

Τμήμα Βιολογίας
Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΠΡΟΣΦΩΝΗΣΗ
ΤΟΥ ΠΡΟΕΔΡΟΥ ΤΗΣ ΟΡΓΑΝΩΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ
ΤΟΥ 25ου ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟΥ ΣΥΝΕΔΡΙΟΥ, ΚΑΘΗΓΗΤΗ
ΛΟΥΚΑ Χ. ΜΑΡΓΑΡΙΤΗ

Αγαπητοί Συνάδελφοι,

Το 25ο Πανελλήνιο Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών διοργανώνεται στην καρδιά του Ανατολικού Αιγαίου, στη πανέμορφη Μυτιλήνη, από 29 Μαΐου μέχρι 01 Ιουνίου 2003.
Η επιλογή της Μυτιλήνης 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) και Χίο (2001). Πέρυσι οι συνθήκες μας οδήγησαν στην Ερέτρια (2002) σπάζοντας την παράδοση που είχε δημιουργηθεί τα τελευταία χρόνια. Όμως όπως αποδείχθηκε η συμμετοχή σας ήταν και στην Ερέτρια εκπληκτική, αλλά και με σημαντικότατη παρουσία στις συνεδριάσεις. Έπρεπε να βρεθεί λοιπόν κάποιο νησί από τα τόσα πανέμορφα του Αιγαίου που να μπορούσε να μας φιλοξενήσει. Βέβαια θα πρέπει θυμίσω ότι είναι η δεύτερη φορά που διοργανώνεται στο ετήσιο συνέδριό μας στη Λέσβο, η προηγούμενη φορά ήταν το 1990. Μετά από 13 ολόκληρα χρόνια επισκεπτόμαστε πάλι το νησί του αείμνηστου Δάσκαλού μας και Ιδρυτή του Τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Αθηνών, του Καθηγητή Γεωργίου Πανταζή, στην μνήμη του οποίου αφιερώνεται αυτό το συνέδριο, αφού συμπληρώνονται 30 χρόνια από το θάνατό του.

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 πληροφορούν 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 ομιλίες και τις αναρτώμενες εκθέσεις (posters). Ακόμη υπάρχουν είκοσι κεντρικές ομιλίες, μια ειδική συνεδρία αφιερωμένη στη «Βιοποικιλότητα του Αιγαίου» και μια πανηγυρική συνεδρία – επιστημονικό μνημόσυνο αφιερωμένο στον Καθηγητή Γεώργιο Πανταζή, η οποία θα πραγματοποιηθεί στη γενέτειρά του τον Πολυχνίτο Λέσβου, το Σάββατο 31/05/2003.

Η Οργανωτική Επιτροπή οφείλει να ευχαριστήσει τους τοπικούς παράγοντες, ιδιαίτερα τον Νομάρχη κ. Παύλο Βογιατζή, τον τέως Δήμαρχο Πολυχνίτου κ. Στρατή Γιανέλη και τον Καθηγητή Μέσης Εκπαίδευσης κ. Κωνσταντίνο Ταξείδη για τη αμέριστη βοήθειά τους στην οργάνωση του 25ου Συνεδρίου, καθώς επίσης και τους χορηγούς. Καλωσορίζει τους Συνέδρους και τους εύχεται καλή επιτυχία και ευχάριστη διαμονή.

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Ο Γεώργιος Πανταζής γεννήθηκε στη Μυτιλήνη Λέσβου το 1906, καταγόμενος εκ **Πολυχνίτου Λέσβου**. Τέλειωσε Δημοτικό και Γυμνάσιο στη Μυτιλήνη και στη συνέχεια μετέβη στη Λειψία για σπουδές Ιατρικής τις οποίες περάτωσε στο Πανεπιστήμιο Αθηνών το 1927. Έγινε Διδάκτορας Ζωολογίας στο Πανεπιστήμιο του Μονάχου το 1929 και έκανε μεταδιδακτορικές σπουδές στη Γερμανία και Ιταλία όπου, με εισήγηση του Κοσμήτορα Καραθεοδωρή μετέβη για μελέτη της πανίδας της Μεσογείου στο ζωολογικό σταθμό της Νάπολης. Μετά τη επιστροφή του στην Ελλάδα και την εκπλήρωση των στρατιωτικών υποχρεώσεων, εργάσθηκε στην Υγειονομική Σχολή Αθηνών ως καθηγητής Ιατρικής Ζωολογίας και στο σταθμό αντιμετώπισης της ελονοσίας των Γιαννιτσών.

Το έτος 1933 εκλέγεται έκτακτος καθηγητής στην έδρα της Ζωολογίας του Πανεπιστημίου Αθηνών, όπου έγινε τακτικός καθηγητής το 1937. Παράλληλα, διηύθυνε και οργάνωσε το Ζωολογικό Μουσείο. Τόσο το Εργαστήριο Ζωολογίας όσο και το Μουσείο στεγάζονταν στο κεντρικό κτίριο του Πανεπιστημίου Αθηνών. Δίδασκε Ζωολογία στους φοιτητές της τότε Φυσικομαθηματικής Σχολής (Φυσικό, Μαθηματικό, Φαρμακευτικό, Χημικό) και της Ιατρικής. Το 1958 εκλέγεται καθηγητής στην έδρα της Βιολογίας και διδάσκει Γενική Βιολογία αλλά και Ζωολογία μέχρι την πλήρωση της κενής έδρας της Ζωολογίας το 1961 από τον Β. Κιόρτση.

Την περίοδο 1940-41 υπηρέτησε ως ανθυπίατρος στο Κιλκίς.

Διετέλεσε Κοσμήτορας της Φυσικομαθηματικής Σχολής κατά τα έτη 1942-44, 1958-59 και 1967-68 και Πρύτανης του Πανεπιστημίου Αθηνών κατά το ακαδημαϊκό έτος 1969-1970. Το 1969 εξελέγη τακτικό μέλος της Ακαδημίας Αθηνών.

Υπήρξε εκ των πρωτεργατών Ίδρυσης του Κέντρου Πυρηνικών Ερευνών «Δημόκριτος» (Αντιπρόεδρος της Ελληνικής Επιτροπής Ατομικής Ενέργειας, 1955-1965) και του Ινστιτούτου Βιολογίας του Επιστημονικού αυτού Ιδρύματος. Ήταν μέλος του Δ.Σ. του Ιδρύματος «Α. Φλέμιγκ» και αντιπρόεδρος του Σισμανόγλειου νοσοκομείου. Εκπροσωπούσε την Ελλάδα σε διεθνείς συναντήσεις και σε συνέδρια σε ετήσια βάση.

Το 1955 ίδρυσε την ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ μαζί με διακεκριμένους επιστήμονες της εποχής. Η Εταιρεία αυτή στη συνέχεια μετεξελίχθηκε στην παρούσα «Ελληνική Εταιρεία Βιολογικών Επιστημών» μετά το θάνατο του Πανταζή.

Υπήρξε ο κύριος ιδρυτής και πρώτος διευθυντής του ΙΩΚΑΕ (Ινστιτούτο Ωκεανογραφικών και Αλιευτικών Ερευνών) το 1967.

Συνέβαλε καθοριστικά στην Ίδρυση των Τμημάτων Βιολογίας του Πανεπιστημίου Πατρών και του Πανεπιστημίου Αθηνών (1970).

Εγκαινίασε την ανέγερση της Φυσικομαθηματικής Σχολής στην Πανεπιστημιόπολη Αθηνών το 1970.

Κατά τη διάρκεια της Πανεπιστημιακής θητείας του έκανε γνωστή την επιστήμη της Βιολογίας στο πλατύ κοινό με διαλέξεις, θερινά μαθήματα και άλλες εκδηλώσεις. Κοντά του μαθήτευσαν πολλοί από τους καθηγητές Βιολογίας που προσέφεραν ή προσφέρουν τις υπηρεσίες τους στην ακαδημαϊκή και ερευνητική ζωή της χώρας μέχρι και σήμερα.

Από την έδρα της Ζωολογίας και την έδρα της Βιολογίας στη συνέχεια, προήλθαν άμεσα ή έμμεσα στελέχη των Πανεπιστημίων και Ερευνητικών Ιδρυμάτων της χώρας, αλλά και της αλλοδαπής, όπως του Πανεπιστημίου Πατρών (Ι. Όντριας, Κ. Χριστοδούλου, Ι. Λυκάκης, Β. Μαρμάρας, Μ. Λαμπροπούλου) του Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης (Α. Κανέλλης, Κ. Καστρίτσης) της Ανωτάτης Γεωπονικής Σχολής Αθηνών (Κ. Κριμπάς, Χ. Χατζησαράντος) του Ινστιτούτου Βιολογίας του Κ.Π.Ε. «Δημόκριτος» (Κ. Μυριαγκού-Ζαφειράτου, Κ. Βομβογιάννη, Χ. Σάββα, Μ. Βοσνιάκου-Κιόρτση, κ.ά) του Τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Αθηνών (Θ. Παταργιάς, Κ. Ζαφειράτος, Ε. Γκελτή-Δούκα, Λ.Χ. Μαργαρίτης, Εμμ. Φραγκούλης, Θ. Κατσώρχης) καθώς και του Πανεπιστημίου Johns Hopkins (Ε. Ν. Μουδριανάκης) και άλλοι.

Ο Γεώργιος Πανταζής, υπήρξε άνθρωπος με όραμα, για μια καλύτερη εκπαίδευση και επιστημονική έρευνα, για μια καλύτερη κοινωνία. Είναι εξαιρετικά δύσκολο να αποτυπωθούν οι αξίες του και το έργο του σε ένα Λεύκωμα όπως το ανά χείρας. Ίσως, όμως, αυτό πετύχει να θυμίσει στους παλαιότερους και να πληροφορήσει τους νεότερους ότι αν η Βιολογία στη χώρα μας βρίσκεται σε αρκετά καλό επίπεδο, αυτό οφείλεται σε σκαπανείς όπως ο Γεώργιος Πανταζής.

Γεώργιος Π. Πανταζής
Μυτιλήνη 1906 – Αθήνα 1973

ΜΙΑ ΜΙΚΡΗ ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΠΟΤΙΜΗΣΗ

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 27 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 25ο Συνέδριο πραγματοποιείται στη **Μυτιλήνη** ή **Λέσβο**. Οι «περιηγητές» όταν λένε Μυτιλήνη συνήθως εννοούν ολόκληρο το νησί, δηλαδή τη Λέσβο. Μπαίνοντας στο λιμάνι της Μυτιλήνης βλέπει κανείς την πρωτεύουσα, την πόλη της Μυτιλήνης που είναι αμφιθεατρικά χτισμένη, κοντά στη θάλασσα. Στα στενά δρομάκια της περπάτησαν Αρχαίοι, Ρωμαίοι, Βυζαντινοί, Γενουάτες, Τούρκοι, Έλληνες και οι ελεύθεροι κάτοικοί της. Όσοι ενδιαφέρθηκαν για τις αρχαιότητες (κυρίως), άφησαν πολύτιμες περιγραφές και εικόνες για το νησί, τη ζωή, την ιστορία του, δια μέσου των αιώνων που πέρασαν.

Στο νησί έφτασε «νωρίς» ο ***Αριστοτέλης*** από τη Μακεδονία (που διατύπωσε πρώτος βασικές αρχές της Βιολογίας) όπου και παρέμεινε για 2 χρόνια (345-343 π Χ.). Στη Μυτιλήνη συναντήθηκε με τον ***Θεόφραστο*** (από την Ερεσό), ο οποίος υπήρξε αρχικά μαθητής και φίλος του αργότερα. Σήμερα, ο Θεόφραστος θεωρείται από όλους ο Πατέρας της Βιολογίας των Φυτών. Στο νησί γεννήθηκε η περιπατητική σχολή της φιλοσοφίας, η ***Σαπφώ*** (ποιήτρια), ο ***Αλκαίος*** (ποιητής). Στη Λέσβο έζησε (μεταξύ άλλων) και ο ***Θεόφιλος*** (λαϊκός ζωγράφος) που με αμοιβή το φαγητό του ζωγράφιζε τότε, για να συλλέξουν αργότερα οι έμπειροι τα ανεκτίμητης αξίας έργα του σε μουσείο (αξίζει η επίσκεψη).

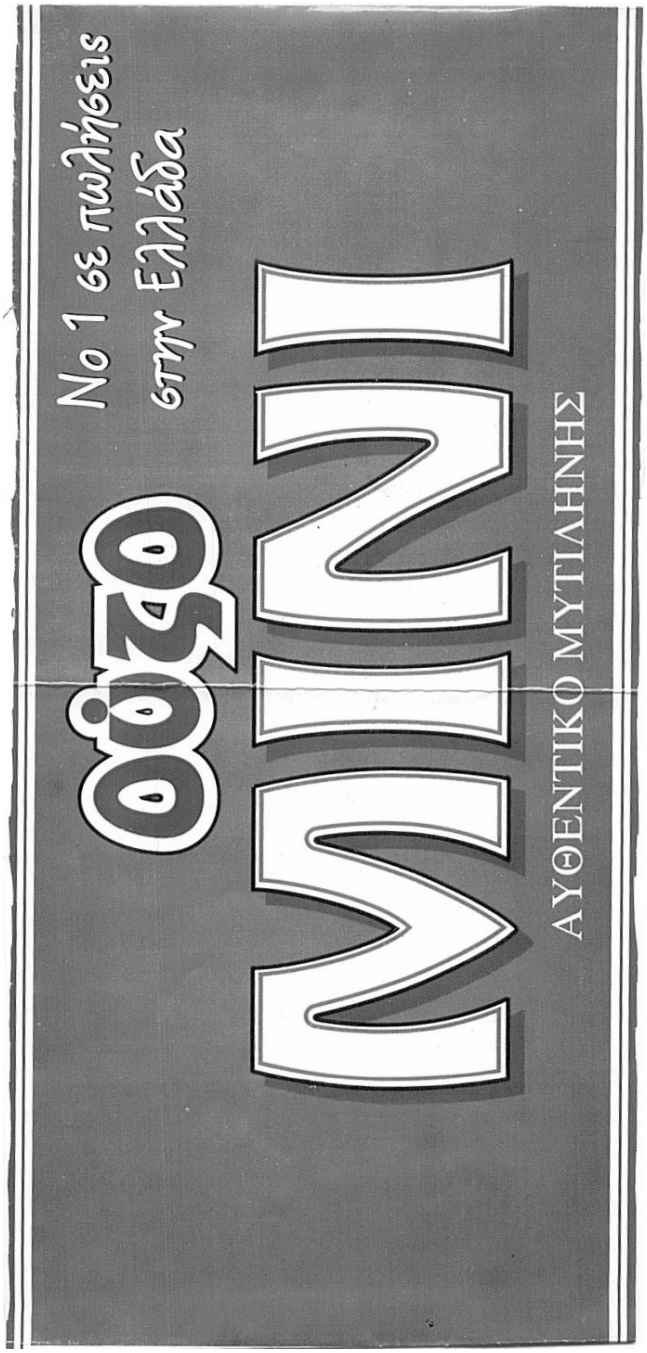
Στις σημειώσεις των διαχρονικών περιηγητών, ως σημαντικά λιμάνια αναφέρονται ο ***κόλπος της Γέρας***, κατάφυτος από ελιές που ονομάζεται από όλους τους ξένους *Olivier*, ο ***κόλπος της Καλλονής***, το ***Σίγρι*** (*Siguri-Σίγουρο*), η ***Πέτρα***. Στο ***Μόλυβο*** φαίνεται να δεσπόζει το φρούριο, στη ***Μήθυμνα*** να καλλιεργούν αμπέλια. Στην ***Αγιάσο***, η εκκλησιά της Παναγιάς χτίστηκε το 15ο αιώνα. Στον ***Πολιχνίτο***, τη σημερινή κωμόπολη που υπήρξε ιδιαίτερη πατρίδα του εκ των ιδρυτών του Τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Αθηνών, αείμνηστου Καθηγητή ***Γιώργου Πανταζή***, κατά τον 17ο αιώνα οι κάτοικοι φέρεται ότι ήταν Έλληνες και Τούρκοι μισοί-μισοί.

Στις μέρες μας, εκτός από τις ***παραλίες*** (διακοπών), το ***απολιθωμένο δάσος***, τη φυτική παραγωγή (κυρίως) και τα γνωστά τοπωνύμια από την απόσταξη ούζου, το νησί συμβάλλει στα θέματα και στις αναζητήσεις της Ανώτατης Εκπαίδευσης κι Έρευνας με τα Τμήματα του ***Πανεπιστημίου του Αιγαίου***:

- Τμήμα Περιβάλλοντος
- Τμήμα Κοινωνικής Ανθρωπολογίας
- Τμήμα Γεωγραφίας
- Τμήμα Κοινωνιολογίας
- Τμήμα Πολιτισμικής Τεχνολογίας & Επικοινωνίας
- Τμήμα Επιστημών Θάλασσας
- Τμήμα Γεωγραφίας και Περιβαλλοντικού Σχεδιασμού

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 2003


No 1 σε πωλήσεις
στην Ελλάδα
ΟΥΖΟ
ΜΙΝΙ
ΑΥΘΕΝΤΙΚΟ ΜΥΤΙΛΗΝΗΣ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΚΔΟΣΕΙΣ

ΜΑΡΙΑ ΓΡ. ΠΑΡΙΣΙΑΝΟΥ

ΝΑΥΑΡΙΝΟΥ 20 – 10680 ΑΘΗΝΑ
ΤΗΛ. 219- 36.10.519 – 36.15.047
ΤΗΛ/FAX: 210-36.36.424

ΠΑΡΙΣΙΑΝΟΥ Α.Ε.

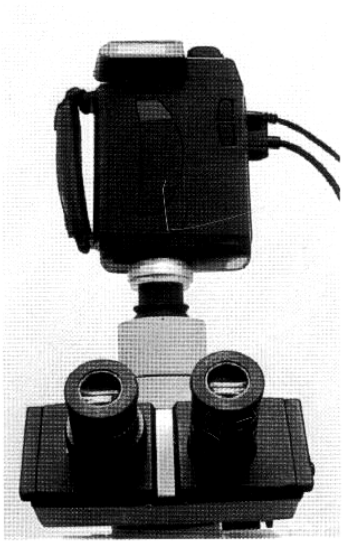
ΧΑΡ. ΤΡΙΚΟΥΠΗ 47-49
10681 ΑΘΗΝΑ
ΤΗΛ/FAX: 210-330.68.80

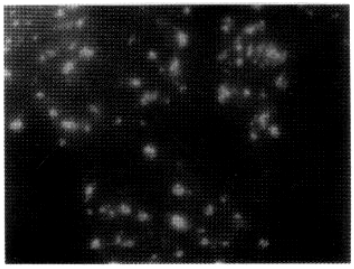
Παπασωτηρίου

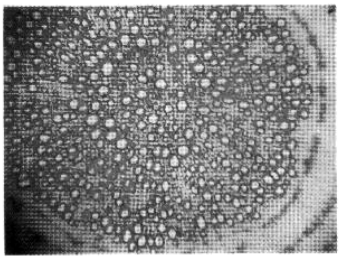
βιβλία, περιοδικά, software, cd-rom, dvd-rom

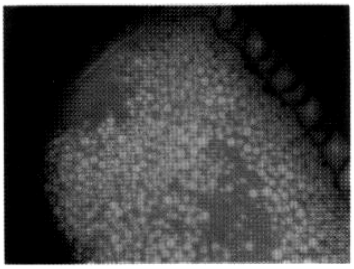
ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΝΕΩΝ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ
Στουρνάρα 49Α, 106 82 ΑΘΗΝΑ
Τηλ. 3845594 FAX. 3808009

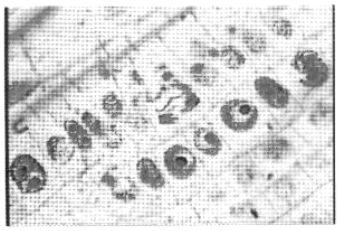
Η BIOSURE έχει αναπτύξει συστήματα προσαρμογής της ψηφιακής κάμερας για μικροσκόπια (απλά και στερεοσκόπια). Επιπλέον, η μεγάλη ευαισθησία της κάμερας επιτρέπει την καταγραφή εικόνων ανοσοφθορισμού (FISH κ.λ.π.)

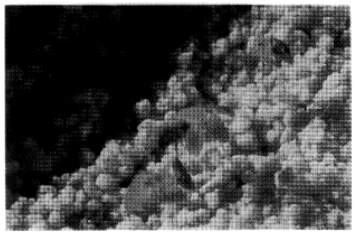












Biosure –R & T Cell Co.

Γρ. Λαμπράκη 25, Αθήνα

Τηλ. 210 – 9761605, 9735245, Fax: 210 - 9703736

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

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

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

hyper

multimedia store

Παναγιώτης Βαλάκος

Π.Κουντουριώτη 7 Τηλ./Fax 2251 - 037222
email: valakosp@les.forthnet.gr

Mayaba®

ΕΠΙΠΛΑ – ΞΥΛΟΓΛΥΠΤΑ
ΑΣΗΜΙΚΑ ΕΙΔΗ ΔΩΡΩΝ
ΕΙΔΗ ΛΑΙΚΗΣ ΤΕΧΝΗΣ

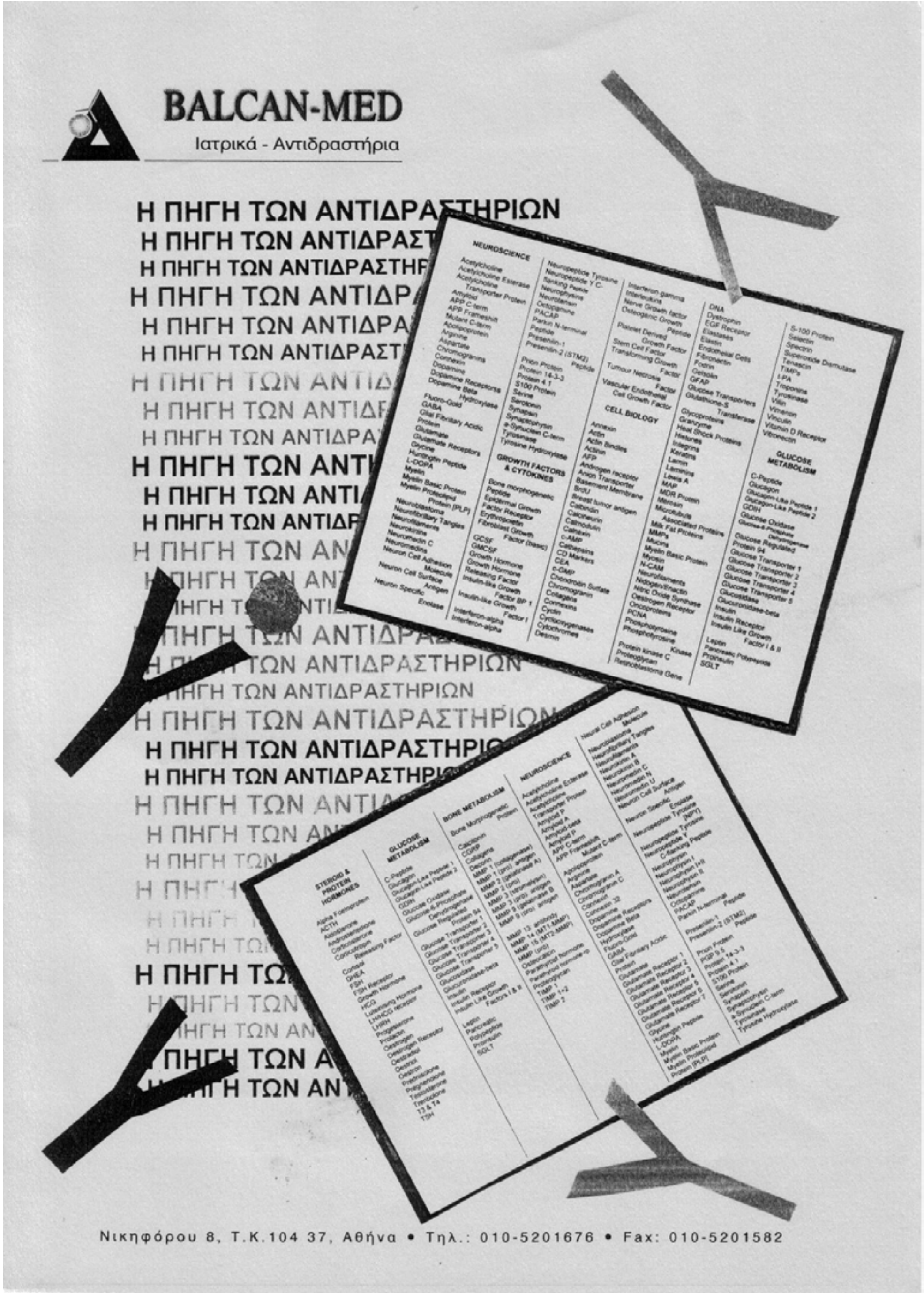
ΜΥΤΙΛΗΝΗ: ΜΗΤΡΟΠΟΛΕΟΣ 13
ΤΗΛ/FAX: (0251) 24.289

ΟΥΖΟ ΤΙΚΕΛΛΗ

12^{ο} χιλιόμετρο Μυτιλήνης-Καλλονής
ΛΑΡΣΟΣ – Τηλ. 22510-93566

PUB – CAFÉ
IPPOCAMPOS

Παραλία Παναγιούδας


BALCAN-MED
Ιατρικά - Αντιδραστήρια
Η ΠΗΓΗ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ
Νικηφόρου 8, Τ.Κ.104 37, Αθήνα • Τηλ.: 010-5201676 • Fax: 010-5201582

ΑΦΙΕΡΩΜΑ

«Η ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΜΕΙΖΩΝΟΣ ΧΩΡΟΥ ΤΟΥ ΑΙΓΑΙΟΥ»

Υπό την αιγίδα του Υπουργείου Αιγαίου

ΟΡΝΙΘΟΠΑΝΙΔΑ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΟΥ ΑΙΓΑΙΟΥ: ΕΡΩΤΗΜΑΤΙΚΑ ΓΥΡΩ ΑΠΌ ΤΗ ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΩΝ ΕΙΔΩΝ

Ακριώτης Τ.

Εργαστήριο Διαχείρισης Βιοποικιλότητας, Τμήμα Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Αιγαίου, 81100 Μυτιλήνη. Email: takr@aegean. gr

Η σύσταση της ορνιθοπανίδας του Αιγαίου αντικατοπτρίζει τη γεωγραφική του θέση μεταξύ ΝΑ Ευρώπης και ΝΔ Ασίας. Η γενική εικόνα, όπως και σε άλλες Μεσογειακές περιοχές, μπορεί να εκφραστεί ως αυτή ενός μείγματος αφενός δασόβιων / δενδρόβιων ειδών με Ευρωπαϊκή / βόρεια συγγένεια και αφετέρου εδαφόβιων και θαμνόβιων ειδών με νοτιοασιατική ή και αφρικανική συγγένεια. Εξετάζεται η γεωγραφική κατανομή των ειδών πουλιών που αναπαράγονται στην περιοχή του Αιγαίου και επισημαίνονται οι μη-αναμενόμενες παρεκκλίσεις ως προς την παρουσία και απουσία ειδών. Μεταξύ αυτών μπορεί κανείς να διακρίνει τις εξής κατηγορίες: (α) υπάρχουν αρκετές περιπτώσεις πιθανού αμοιβαίου αποκλεισμού συγγενικών ειδών, (β) αρκετά είδη πουλιών εμφανίζονται σε νησιά όπου δεν θα αναμενόταν η παρουσία τους, ενώ άλλα απουσιάζουν εκεί όπου θα αναμένονταν, (γ) πολλά είδη πουλιών βρίσκονται σε διαφορετικό ενδιαίτημα από αυτό των γειτονικών ηπειρωτικών περιοχών, ιδιαίτερα ως προς την υψομετρική κατάνομή. Γίνεται συζήτηση για τους πιθανούς λόγους που οδήγησαν σε αυτούς τους τύπους κατανομής.

THE AVIFAUNA OF THE AEGEAN REGION: QUESTIONS RELATED TO SPECIES GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION

Akriotis T.

Biodiversity Conservation Laboratory, Department of Environmental Studies, University of the Aegean, 81100 Mytilini. E-mail: takr@aegean. gr

The composition of the avifauna of the Aegean reflects its geographical position between SE Europe and SW Asia. The general picture, shared by other Mediterranean regions, can be described as a mixture of woodland / arboreal species with a European / northern affinity on the one hand, and of ground- / scrub-living species with a south Asian or even African affinity. The geographical distribution of breeding bird species in the Aegean region is examined and non- expected deviations as to species presence / absence are identified. Among the most notable deviations from expectation are the following categories: (a) several cases of possible mutual exclusion of related species, (b) a number of bird species are found on islands where they would not be expected whereas others are absent from islands where they would be expected, (c) many bird species are found in different habitats to those of the adjacent continental areas, especially with respect to altitudinal range. Possible reasons that have led to these distribution patterns as discussed.

ΤΑ ΣΠΟΝΔΥΛΩΤΑ ΤΗΣ ΛΕΣΒΟΥ ΚΑΙ ΤΩΝ ΝΗΣΙΩΝ ΤΟΥ ΒΟΡΕΙΟ-ΑΝΑΤΟΛΙΚΟΥ ΑΙΓΑΙΟΥ. ΜΙΑ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΣΗΜΑΝΤΙΚΗΣ ΒΙΟΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ ΣΤΟ ΑΡΧΙΠΕΛΑΓΟΣ

Βαλάκος Στρατής & Παναγιώτης Παφίλης

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθήνας, 157 84, Πανεπιστημιούπολη Ιλίσια

Στο Βορειοανατολικό Αιγαίο ανήκουν μερικά από τα μεγαλύτερα νησιά της Ελλάδας (Μυτιλίνη, Χίος, Λήμνος).

Σε αυτή την εργασία εξετάζεται η βιοποικιλότητα των χερσαίων Σπονδυλωτών της Λέσβου και των νησιών του Βορειοανατολικού Αιγαίου. Από την ανάλυσή μας προκύπτει ότι σε όλα τα νησιά οι ομάδες των χερσαίων Σπονδυλωτών αντιπροσωπεύονται από μεγάλο αριθμό ειδών. Για παράδειγμα στη Λέσβο εξαπλώνονται 5 είδη Αμφιβίων από τα 18 της Ελλάδας, 20 είδη ερπετών από τα 60 ενώ αντιπροσωπεύονται όλες οι τάξεις των Θηλαστικών. Όσον αφορά τα Πτηνά έχει καταγραφεί ένας μεγάλος αριθμός μονίμων και μεταναστευτικών ειδών.

Διάφοροι λόγοι συντελούν σε αυτή τη μεγάλη βιοποικιλότητα. Από τους βασικούς λόγους είναι η επίδραση των γειτονικών ηπειρωτικών περιοχών, η παλαιογεωγραφική ιστορία των νησιών, η πληθώρα ενδιαιτημάτων και τέλος η επίδραση του ανθρώπου.

VERTEBRATE FAUNA OF LESVOS AND THE REST ISLANDS OF THE NORTHEASTERN AEGEAN. AN IMPORTANT CASE OF BIODIVERSITY IN THE ARCHIPELAGO

Valakos S. & P. Pafilis

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

Some of the bigger islands of Greece belong to Northeast Aegean (Mytilene, Chios, Limnos).

In this communication we examined the biodiversity of the terrestrial Vertebrates on Lesvos and on the other islands of Northeast Aegean. From our analysis it is obvious that in all islands the Vertebrates are represented by a high number of species. For example in Lesvos there are 5 species of Amphibians in a total of 18 species in whole Greece, 20 species of Reptiles from 60 species and all the orders of the Greek mammals. Also in the island had be recorded a big number of resided and migrant species of birds.

Several factors are responsible for this biodibersity. From the main ones is the impact of the around mainland, the palaiogeographical history of the islands kai finaly the impact of man.

ΝΗΣΙΩΤΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΕΣ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΕΣ ΣΤΙΣ ΣΑΥΡΕΣ. Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΩΝ ΣΑΥΡΩΝ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *Podarcis* ΣΤΟ ΑΙΓΑΙΟ

Βαλάκος Ε.Δ.[1], **Παφίλης Π.**[1], **Μαραγκού Π.**[2] **& Γερμανού Α.**[1]

[1]Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθήνας, 157 84, Πανεπιστημιούπολη, Ζωγράφου. [2]Ελληνικό Γραφείο WWF, Φιλλελήνων 26, Αθήνα.

Τα αναπαραγωγικά χαρακτηριστικά των σαυρών επηρεάζονται από πολλούς παράγοντες όπως η φυλογενετική τους ιστορία και το περιβάλλον που ζουν. Οι σαύρες του γένους *Podarcis* που εξαπλώνονται στο Αιγαίο αποτελούν ένα ιδανικό μέσο για τη μελέτη αυτών των επιδράσεων.

Σε αυτή την εργασία δίνονται τα αναπαραγωγικά χαρακτηριστικά τριών ειδών. Το είδος *Podarcis erhardii* έχει μια ευρεία κατανομή σε όλα τα νησιά και νησίδες του κεντρικού και νότιου Αιγαίου ενώ τα άλλα είδη είναι ενδημικά κάποιων συγκροτημάτων νησιών. Συγκεκριμένα το είδος *Podarcis milensis* εξαπλώνεται στο αρχιπέλαγος της Μίλου ενώ το φυλογενετικά συγγενικό είδος *Podarcis gaigeae* εξαπλώνεται στο αρχιπέλαγος της Σκύρου. Η *P. milensis* σύμφωνα με παλιότερες έρευνες παρουσιάζει κάποιες ιδιαιτερότητες σε σχέση με άλλα είδη του ιδίου γένους. Συγκεκριμένα η αναπαραγωγική περίοδος έχει μεγαλύτερη διάρκεια και το ζώο πραγματοποιεί πάνω από 2 γέννες τη περίοδο. Είναι αξιοσημείωτο ότι δεν γεννά πάνω από 3 αυγά στη γέννα. Βρέθηκε ότι παρόμοια στρατηγική ακολουθείται και από το είδος *P. gaigeae*. Η *P. erhardii* στα μεγάλα νησιά γεννά πάνω από 3 αυγά αλλά στα μικρότερα νησιά δεν ξεπερνά τον παραπάνω αριθμό. Αξίζει να σημειωθεί ότι παρόλο που ο όγκος της γέννας δεν διαφέρει ανάμεσα σε μικρά και μεγάλα νησιά στα μικρά νησιά τα ζώα γεννούν μεγαλύτερα αυγά.

Φαίνεται ότι η παραπάνω στρατηγική έχει επιλεχτεί ανεξάρτητα από την φυλογενετική ιστορία ώστε να δίνει μεγαλύτερα νεογέννητα που αντεπεξέρχονται καλύτερα στις δύσκολες καλοκαιρινές συνθήκες που επικρατούν στα νησιά του Κεντρικού και νότιου Αιγαίου Πελάγους.

Μέρος της έρευνας χρηματοδοτήθηκε από τον Ε.Λ.Κ.Ε. του Ε. & Κ. Πανεπιστημίου Αθηνών

INSULARITY AND REPRODUCTIVE STRATEGIES IN LIZARDS. THE CASE OF THE *PODARCIS* GENUS IN AEGEAN

Valakos, S[1]., Pafilis, P[1]., Maragou, P[2]. & A. Germanou[1]

[1]Section of Animal & Human Physiology, Department of Biology, University of Athens, Panepistimioupolis 157 84, Athens, Greece. [2]WWF Greece, 26 Fillelinon str, Athens

The reproductive traits of the lizards are influenced by various factors like the phylogenetical history of the species and their environment. The lizards of the Genus Podarcis, which are distributed in the central, and the south Aegean archipelago consist a special medium for the study of these impacts.

In this communication we examine the reproductive traits of three species. The species *Podarcis erhardii* has a widespread distribution in the islands and islets of the central and south Aegean. On the contrary the other two species have a narrow distribution in some island group. The species *P. milensis* is distributed in Milos islands archipelagos whereas its close plylogeneticaly species in Skyros island archipelago. According to previous studies the species *P. milensis* exhibits some peculiarities in its reproduction traits compared with other species of the genus. The species produces over to one clutch per year and has a prolonged reproduction period. The clutch size is small with range of 1-3 eggs. From our data it seems that P. gaigeae follows the same strategy. P. erhardii on the big islands give to birth over to 3 eggs per clutch but on the islets produce 1-3 eggs. Its remarkable that though the clutch volume does not differ between big islands and islets on the islets the lizards produce bigger eggs.

It seems that the strategy of the invariable clutch size and the producing of large has evolved independently of the phylogenetical history of the taxa because larger eggs produce larger young which could survive better in the difficult summer conditions of the islands of central and south Aegean.

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΦΩΤΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ ΣΤΗ ΔΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΗΝ ΕΙΣΒΟΛΗ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΩΝ ΧΟΡΤΟΛΙΒΑΔΙΚΩΝ ΚΟΙΝΟΤΗΤΩΝ: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗ ΛΕΣΒΟ

Δημητρακόπουλος Π.Γ., Γαλανίδης Α., Τρούμπης Α.Ι.

Εργαστήριο Διαχείρισης Βιοποικιλότητας, Τμήμα Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Αιγαίου

Στο άρθρο αυτό παρουσιάζονται τα αποτελέσματα ενός πειράματος πεδίου ελέγχου των αρχικών σταδίων εγκατάστασης φυσικών εισβολέων σε συνθετικές Μεσογειακές χορτολιβαδικές κοινότητες, διαφορετικής ποικιλότητας, προσβαλλόμενες από πυρκαγιά. Τρία συστατικά στοιχεία της δεκτικότητας στην εισβολή (πλούτος ειδών, αφθονία και βιομάζα των εισβολέων) μελετήθηκαν σε καμένες και μη καμένες πειραματικές επιφάνειες, η ποικιλότητα των οποίων κυμαινόταν από ένα έως 18 είδη. Ο πλούτος, η αφθονία και η βιομάζα των εισβολέων μειωνόταν σημαντικά με την αύξηση του πλούτου των ειδών των συνθετικών κοινοτήτων. Η ταυτότητα των συνθέσεων των ειδών επηρέαζε σημαντικά την αφθονία και τη βιομάζα των εισβολέων, αλλά όχι τον πλούτο των ειδών τους. Κανένα από τα τρία στοιχεία της δεκτικότητας στην εισβολή δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των καμένων και μη καμένων κοινοτήτων. Η υπέργεια βιομάζα, ο δείκτης φυλλικής επιφάνειας και η φυτοκάλυψη των συνθετικών κοινοτήτων εξηγούσαν ένα σημαντικό τμήμα της μεταβλητότητας στη δεκτικότητα στην εισβολή των κοινοτήτων. Από τα θρεπτικά του εδάφους, μόνο ο διαθέσιμος εδαφικός φωσφόρος εμφάνισε μια οριακή επίδραση στα παρατηρούμενα πρότυπα δεκτικότητας στην εισβολή των κοινοτήτων. Τα αποτελέσματά μας τονίζουν το ρόλο της ποικιλότητας στον έλεγχο της δεκτικότητας στην εισβολή Μεσογειακών χορτολιβαδικών κοινοτήτων.

EFFECTS OF FIRE AND DIVERSITY ON INVASIBILITY IN MEDITERRANEAN GRASSLAND COMMUNITIES: EXPERIMENTAL MANIPULATIONS IN LESBOS

Dimitrakopoulos P.G., A. Galanidis & A.Y. Troumbis

Biodiversity Conservation Laboratory, Department of Environmental Studies, University of the Aegean, University Hill, 811 00, Mytilene

This paper reports the findings of a short-term natural invasibility field study in constructed Mediterranean herbaceous communities, of varying diversities, suffering wild fire. Three components of invasibility, i.e. species richness, abundance and biomass of invaders, have been monitored in burnt and unburnt experimental plots with resident diversity ranging from monocultures to 18-species mixtures. Species richness, abundance and biomass of invaders are decreased significantly with the increase of the resident diversity. The identity of species assemblages significantly influenced the abundance and biomass of invading species, but not their species' richness. Fire had non-significant effects on three components of invasibility. Aboveground biomass, leaf area index and plant cover of the constructed communities also explained a significant part of the variation of communities' invasibility. Soil available phosphorus showed a marginal influence on the observed pattern of invasibility of the communities. Our results demonstrate the importance of species richness in controlling invasibility of Mediterranean grassland communities.

ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ ΝΕΡΩΝ ΚΟΛΥΜΒΗΣΗΣ: ΠΡΟΒΛΕΨΗ ΥΠΑΡΞΗΣ ΣΑΛΜΟΝΕΛΩΝ

Ευστρατίου Μ.Α.

Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Τμήμα Επιστήμης της Θάλασσας, Μυτιλήνη 81100, e-mail:efstratiou@aegean.gr

Στη μελέτη αυτή εξετάζεται η σχέση μεταξύ των τριών μικροβιακών δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης δηλαδή ολικών κολοβακτηριοειδών (TC), κοπρανωδών κολοβακτηριοειδών (FC) και κοπρανωδών στρεπτόκοκκων (FS) με το παθογόνο *Salmonella* spp, δεδομένου ότι η μικροβιολογική ποιότητα των νερών κολύμβησης εξακολουθεί να είναι πρόβλημα που απασχολεί τους επιστήμονες και το γενικό κοινό σε πανευρωπαϊκό επίπεδο.

Ελέγχθηκε η ποιοτική σχέση μεταξύ παρουσίας σαλμονέλας και παρουσίας κάθε ενός από τους τρεις δείκτες (παρουσία/απουσία). Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων δεν έδειξε στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της παρουσίας του παθογόνου και της παρουσίας/απουσίας του κάθε δείκτη.

Ποσοτική ανάλυση επέτρεψε τον υπολογισμό σχέσεων μεταξύ της παρουσίας του παθογόνου και των συγκεντρώσεων των δεικτών. Οι γεωμετρικοί μέσοι όροι ήταν υψηλότεροι στα δείγματα που ήταν θετικά για σαλμονέλα, παρά στα δείγματα που ήταν αρνητικά για σαλμονέλα. Η καλύτερη συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ ολικών κολοβακτηριοειδών και σαλμονελών ($p=0.006$) ακολουθούμενη από τα κοπρανώδη κολοβακτηριοειδή ($p=0.034$). Η συσχέτιση μεταξύ κοπρανωδών στρεπτόκοκκων και σαλμονελών ήταν η λιγότερο καλή ($p=0.17$).

Τα αποτελέσματά μας οδηγούν στο συμπέρασμα ότι τα επιθυμητά όρια που ορίζονται από την οδηγία της Ευρωπαϊκής Ένωσης για την ποιότητα των νερών κολύμβησης προβλέπουν ικανοποιητικά την έλλειψη σαλμονελών στη θάλασσα. Τα ανώτατα επιτρεπόμενα όρια των ευρωπαϊκών προδιαγραφών για TC και FC δεν αποκλείουν την παρουσία σαλμονελών στα παράκτια νερά αναψυχής.

MICROBIOLOGICAL STANDARDS OF BATHING WATERS: PREDICTION OF *Salmonella* ISOLATION

Efstratiou M.A.

University of the Aegean, Department of Marine Sciences, Mytilene 81100, Greece, e-mail: efstratiou@aegean.gr

In this study we aim to assess the association between the three most common indicators of faecal pollution ie total coliforms (TC), faecal coliforms (FC) and faecal streptococci (FS) to the pathogen *Salmonella* spp given that the microbiological quality of bathing waters is still a major cause of concern among health scientists and the general public.

The relation between the presence of salmonellae and either of the three faecal pollution bacterial indicators – total coliforms, faecal coliforms and faecal streptococci – was initially examined qualitatively (presence/ absence). Statistical analysis of the results showed no significant relation between the presence of the pathogen and the presence/absence of any of the three indicators.

Quantitative analysis allowed for estimation of potential relations between the presence of the pathogen and concentrations of the indicator bacteria. The geometric means of all three indicators were higher in *Salmonella*-positive than in *Salmonella*-negative samples. The best association is observed between TC and *Salmonella* ($p=0.006$) followed by FC ($p=0.034$). The association between FS and *Salmonella* appears to be the least good ($p=0.17$).

Our results suggest that overall European Union guide standards predict satisfactorily the lack of the pathogen *Salmonella* in bathing waters. EU Imperative standards for TC and FC allow for presence of *Salmonella* in marine bathing waters.

ΦΥΛΟΓΕΩΓΡΑΦΊΑ ΚΑΙ DNA. Η ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *PODARCIS* (SAURIA: LACERTIDAE) ΩΣ ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ ΤΗΣ ΠΑΛΑΙΟΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗΣ ΙΣΤΟΡΙΑΣ ΤΟΥ ΕΛΛΗΝΙΚΟΥ ΧΩΡΟΥ

[1]Λυμπεράκης Π., [2]Πουλακάκης Ν., [3]Βαλάκος Ε., [1,2]Μυλωνάς Μ.

[1]Μουσείο Φυσικής Ιστορίας Κρήτης. [2]Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης. [3]Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Μελετήσαμε τις φυλογενετικές σχέσεις των ειδών του γένους *Podarcis* που συναντώνται στην Ελλάδα όπως αυτές προκύπτουν από τη σύγκριση τμήματος αλληλουχίας του μιτοχονδριακού τους DNA.

Τα αποτελέσματα εφαρμόστηκαν σε ένα πρότυπο μοριακού ρολογιού για να εκτιμηθούν οι χρόνοι διαχωρισμού μεταξύ των υπό μελέτη πληθυσμών. Το μοντέλο ρυθμίστηκε με βάση το χρόνο διαχωρισμού της Κρήτης από την Πελοπόννησο, χρόνο για τον οποίο υπάρχει ευρεία συναίνεση μεταξύ των γεωλόγων. Συγκεκριμένα το γεγονός αυτό χρονολογείται μεταξύ 5 και 5,5 εκ. ετών πριν.

Με βάση αυτό το γεγονός συμπεραίνομε ότι τα είδη *P.erhardii* και *P. muralis* είχαν κοινό πρόγονο στο διάστημα μεταξύ 9,5 και 10,5 εκ. ετών πριν. Η προγονική μορφή της *P. erhardii,* με αφετηρία τη ΒΔ Ελλάδα, εξαπλώθηκε προς το νότο όπου και διαχωρίστηκε κατ' αρχήν σε δυο κλάδους: Ένας κλάδος εξαπλώθηκε στη χερσαία μάζα που σήμερα αναγνωρίζομε ως το συγκρότημα των Κυκλάδων, ενώ ο άλλος συνέχισε την πορεία προς το νότο. Τα είδη που σήμερα αναγνωρίζομε ως *P. peloponnesiaca* στην Πελοπόννησο και *P. erhardii* στην Κρήτη προέρχονται από το δεύτερο αυτόν κλάδο. Με άλλα λόγια το είδος *P. erhardii* είναι παραφυλετικό αναφορικά με την *P. peloponnesiaca*.

Οι γενετικές αποστάσεις μεταξύ των πληθυσμών της *P. erhardii* στην Κρήτη καθώς και η υφιστάμενη κατανομή του είδους στο νησί και τις δορυφορικές του νησίδες υποδηλώνουν την επίδραση τριών τουλάχιστον «παλεογεγονότων» (έναν διαχωρισμό, μια επανεποίκιση και μια εξαφάνιση) σε παλαιότερα χρονικά διαστήματα στην περιοχή.

PODARCIS' PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS RECAPITULATE GREECE'S PALAEOGEOGRAPHIC HISTORY.

[1]Lyberakis P., [2]Poulakakis N., [3]Valakos E, [1,2]Mylonas M.

[1]Crete Natural History Museum, University of Crete, TΘ 2208, 71409 Heraklion. [2]Department of Biology, University of Crete, Vasilika Vouton TΘ 2208, 71409 Heraklion. [3]Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis 157 81 Athens

We studied the phylogenetic relationships among Greek species of *Podarcis* (Sauria: Lacertidae) as inferred from partial mtDNA sequences. The results were applied on a molecular clock model as to calculate the time of separation among the populations studied. To tune the molecular clock we considered a geological event on which there is a consensus among geologists, namely the separation of Peloponnese from Crete. This event is considered to have occurred between 5 and 5,5 Mya.

Taking in account this date we conclude that *P.erhardii* and *P. muralis* shared a common ancestor from 9.5-10.5 Mya respectively. Primitive *P. erhardii*, originating from NW Greece, descended southwards splitting in two main clades: One on the landmass which today we recognize as the Cyclades island group, and a second going further to the south. The twp species we recognize today as *P. peloponnesiaca* in Peloponnisos and *P. erhardii* in Crete actually originate from this second clade. In other words *P. erhardii* is paraphyletic with respect to P. peloponnesiaca.

Genetic distances among, as well as extant distribution of *P. erhardii* on Crete and satellite island populations, indicate that at least one splitting, one re-colonization and one extinction events occurred on the island.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΥΨΟΜΕΤΡΟΥ ΣΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΕΣ ΣΤΗ ΣΑΥΡΑ *Podarcis erhardii* ΣΤΗΝ ΚΡΗΤΗ

Παφίλης, Π.[1], Μηνά Α.[1], Λάϊος Γ.[1], Λυμπεράκης, Π.[2], Κολιοντζοπούλου, Α.[2] & Σ. Βαλάκος[1]

[1]Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας , Πανεπιστήμιο Αθήνας, 157 84, Πανεπιστημιούπολη Ιλίσια

[2] Μουσείο Φυσικής Ιστορίας Πανεπιστημίου Κρήτης

Είναι καλά τεκμηριωμένο ότι η φυσιολογία των εξώθερμων ζώων, όπως οι σαύρες, είναι άμεσα εξαρτώμενη από τη θερμοκρασία. Δεν υπάρχουν όμως πολλές μελέτες που να αναλύουν την επίδραση της σε άτομα του ίδιου είδους, που προέρχονται όμως από διαφορετικούς πληθυσμούς και συνεπώς υπόκεινται σε διαφορετικές θερμοκρασιακές διακυμάνσεις κατά τη διάρκεια του έτους. Το είδος *P. erhardii* παρουσιάζει μια έντονη διαφοροποίηση στην περιοχή του Αιγαίου (πάνω από 25 υποείδη). Στο κυρίως νησί της Κρήτης η σαύρα περιορίζεται στα δυτικά ενώ εξαπλώνεται σε όλες τις περιφερικές νησίδες. Συλλέχθηκαν άτομα από τρεις διαφορετικούς βιότοπους: από τη νησίδα Δία (νομός Ηρακλείου), από το φαράγγι Λισού και από τα Λευκά Όρη σε υψόμετρο 1200 μέτρων (και οι δύο τοποθεσίες στο νομό Χανίων). Το θερμικό μωσαϊκό των περιοχών ποικίλλει έντονα. Οι συνθήκες είναι πιο ήπιες στη Δία ενώ στα Λευκά Όρη οι χιονοπτώσεις είναι συνήθεις. Διερευνήθηκαν η ικανότητα θερμορύθμισης των σαυρών, ο αντιθηρευτικός μηχανισμός της αυτοτομίας και η αποδοτικότητα της πέψης. Η θερμική βιολογία των σαυρών δεν φαίνεται να επηρεάζεται από το ενδιαίτημα και τις διαφορετικές κλιματικές συνθήκες. Στην κλίση θερμοκρασιών τα ζώα επιτυγχάνουν τις ίδιες επιλεγόμενες θερμοκρασίες ενώ και οι θερμοκρασίες πεδίου δεν διαφέρουν σημαντικά. Η ένταση της θήρευσης φαίνεται να είναι παρεμφερής σε κάθε περίπτωση, στοιχείο που αντικατοπτρίζεται στα ποσοστά αυτοτομίας. Τέλος η απόδοση της πέψης ακολουθεί ένα κοινό πρότυπο αν και ο χρόνος διέλευσης τροφής είναι διαφορετικός

Μέρος της έρευνας χρηματοδοτήθηκε από τον Ε.Λ.Κ.Ε. του Ε. & Κ. Πανεπιστημίου Αθηνών και ΠΕΝΕΔ 1999.

ALTITUDE IMPACT ON PHYSIOLOGICAL FUNCTIONS IN THE LIZARD *PODARCIS ERHARDII* FROM CRETE

Pafilis, P[1]., Mina, A.[1], Laios, G.[1], Lymberakis, P.[2], Kaliontzopoulou, A.[2] & S. Valakos[1]

[1] *Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimioupolis 157 84, Athens, Greece*
[2]*Natural History Museum of Crete, University of Crete, Irakleio*

It is well established that ectothermal physiology depends from the temperature. However there are few data concerning the impact of the biotope on the performance of animals belonging to the same species but in different populations. The thermal conditions vary usually, according to the altitude.

P. erhardii shows a strong differentiation in the Aegean region with more than 25 species. In the mainland of Crete, lizards are found only in the west part while there are distributed in all the islets around the island. Samplings took place in three different biotopes: in Dia islet (Irakleio prefecture), in Lisos creek and in Lefka Ori mountains in an altitude of 1200m (both places in Chania prefecture). The thermal background appears quite variable. Thermal conditions in Dia are smooth in comparison to Lefka Ori where snow is rather common. We approach the thermoregulatory ability of the animals, the antipredator mechanism of autotomy and the performance of digestion.

Thermal biology remains independent from the climatic changes. Lizards achieve the same selective temperatures in the thermal gradient whereas the field temperature do not change, at least notably. Predation`s pressure seems to be similar in all the cases, a fact that is reflected on the autotomy performance. In the case of digestion there is a common model for all the populations. However gut passage time is different.

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΕΙΣΒΟΛΕΑ *OXALIS PES-CAPRAE* L. ΣΤΙΣ ΑΠΟΘΗΚΕΣ ΑΝΘΡΑΚΑ ΧΟΡΤΟΛΙΒΑΔΙΚΩΝ ΟΙΚΟΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ: Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΩΝ ΕΛΑΙΩΝΩΝ ΤΗΣ ΛΕΣΒΟΥ

Πέτσικος Μ. και Ντάλιας Π.

Τμήμα Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Αιγαίου

Οι βιολογικοί εισβολείς αποτελούν ένα σοβαρό πρόβλημα διεθνώς αφού κάποιοι από αυτούς έχουν σημαντικές επιπτώσεις στις υπηρεσίες που παρέχουν τα οικοσυστήματα. Οι επιδράσεις τους σε φυσικά οικοσυστήματα μπορούν να διακριθούν σε αυτές που αφορούν στην αφθονία των ειδών του συστήματος καθώς επίσης και σε αυτές που αναφέρονται στην τροποποίηση των φυσικών διεργασιών του. Η παρούσα εργασία επιχειρεί να συνδυάσει και τις δύο αυτές όψεις της επίδρασης του Oxalis pes-caprae L. σε χορτολιβαδικά συστήματα ελαιώνων της Λέσβου. Μηνιαίες μετρήσεις (Νοέμβριος – Μάιος) του συνολικού αριθμού ειδών, της συνολικής και ανά είδος βιομάζας, και της παραγωγής νεκρού φυτικού υλικού, πραγματοποιήθηκαν σε δειγματοληπτικές επιφάνειες που χαρακτηρίζονταν από την παρουσία ή αντίθετα την πλήρη απουσία του Oxalis στον ίδιο αγρό. Η ταχύτητα αποσύνθεσης των βασικών ειδών της βλάστησης εκτιμήθηκε από τους ρυθμούς αναπνοής δειγμάτων φυλλοστρωμνής στο εργαστήριο.
Κατά τη χρονική διάρκεια των μετρήσεων ο πλούτος των ειδών στις επιφάνειες με Oxalis μειώθηκε σταδιακά και ήταν σημαντικά χαμηλότερη σε σχέση με αυτή της φυσικής βλάστησης. Η βιομάζα των κοινοτήτων με Oxalis ήταν αρχικά ίση με αυτή των «φυσικών» αλλά στο τέλος της βλαστητικής περιόδου η τελευταία μετρήθηκε να είναι περίπου τρεις φορές μεγαλύτερη από αυτήν με τον εισβολέα. Επιπλέον, το υπέργειο νεκρό φυτικό υλικό του Oxalis αποδομήθηκε με μία μέση ταχύτητα σε σχέση με είδη της φυσικής βλάστησης. Κατά συνέπεια εκτιμάται ότι η εξάπλωση του Oxalis pes-caprae έχει αρνητική επίδραση στην ικανότητα αποθήκευσης οργανικού C στα συγκεκριμένα οικοσυστήματα.

THE EFFECT OF THE BIOLOGICAL INVADER *OXALIS PES-CAPRAE L.* ON THE C STORAGE OF GRASSLAND ECOSYSTEMS: THE CASE OF OLIVE GROVES IN LESVOS

Petsikos B. and Dalias P.

Department of Environmental Sciences, University of the Aegean

Biological invaders are generally considered as an important problem since they could significantly restrict ecosystem services. Their effects on natural ecosystems could be discerned into those referring to the species richness of the system as well as those related to the modification of ecosystem processes. The present work aims in combining these two aspects of the effect of *Oxalis pes-caprae* in grassland systems of olive groves in Lesvos. Measurements of species numbers, total and per species biomass and dead plant material production have been carried out monthly (Nov. – May) in plots invaded or non-invaded by *Oxalis* plants in the same field. The rate of decomposition of some of the main species of the grassland vegetation was estimated from the respiration rate of litter samples in the laboratory.

Species richness in the invaded by *Oxalis* area reduced gradually during the measurements and was significantly smaller in comparison with the natural vegetation. Biomass in *Oxalis* communities was initially equal with the natural one, but at the end of the vegetative period it was three times bigger than the one in the invader's plots. Moreover, aboveground dead plant material of *Oxalis* decomposed with a similar rate with species of the natural vegetation. Consequently, it is suggested that invasion by *Oxalis pes-caprae* has a negative effect on the organic carbon sequestration in these ecosystems.

ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΕΙΣΒΟΛΕΙΣ ΣΤΗ ΛΕΣΒΟ: ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΟΙ Ή ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ;

Σιαμαντζιούρας Ά., Μπρεζετού Ε., Ψαλτόπουλος Π., Νικολάκαινα Ε., Α. Τρούμπης

Εργαστήριο Διαχείρισης Βιοποικιλότητας, Τμήμα Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Λόφος Πανεπιστημίου, 811 00 Μυτιλήνη

Η αύξηση των βιολογικών εισβολών κατατάσσεται ανάμεσα στις σημαντικότερες συνέπειες της πλανητικής αλλαγής. Η χλωρίδα των Μεσογειακών νησιών, το 38% περίπου της οποίας αποτελείται από ενδημικά είδη, υπήρξε ιστορικά εξαιρετικά ευπαθής στις εισβολές ξενικών ειδών.

Επιλέχθηκαν τρεις τύποι οικοσυστημάτων της Λέσβου (αμμοθίνες, φρύγανα και ελαιώνες) και εξετάσθηκε η ικανότητα φύτρωσης υπό φυσικές συνθήκες τριών εισβολέων (*Ailanthus altissima*, *Carpobrotus edulis και Oxalis pes-caprae*). Τα *C. edulis και O. pes-caprae* παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική ικανότητα φύτρωσης σε φρυγανικά οικοσυστήματα και ελαιώνες, αντίστοιχα. Αντίθετα, η ικανότητα φύτρωσης του *A. altissima* είναι εξαιρετικά περιορισμένη και στους τρεις τύπους οικοσυστημάτων και για το λόγο αυτό εξετάσθηκε η εξάπλωσή του ως προς ανθρωπογενή κριτήρια.

Η χωρική κατανομή του *A. altissima* ερμηνεύθηκε μέσω χαρτογραφικής αποτύπωσης (κάνναβος 5x5 km) τεσσάρων ανθρωπογενών παραγόντων: α) Οι οικισμοί ως κέντρα διασποράς των ειδών, β) το μήκος του οδικού δικτύου ανά κελί, γ) η έκταση των οικισμών ανά κελί και δ) ο ανθρώπινος πληθυσμός ανά κελί. Τα αποτελέσματα για κάθε παράγοντα συγκρίθηκαν με χάρτη αφθονίας (κάνναβος 5x5 km) του είδους και προέκυψε σχετική συμβατότητα σε όλες τις περιπτώσεις. Καλύτερη προσέγγιση παρατηρήθηκε σε κελιά γύρω από μεγάλα αστικά κέντρα όπου οι τιμές των κριτηρίων είναι γενικά αυξημένες.

Οι περιορισμοί στην ικανότητα εισβολής των εξεταζόμενων ειδών διαφοροποιούνται ανάλογα με τη φύση του βιολογικού εισβολέα. Αναπαραγωγικοί περιορισμοί αποτρέπουν την εξάπλωση του *A. altissima*, ενώ οικολογικοί καθορίζουν την εισβολιμότητα των *C. edulis και O. pes-caprae*.

BIOLOGICAL INVADERS IN LESVOS: ECOLOGICAL OR REPRODUCTIVE LIMITATIONS?

Siamantziouras A., Brezetou E., Psaltopoulos P., Nikolakena E., A. Troumpis

Biodiversity Conservation Laboratory, University of the Aegean, University Hill, GR-811 00 Mytilene

Biological invasions can be considered one of the most significant consequences of global environmental change. Mediterranean island floras (approximately 38% are endemic) have historically been very vulnerable to invasion by exotic species.

Three typical habitat types of Lesvos Island were selected (dunes, shrublands and olive groves) and the seed germination response of three invading species was examined under natural conditions (*Ailanthus altissima*, *Carpobrotus edulis and Oxalis pes-caprae*). *C. edulis and O. pes-caprae* showed highly significant seed germination response at shrublands and olive groves, respectively. On the contrary, the data on A. *altissima* demonstrated an exceptionally limited germination response at all three-habitat types. For this reason four anthropogenic criteria (a. urban areas as dispersion pools of invading species, b. roadside length, c. settlement area, and d. local population size) were selected in order to study its spatial distribution.

A digital map (cell size 5x 5km) was created for each criterion separately which was compared with the A. *altissima* abundance map (cell size 5x 5km). An increased distribution of certain invading species was observed around the urban area, where anthropogenic criteria values were generally high.

The limitations of three species invasibility are controlled by the nature of biological invader. Reproductive limitations prevent the dispersal of *A. altissima*, while ecological ones determine the invasibility of *C. edulis* and *O. pes-caprae*.

ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΕΥΤΡΟΦΙΣΜΟΥ ΣΤΟ ΑΙΓΑΙΟ

Τσιρτσής Γ., Κίτσιου Δ. και Μ. Καρύδης

Τμήμα Επιστημών της Θάλασσας, Πανεπιστήμιο Αιγαίου, 81100 Μυτιλήνη

Στην παρούσα εργασία γίνεται εκτίμηση του επιπέδου ευτροφισμού στο Αιγαίο, τόσο σε παράκτιες περιοχές όσο και στην ανοικτή θάλασσα. Για τις παράκτιες περιοχές χρησιμοποιείται μεθοδολογία που βασίζεται στην ανάλυση διαχωρισμού (Discriminant analysis). Πληροφορία που αφορά σε συγκεντρώσεις χλωροφύλλης α, νιτρικών και φωσφορικών από τρεις περιοχές του Αιγαίου, χαρακτηρισμένες ως εύτροφη, μεσότροφη και ολιγότροφη αντίστοιχα, χρησιμοποιείται για την ανάπτυξη χάρτη ευτροφισμού με σαφή όρια μεταξύ των τριών τροφικών καταστάσεων. Με βάση τον χάρτη αυτόν εκτιμάται το επίπεδο ευτροφισμού παρακτίων περιοχών του Αιγαίου, για τις οποίες είναι διαθέσιμη πληροφορία που αφορά τις συγκεντρώσεις χλωροφύλλης α, νιτρικών και φωσφορικών, όπως το στενό της Μυτιλήνης, οι κόλποι Γέρας και Καλλονής, η παράκτια περιοχή της νήσου Ρόδου, οι παράκτιες περιοχές Καβάλας και Αλεξανδρούπολης και ο Στρυμονικός κόλπος. Το επίπεδο ευτροφισμού στην ανοιχτή θάλασσα εκτιμάται με την χρήση δορυφορικών εικόνων που παρέχουν συγκέντρωση χλωροφύλλης α και αντίστοιχη κλίμακα που έχει αναπτυχθεί με βάση την παράμετρο αυτή. Προκύπτουν χωρικές διαφορές μεταξύ Βορείου και Νοτίου Αιγαίου, ευτροφικές καταστάσεις σε παράκτιες περιοχές και εποχιακή μεταβλητότητα.

EUTROPHICATION ASSESSMENT OF THE AEGEAN SEA

Tsirtsis G., Kitsiou D. and M. Karydis

Department of Marine Sciences, University of the Aegean, 81100 Mytilini

The level of eutrophication of the Aegean Sea is assessed in the present work. The multivariate statistical methodology of discriminant analysis formed the basis for the assessment of the trophic state of coastal areas, whereas satellite images are used for the open sea. The methodology for the coastal areas is based on available information related to nitrate, phosphate and chlorophyll a concentrations collected from three coastal areas of the Aegean already characterized for their trophic level. A territorial map is drawn, clearly divided into three regions, eutrophic, mesotrophic and oligotrophic. Each coastal area can be plotted as a point on the map and its trophic state can be easily assessed. The methodology is applied for the Strait of Mytilini, the gulfs of Kalloni and Gera on the island of Lesvos, the coastal areas of Mytilini, Rhodes, Kavala, Alexandropolis and the Strymonikos gulf. Chlorophyll a concentration derived from satellite images is used for the assessment of the eutrophication level of the open sea. Spatial differences are observed between Northern and Southern Aegean, eutrophication in coastal waters and seasonal variability.

ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ
(ABSTRACTS)

ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΔΟΜΙΚΩΝ ΑΥΤΟΤΕΛΩΝ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ (DOMAINS) ΣΤΙΣ ΛΥΜΕΝΕΣ ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΚΑ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΤΗΣ *Escherichia coli*

Αλεξόπουλος Ι.Κ., Μπάγκος Π.Γ., Χαμόδρακας Σ.Ι.

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Παν/μιο Αθηνών, Αθήνα 157 01

Οι πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις παίζουν σημαντικό ρόλο στις περισσότερες βιολογικές διαδικασίες και γι' αυτό η μελέτη τους εμφανίζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν όλες οι πρωτεΐνες της *E. coli* με κρυσταλλογραφικά λυμένη δομή οι οποίες διαθέτουν πολλαπλά δομικά αυτοτελή στοιχεία (domains). Μετά την απομάκρυνση των ομόλογων ακολουθιών, παρέμειναν 69 πρωτεΐνες με δυο domains, 19 με τρία domains, 3 με τέσσερα domains, και από 1 πρωτεΐνη με πέντε και έξι domains. Για να διαπιστωθεί ποια από τα αμινοξέα ενός domain αλληλεπιδρούν με άλλα από γειτονικά domains της ίδιας ακολουθίας, μετρήθηκαν όλες οι αποστάσεις μεταξύ των καταλοίπων αυτών, με βάση τις ατομικές τους συντεταγμένες. Θεωρήσαμε ότι δυο αμινοξέα από διαφορετικά domains βρίσκονται σε επαφή, όταν απέχουν λιγότερο από 4.5Å. Μετά από στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων βρέθηκε ότι ορισμένα αμινοξικά κατάλοιπα (Trp, Tyr, Arg, Phe και His) εμφανίζουν μεγαλύτερη τάση να είναι σε επαφή με κατάλοιπα γειτονικών domains σε σχέση με ό,τι αναμένεται βάσει της συχνότητας εμφάνισής τους σε ολόκληρη την ακολουθία. Ακόμα βρέθηκε ότι το ζεύγος αμινοξέων με τη μεγαλύτερη προτίμηση για εμφάνιση σε περιοχές επαφής είναι το Lys-Asp και ακολουθούν τα ζεύγη Arg-Glu, Lys-Glu και Arg-Asp. Εμφανώς, οι δεσμοί 'άλατος' ευνοούνται στις αλληλεπιδράσεις των δομικών αυτοτελών στοιχείων (domains). Στη συνέχεια μετρήθηκαν οι επιφάνειες επαφής μεταξύ των domains. Από τις μετρήσεις αυτές βρέθηκε με Ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA) ότι η μέση επιφάνεια επαφής στις πρωτεΐνες με 2 domains ήταν στατιστικώς σημαντικά μεγαλύτερη από ότι στις πρωτεΐνες με περισσότερα domains (p-value$<10^{-4}$).

ANALYSIS OF DOMAIN INTERACTIONS IN CRYSTALLOGRAPHICALLY SOLVED PROTEINS OF *Escherichia coli*

Alexopoulos I.K., Bagos P.G., Hamodrakas S.J.

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 157 01.

Protein-protein interactions play an important role in most biological processes, thus their study is of particular interest. In this work we studied all the *E. coli* multi-domain proteins that have a published, crystallographically solved structure. After removal of all homologous sequences, we found 69 proteins with two domains, 19 with three domains, 3 with four domains, 1 with five and another with six domains. In order to see which of the amino acids of a domain interact with others from neighbouring domains of the same sequence, we calculated the distances of these residues using their atomic coordinates. Two amino acids from different domains were considered to be in contact if their distance was less than 4.5Å. After a statistical analysis of the results it was found that certain residues (Trp, Tyr, Arg, Phe and His) show a higher tendency to be in contact with residues of neighbouring domains in accordance with what is expected based on the frequency of their appearance in all sequences. It was also found that the pair of amino acids with the higher propensity to be present in contact regions is the Lys-Asp pair, followed by the pairs Arg-Glu, Lys-Glu and Arg-Asp. Apparently, salt bonds between opposite charged residues are favoured in domain-domain interactions. In the next step, the contact surfaces between domains were calculated and the results were used in an Analysis of Variance (ANOVA). From this analysis it was found that the average contact surface, in the two domain proteins, was statistically significantly larger (p-value$<10^{-4}$) compared to proteins possessing more than two domains.

ΒΛΑΒΕΣ ΚΑΙ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ ΣΤΟ DNA ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΠΟ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ

[1,2]Αναγνωστάκης Ν., [2]Μεσσήνη-Νικολάκη Ν., [1,2]Καραναστάση Γ., [1,2]Χριστόπουλος Γ., [1,2]Μαριδάκη Κ., [1]Τσιλιμιγκάκη Σ., [3]Κανιούρα Μ., [1]Πιπεράκης Σ.Μ.

[1]Εργαστήριο Επιδιορθωτικών Μηχανισμών DNA, Ινστιτούτο Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος, Αθήνα. [2]Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα. [3]Εργαστήριο Αιμοδυναμικής, Νοσοκομείο «Ευαγγελισμός», Αθήνα

Στη μελέτη αυτή ερευνήσαμε την ευαισθησία λεμφοκυττάρων από ασθενείς με καρκίνο του μαστού στην επίδραση αλκοόλης και H_2O_2.

Με την τεχνική του 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 μελετώντας την μορφολογία τους με διάφορες χρωστικές.

Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι υπάρχει μειωμένη επιδιορθωτική ικανότητα στις βλάβες του DNA σε κύτταρα από ασθενείς με καρκίνο του μαστού.

DNA DAMAGE AND REPAIR EFFICIENCY IN LYMPHOCYTES FROM BREAST CANCER PATIENTS

[1,2]Anagnostakis N., [2]Messini-Nikolaki N., [1,2]Karanastasi G., [1,2]Christopoulos G., [1,2]Maridaki K., [1]Tsilimigaki S., [3]Kanioura M., [1]Piperakis S.M.

[1]DNA Repair Laboratory, Institute of Biology, NCSR Democritos, Athens, Greece. [2]Department of Cell Biology, School of Biology, University of Athens, Athens, Greece. [3]Hemodynamics Laboratory, Evangelismos Hospital, Athens, Greece.

The effects of external factors (ethanol, $H2O_2$) on lymphocytes from breast cancer patients was examined in the present study.
Using the comet assay technique we estimated the DNA damage and the repair capacity on the above population in comparison to corresponding controls.

The apoptotic and necrotic cell population was also estimated according to the morphology and staining of the cells with acridine orange and ethidium bromide.

Our results indicate a decreased DNA repair capacity in lymphocytes from breast cancer patients.

ΣΗΜΑΝΣΗ ΜΕ ΑΝΟΣΟΦΘΟΡΙΣΜΟ ΤΗΣ α- ΚΑΙ γ- ΤΟΥΜΠΟΥΛΙΝΗΣ ΑΠΟΚΑΛΥΠΤΕΙ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ ΣΤΗ ΜΙΤΩΤΙΚΗ ΑΤΡΑΚΤΟ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ C_2C_{12} ΠΡΟΚΑΛΟΥΜΕΝΕΣ ΑΠΟ ΤΗ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΥΔΡΟΧΛΩΡΟΘΕΙΑΖΙΔΙΟΥ (HCTZ)

Ανδριανόπουλος Κ., Στεφάνου Γ., Δημόπουλος Ν.

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών

Κατά την κυτταρική διαίρεση οι μικροσωληνίσκοι παίζουν σημαντικό ρόλο στην οργάνωση της μιτωτικής ατράκτου και στον ισομερή διαμοιρασμό των χρωμοσωμάτων. Τροποποιήσεις στη συγκρότηση των μικροσωληνίσκων (α- και β-τουμπουλίνη) και στα κέντρα οργάνωσης αυτών (MTOC, γ-τουμπουλίνη) είναι δυνατόν να οδηγήσουν σε βλάβες της μιτωτικής συσκευής προκαλώντας φαινόμενα λανθασμένου χρωμοσωματικού αποχωρισμού. Η διουρητική φαρμακευτική ένωση υδροχλωροθειαζίδιο (**HCTZ**) χορηγείται κατά της υπέρτασης. Είναι γνωστό ότι προκαλεί μη αποχωρισμό και μιτωτικό διασκελισμό σε διπλοειδή στελέχη του μύκητα *Aspergilus nidulans*. Σε πρόσφατη μελέτη μας σε καλλιέργειες ανθρώπινων λεμφοκυττάρων *in vitro*, με ανάλυση DUAL FISH, φάνηκε ότι το HCTZ προκαλεί αυξημένη συχνότητα χρωμοσωματικής απώλειας και μη αποχωρισμού των χρωμοσωμάτων X, Y, 8 και 13/21. Στη παρούσα εργασία ερευνάται ο μηχανισμός πρόκλησης των παραπάνω φαινομένων, μελετώντας την ακεραιότητα της μιτωτικής ατράκτου σε διαιρούμενα κύτταρα μυός C_2C_{12}. Μελετήθηκε επίσης η ακεραιότητα του κυτταροσκελετού σε μεσοφασικά κύτταρα. Ως μέθοδος χρησιμοποιήθηκε ο διπλός ανοσοφθορισμός για την **α-** και **γ-**τουμπουλίνη. Τα αποτελέσματά μας αποκαλύπτουν ότι το HCTZ κατά τη μεσόφαση και τη μετάφαση προκαλεί αποδιοργάνωση του δικτύου των μικροσωληνίσκων α-τουμπουλίνης. Η μελέτη μιτωτικών κυττάρων έδειξε αύξηση του ποσοστού των μεταφάσεων και μείωση των ανα-τελοφάσεων. Η ανάλυση των μεταφασικών κυττάρων έδειξε υψηλή συχνότητα ανώμαλων μεταφάσεων. Επίσης φάνηκε ότι επηρεάζεται η οργάνωση του κεντροσώματος (γ-τουμπουλίνη) με την εμφάνιση σημαντικού ποσοστού μονο- και πολυπολικών μεταφάσεων. Τα ευρήματα μας αυτά ερμηνεύουν την ανευπλοειδογόνο δράση του HCTZ.

Η εργασία υποστηρίχθηκε εν μέρει από το Πρόγραμμα Καραθεοδωρή της Επιτροπής Ερευνών του Πανεπιστημίου Πατρών

IMMUNOFLUORESCENCE STAINING OF α- AND γ- TUBULIN REVEALED ABNORMALITIES IN THE MITOTIC SPINDLE OF THE MURINE CELL LINE C_2C_{12} AFTER TREATMENT WITH HYDROCHLOROTHIAZIDE (HCTZ)

Andrianopoulos C., Stephanou G., Demopoulos N.

Department of Biology, University of Patras

Microtubules play an important role in the organization of mitotic spindle and the symmetric chromosome segregation. Modifications of the assembling of microtubules and of microtubule organization centers (MTOC, γ-tubulin) may result in aberrant mitotic spindle and hence in chromosome malsegragation. Hydrochlorothiazide (**HCTZ**) is a diuretic and antihypertensive drug. It is known that it induces chromosome non-disjunction and mitotic crossing over in diploid strains of *Aspergillus nidulans*. In a recent work of our group, using human peripheral lymphocyte cultures *in vitro*, it has been found by means of Fluorescence *In Situ* Hybridization (DUAL FISH), that HCTZ is capable of provoking chromosome non-disjunction and chromosome loss, especially for the studied X, Y, 8 and 13/21 chromosomes. In this work the mechanism leading to chromosome malsegregation is investigated by the analysis of morphological-structural changes in the mitotic apparatus after dual immunofluorescence for two cell division molecules, **α-** and **γ-**tubulin. The murine cell line C_2C_{12} was used as a biological system. Our results showed that HCTZ induced disorganization of the microtubule network (α-tubulin) in both interphase and metaphase cells. HCTZ also increased the percentage of metaphases and decreased the percentage of ana-telophases, indicating a mitotic arrest effect as revealed after the analysis of mitotic cells. A high percentage of aberrant metaphase cells was observed. Centrosome integrity (γ- tubulin) was shown to be affected. A statistical significant high number of monopolar and polypolar metaphases was identified. The findings of this work explain our previous results indicating aneuploidogenic activity of HCTZ.

This work was partially supported by "Karatheodori Project" of the Research Committee of the University of Patras.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΑΝΑΔΑΣΩΣΕΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΠΥΡΚΑΓΙΑ ΣΤΗ ΒΙΟΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΩΝ ΔΑΣΩΝ ΧΑΛΕΠΙΟΥ ΠΕΥΚΗΣ (*Pinus halepensis*) ΤΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

***Ανδριόπουλος Π., **Αριανούτσου Μ.**

Τομέας Οικολογίας και Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας,
Σχολή Θετικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 157 84 Αθήνα
* pandriop@biol.uoa.gr , ** marianou@biol.uoa.gr

Η φωτιά αποτελεί σημαντικό οικολογικό παράγοντα για πολλές διαπλάσεις, αλλά ειδικά στα Μεσογειακά οικοσυστήματα λειτουργεί ως αναπόσπαστο μέρος της εξελικτικής τους ιστορίας. Οι αναδασώσεις αποτελούν μια από τις κυριότερες διαχειριστικές πρακτικές που εφαρμόζονται μεταπυρικά στα Μεσογειακά πευκοδάση της Ελλάδας. Η παρούσα εργασία αποσκοπεί στη διερεύνηση των επιπτώσεων από τις διάφορες μεθόδους αναδασώσεων στη φυτική ποικιλότητα μεσογειακών δασών Χαλεπίου πεύκης (*Pinus halepensis*) της Αττικής. Για το σκοπό αυτό επιλέχθηκαν 5 περιοχές μελέτης, στους ορεινούς όγκους της Πεντέλης και της Πάρνηθας. Οι περιοχές συνιστούν χρονοσειρά της μεταπυρικής τους ηλικίας, έτσι ώστε να μελετηθεί η βιοποικιλότητα σε όλη την εξέλιξη της μεταπυρικής διαδοχής. Για την καταγραφή των φυτικών ειδών και της αφθονίας τους εφαρμόστηκε η μέθοδος της διατομής. Έγινε επεξεργασία των αποτελεσμάτων για την ανάπτυξη δεικτών ποικιλότητας και αφθονίας. Η σύγκριση των αποτελεσμάτων με τις βιβλιογραφικές αναφορές για μη αναδασωμένες θέσεις έδειξε πως το πρότυπο διακύμανσης των δεικτών ποικιλότητας δεν εμφανίζει σημαντικές μεταβολές. Η κυριαρχία όμως των σημαντικότερων φυτικών ομάδων και η σύνθεση της βιοκοινότητας έχουν επηρεαστεί, με κυριότερο παράδειγμα την υποχώρηση των ψυχανθών στα πρώτα μεταπυρικά έτη, μια ένδειξη πως σε ορισμένες περιπτώσεις η αναδάσωση μπορεί να συνιστά διαταραχή της μεταπυρικής διαδοχής. Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων κατέδειξε πως η ομαδοποίηση των περιοχών εξαρτάται σημαντικά και από άλλες παραμέτρους εκτός της μεταπυρικής τους ηλικίας, όπως το μητρικό πέτρωμα, ο προσανατολισμός, αλλά και η μέθοδος της αναδάσωσης. Η εφαρμογή της αναδάσωσης σποραδικά και η μεγάλη ετερογένεια του ελληνικού τοπίου περιορίζουν τη διαθεσιμότητα κατάλληλων περιοχών μελέτης, με όμοιο καθεστώς φωτιάς και αβιοτικών παραμέτρων. Προτείνεται περαιτέρω έρευνα, έτσι ώστε να διερευνηθούν τα παραπάνω συμπεράσματα και σε άλλους συνδυασμούς μεταπυρικού χρόνου – μεθόδων αναδάσωσης, αλλά και σε περιοχές μελέτης εκτός του περιορισμένου αριθμού εκείνων του νομού Αττικής.

STUDY OF THE EFFECTS OF REFORESTATION AFTER WILDFIRE ON THE BIODIVERSITY OF MEDITERRANEAN ALEPPO PINE FORESTS (*Pinus halepensis*) IN ATTICA

***Andriopoulos P., **Arianoutsou M.**

Department of Ecology and Systematics, Faculty of Biology, School of Sciences, University of Athens, 157 84 Athens
* pandriop@biol.uoa.gr ,** marianou@biol.uoa.gr

Fire is an important environmental factor in many terrestrial biomes. In the Mediterranean type Ecosystems of the World has acted as an attribute that has shaped their evolutionary history. Reforestation is one of the most common post fire management practices that are applied in Mediterranean pine forests of Greece, unfortunately not always after an environmental assessment. The present study is aiming at tackling the effects of the several types of reforestation practices on plant diversity of Mediterranean *Pinus* halepensis forest communities of Attica. Five study areas were selected on the mountainous areas of Penteli and Parnitha. These sites constitute a post fire chronosequence; hence biodiversity can be studied throughout the process of post-fire succession. The method of line transects was used in order to record all plant taxa as well as their abundance. Data were processed to develop diversity and abundance indices. Comparison of the results with those from literature in cases where no reforestation had been applied did not show significant differences with the pattern of variability of diversity indices. Nevertheless, dominance structure of the main plant groups and also community's composition have been affected, e.g. reduction of legume population during the first post fire years, an indication that in some cases reforestation might become a disturbance of the post fire succession. Statistical processing of the results showed that sites are grouped not only according to their post fire age, but also according to other parameters, such as parent rock material, aspect, method of reforestation etc. Availability of suitable study sites is restricted by the great heterogeneity of Greek landscape as well as by the sparse application of reforestation. Further study is proposed in order to examine the consistency of these results in other combinations of post fire age and methods of reforestation, as well as in other areas except those of Attica prefecture.

ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΚΑΙ ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΗΣ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ ΣΤΗ ΣΥΝΔΥΑΣΤΙΚΗ ΣΥΓΓΕΝΗ ΑΝΑΙΜΙΑ HbH/CDA-I

[1]Αντωνέλου Μ.Χ., [1]Παπασιδέρη Ις., [2]Καραμπαμπά Φ.Ι., [1]Στραβοπόδης Δ.Ι., [2]Λουτράδη Α., [1]Μαργαρίτης Λ.Χ.

[1]Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Παν/μιο Αθηνών. [2]Μονάδα Προγεννητικής Διάγνωσης, Κέντρο Μεσογειακής Αναιμίας, Π.Γ.Ν.Α. "Λαϊκό"

Ο συνδυασμός της αιμοσφαιρινοπάθειας-Η (HbH) με τη Συγγενή Δυσερυθροποιητική Αναιμία τύπου Ι (CDA-I) χαρακτηρίζεται από βιοσυνθετικές βλάβες και σχηματισμό σφαιρινικών και μη εγκλείστων στα ερυθροειδή κύτταρα. Η αυξημένη πρόσδεση των εγκλείστων στην πλασματική μεμβράνη συσχετίζεται θετικά με αλλοιώσεις της λεπτής δομής της τελευταίας. Προκειμένου να ερμηνευτούν οι παθολογικές ιδιότητες της μεμβράνης του φορέα της συνδυαστικής αναιμίας HbH/CDA-I, χρησιμοποιήθηκαν δείγματα αίματος και μυελού των οστών και μέθοδοι κυτταρικής κλασμάτωσης και διαχωρισμού, SDS-PAGE, ανοσοαποτύπωμα και ανοσοκατακρήμνιση με ερυθροειδικά αντισώματα και ηλεκτρονική μικροσκοπία ανοσοχρυσού. Η ερυθροκυτταρική μεμβράνη στη συνδυαστική αναιμία χαρακτηρίζεται από ανεπάρκεια σιαλικών οξέων και πρωτεϊνών, σχηματισμό πρωτεϊνικών διαμοριακών συμπλεγμάτων, ποσότητες προσδεδεμένων σφαιρινών και ανοσοσφαιρινών και έκτοπα πεπτίδια. Σε αντίθεση με τους φορείς HbH: (α) οι προσδεδεμένες στη μεμβράνη σφαιρίνες επιδεικνύουν επιλεκτική πρόσδεση στο σκελετό αντί για τη ζώνη 3, (β) οι προσδεδεμένες στο σκελετό σφαιρίνες αποτελούνται από β- και α-αλυσίδες και (γ) οι γλυκοφορίνες συσσωματώνονται κατά τόπους στην κυτταρική επιφάνεια και συμμετέχουν σε μεμβρανικά ανοσοσύμπλοκα εκτοπίζοντας εν μέρει τη ζώνη 3. Μολονότι η CDA-I δεν βλάπτει την πλασματική μεμβράνη των ερυθροειδών κυττάρων, στο συνδυασμό της με την HbH επιφέρει τροποποιήσεις, ιδιαίτερα όσον αφορά στις αλληλεπιδράσεις του σκελετού με την αιμοσφαιρίνη και στην ενεργοποίηση ενός μηχανισμού κυτταρικής αναγνώρισης και εκκαθάρισης, ο οποίος μεσολαβείται από γλυκοφορίνες.

Η μελέτη χρηματοδοτήθηκε από τη Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας του Υπ. Ανάπτυξης (ΥΠΕΡ/1996 στον Καθ. Λ.Χ. Μαργαρίτη και ΠΕΝΕΔ/1999 στην Επίκ. Καθ. Ι.Σ. Παπασιδέρη) και από τον Ειδικό Λογαριασμό Υποτροφιών Έρευνας του Παν/μίου Αθηνών στην Επίκ. Καθ. Ι.Σ. Παπασιδέρη.

STRUCTURAL ORGANIZATION AND COMPOSITION OF THE ERYTHROID CELL MEMBRANE IN THE COMBINED CONGENITAL ANEMIA HbH/CDA-I

[1]Antonelou M.H., [1]Papassideri I.S., [2]Karababa F.J., [1]Stravopodis D.J., [2]Loutradi A., [1]Margaritis L.H.

[1]Dept. Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens.
[2]Centre of Thalassemias, Unit of Prenatal Diagnosis, General Hospital "Laikon", Athens

The association of the HbH-disease (HbH) with the Congenital Dyserythropoietic Anemia type I (CDA-I) is characterized by biosynthetical defects and by the formation of a novel type of globin and non-globin inclusions of the erythroid cells. The binding of the inclusions to the erythroid cell membrane is positively correlated with ultrastructural distortions of the later. In order to explain the pathological properties of the membrane in the HbH/CDA-I anemia, we used blood and bone marrow samples and methods such as red cell fractionation and separation techniques, SDS-PAGE, immunoblotting, immuno-precipitation and immunoelectron microscopy against a variety of erythroid-specific antibodies. The membrane in the CDA-associated thalassemia is characterized by sialic acids and protein deficiencies, formation of protein crosslinkings, excesses of bound globin and immunoglobulins and aberrant peptides. In contrast to the typical HbH-disease: (a) the membrane-bound globins exhibited preferential attachment to the skeleton than to the protein band 3, (b) the skeleton-bound globins consisted not only of β- but also of a-globin chains, and (c) the transmembrane glycophorins were pathologically clustered at the membrane level. They were also components of the membrane immunocomplexes, partially displacing the band 3. Although the CDA-I has not been found to cause deleterious effects on the erythroid cell plasma membrane, in combination with the HbH disease induces membrane alterations, especially concerning the interactions of the skeleton with the hemoglobin and the activation of a glycophorin-mediated cell recognition and clearance mechanism.

This study was supported by the General Secretariat of Research and Technology, Ministry of Development of Greece (YPER/1996 to L. H. Margaritis and PENED/1999 to I. S. Papassideri) and by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to I. S. Papassideri.

ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΚΑΙ ΒΑΘΥΜΕΤΡΙΚΗ ΔΙΑΝΟΜΗ ΤΩΝ EUPHAUSIACEA (MALACOSTRACA, CRUSTACEA) ΤΟΥ ΑΙΓΑΙΟΥ

[1]Απλικιώτη Μ., [1]Μαβίδης Μ., [1]Αναστασιάδου Χ., [2]Λεονάρδος Ι., [1]Κούκουρας Α.

[1]Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 541 24, Θεσσαλονίκη. [2]Τομέας Βιοποικιλότητας και Οικολογίας, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 451 10, Ιωάννινα

Η μελέτη ποιοτικών δειγμάτων από διάφορες περιοχές του Αιγαίου και ποσοτικών δειγμάτων με μεσοπελαγική τράτα στο Β. Αιγαίο σε βάθη από 250 m ως 1000 m, αποκάλυψε την παρουσία 7 ειδών Euphausiacea (*Euphausia krohnii* (Brandt, 1851), *Meganyctiphanes norvegica* (M. Sars, 1857), *Nematoscelis megalops* G.O. Sars, 1883, *Stylocheiron abbreviatum* G.O. Sars, 1883, *S. longicorne* G.O. Sars, 1883, *S. maximum* Hansen, 1908, και *S. suhmii* G.O. Sars, 1883). Η ανάλυση των δεδομένων έδωσε πληροφορίες για την κατακόρυφη διανομή των ειδών αυτών. Επίσης, η ανασκόπηση της σχετικής βιβλιογραφίας οδήγησε στην κατάρτιση μιας ελεγμένης λίστας των Euphausiacea της Μεσογείου και τη γνώση της γεωγραφικής διανομής τους στο Αιγαίο και τη Μεσόγειο. Τα δεδομένα της έρευνας συγκρίνονται και συζητούνται σε σχέση με εκείνα της σχετικής βιβλιογραφίας.

GEOGRAPHICAL AND VERTICAL DISTRIBUTION OF EUPHAUSIACEA (MALACOSTRACA, CRUSTACEA) OF THE AEGEAN SEA

[1]Aplikioti M., [1]Mavidis M., [1]Anastasiadou Ch., [2]Leonardos I., [1]Koukouras A.

[1]Department of Zoology, School of Biology, Aristoteleio University of Thessaloniki, 541 24, Thessaloniki, Greece. [2]Department of Biodiversity and Ecology, School of Biological Applications and Technology, University of Ioannina, 451 10, Ioannina, Greece

The study of qualitative samples from various areas of the Aegean Sea and of quantitative samples, taken with mid-water trawl in the north Aegean Sea at depths from 250 m to 1000 m, revealed the presence of 7 species of Euphausiacea (*Euphausia krohnii* (Brandt, 1851), *Meganyctiphanes norvegica* (M. Sars, 1857), *Nematoscelis megalops* G.O. Sars, 1883, *Stylocheiron abbreviatum* G.O. Sars, 1883, *S. longicorne* G.O. Sars, 1883, *S. maximum* Hansen, 1908, και *S. suhmii* G.O. Sars, 1883). The analysis of the collected data gave information on the vertical distribution of these species. Furthermore, the review of the relevant literature led to the preparation of a checklist of the Euphausiacea of the Mediterranean Sea and the knowledge of their geographical distribution in the Aegean Sea and the Mediterranean. The information acquired from this study is compared and discussed with that of the relevant literature.

ΤΟ ΧΛΩΡΟΠΛΑΣΤΙΚΟ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑ ΚΛΗΡΟΝΟΜΕΙΤΑΙ ΠΑΤΡΙΚΑ ΣΤΗΝ ΤΡΑΧΕΙΑ ΠΕΥΚΗ (*Pinus brutia* TEN.)

[1*]Αραβανόπουλος Φ.Α., [1,2]Δρούζας Α.Δ., [3]Wang X.R., [1]Πανέτσος Κ.Π., [1]Μουλαλής Δ.

*[1]Εργαστήριο Δασικής Γενετικής και Βελτίωσης Δασικών Ειδών, Τμήμα Δασολογίας και Φυσικού Περιβάλλοντος, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, ΤΘ 238, Θεσσαλονίκη 54124, Ηλεκτρ. Ταχ. aravanop@for.auth.gr, [2]Παρούσα Δ/ση: Γενική Διεύθυνση Ανάπτυξης Δασικών Πόρων, Υπουργείο Γεωργίας, Ιπποκράτους 3-5, Αθήνα, [3] National Institute for Working Life, Umeå, S-90183, SWEDEN, * Presenting author*

Διερευνήθηκε η κληρονομικότητα του χλωροπλαστικού DNA (cpDNA) της τραχείας πεύκης (*Pinus brutia*) σε μια ελεγχόμενη αναδιασταύρωση του υβριδίου τραχείας-χαλεπίου πεύκης (*P. brutia* x *P. halepensis*) με τον αρχικό γονέα τραχείας [D5 x (D5 x F8)]. Η πιστοποίηση των γονέων και των ελεγχόμενων διασταυρώσεων έγινε με την εξέταση μορφολογικών γνωρισμάτων και τη χρήση εξειδικευμένων για κάθε είδος ισοενζυμικών δεικτών (γονιδιακές θέσεις της γλουταμικής αφυδρογονάσης - *Gdh-1* και της ισοκιτρικής αφυδρογονάσης – *Idh-1*). Εφαρμόστηκε η τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης – πολυμορφισμού μήκους θραυσμάτων εκ περιοριστικών ενζύμων (PCR-RFLP). Χρησιμοποιήθηκαν εξειδικευμένοι εκκινητές οι οποίοι ενισχύουν περιοχή του χλωροπλαστικού γονιδιώματος που καλύπτει το ήμισυ του γονιδίου *matK* και μέρος του ιντρονίου του γονιδίου *trnK*. Η περιοχή αυτή κατόπιν πέψης με τα κατάλληλα περιοριστικά ένζυμα παρουσιάζει ζωνότυπους οι οποίοι διαφοροποιούν τα δύο είδη πεύκης (παρουσία της περιοριστικής θέσης *Dra* I στην *P. brutia* και απουσία στην *P. halepensis*). Επομένως κατέστη δυνατό να καθοριστεί πέραν πάσης αμφιβολίας η προέλευση του χλωροπλαστικού γονιδιώματος στη διασταύρωση που μελετήθηκε. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το χλωροπλαστικό γονιδίωμα κληρονομείται πατρικά στην τραχεία πεύκη σε συμφωνία με αντίστοιχα αποτελέσματα από άλλα κωνοφόρα. Παρουσιάζεται η χρήση των παραπάνω αποτελεσμάτων στη δασική γενετική και βελτίωση, όπως στη μελέτη του υβριδισμού, στην πιστοποίηση ελεγχόμενων διασταυρώσεων, σε μελέτες ροής γονιδίων και γονιδιακής εισδοχής, στη φυλογενετική ανάλυση, σε εξελικτικές μελέτες, κ.α. Η εργασία αυτή αποτελεί την πρώτη αναφορά στη βιβλιογραφία σχετικά με την κληρονομικότητα του χλωροπλαστικού γονιδιώματος στην τραχεία πεύκη.

Η έρευνα υποστηρίχθηκε μερικώς από το πρόγραμμα FAIR-CT95-0097

THE CHLOROPLAST GENOME IS INHERITED PATERNALLY IN *Pinus brutia* TEN

[1*]Aravanopoulos F.A., [1,2]Drouzas A.D., [3]Wang X.R., [1]Panetsos K.P., [1]Moulalis D.

*[1]Laboratory of Forest Genetics and Tree Breeding, Department of Forestry and Natural Environment, Aristotle University of Thessaloniki, Greece, e-mail: aravanop@for.auth.gr, [2]Present address: General Directorate of Forest Resources Development, Ministry of Agriculture, Athens, [3] National Institute for Working Life, Umeå, S-90183, SWEDEN, *Presenting author*

The inheritance of chloroplast DNA (cpDNA) was studied in an artificial testcross between the *Pinus brutia* female parent and the hybrid *P. brutia* x *P. halepensis* [D5 x (D5 x F8)]. Identification of parental clones and artificial crosses was carried out by using morphological traits and the species-specific isoenzyme loci *Gdh-1* and *Idh-1*. The PCR-RFLP technique was employed. Two specific primers that amplify a cpDNA region covering part of the *matK* gene and part of the *trnK* intron were employed. This region when digested with the appropriate restriction enzyme produced banding patterns that discriminated the two species (presence of restriction site *Dra* I in *P. brutia* and absence in *P. halepensis*), therefore allowing unambiguous determination of the origin of the genome. The results showed that the chloroplast genome is paternally inherited in *P. brutia* in agreement to other conifers. Results are discussed in the context of the potential use of cytoplasmic genomic variation, in the genetics and breeding of the species.

This research was partially supported by the research project FAIR-CT95-0097

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΦΩΤΙΑΣ ΣΤΑ Μ0ΕΣΟΓΕΙΑΚΑ ΤΟΠΙΑ. ΕΠΙΚΑΙΡΟΙ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΙΣΜΟΙ ΚΑΙ ΣΥΓΧΡΟΝΕΣ ΠΡΑΚΤΙΚΕΣ

Αριανούτσου Μ.

Τομέας Οικολογίας και Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 157 84 Αθήνα marianou@biol.uoa.gr

Η φωτιά αποτελεί σημαντικό οικολογικό παράγοντα σε πολλά χερσαία ενδιαιτήματα. Ειδικότερα στα Μεσογειακά οικοσυστήματα λειτουργεί ως αναπόσπαστο μέρος της εξελικτικής τους ιστορίας έχοντας διαμορφώσει τις προσαρμογές των οργανισμών που διαβιούν σε αυτά. Σε ότι αφορά στα φυτά, η αναγεννητική τους στρατηγική σχετίζεται στενά με τα φυσιολογικά τους χαρακτηριστικά και επηρεάζεται άμεσα από το καθεστώς της φωτιάς (εποχή, ένταση και συχνότητα – μεσοδιάστημα). Η διαδοχή των μεσογειακών φυτοκοινοτήτων ακολουθεί το πρότυπο της αυτοδιαδοχής, η οποία οδηγεί στην αναγέννηση και ανάκαμψη της προ της φωτιάς βλάστησης. Η συχνότητα συνιστά μια σημαντική παράμετρο του καθεστώτος της φωτιάς. Πολύ συχνές φωτιές μπορεί να περιορίσουν τα φυτά που έχουν μικρούς κύκλους ζωής, όπως τα Cistaceae ή άλλα περισσότερα μακρόβια είδη, στα οποία όμως απαιτείται πολύς χρόνος για τη μετάβαση στην αναπαραγωγική ηλικία, όπως τα μεσογειακά πεύκα. Στη Μεσογειακή λεκάνη τα μεσογειακά πευκοδάση καλύπτουν $3x10^6$ ha. Στην Ελλάδα, συγκροτούν το 8.72% της δασικής της έκτασης και φιλοξενούν μεγάλο αριθμό ειδών ενδημικών στα πυρογενή περιβάλλοντα. Σχεδόν το 1/5 των περιστατικών των δασικών πυρκαγιών των τελευταίων 30 χρόνων συνέβη σε δάση χαλεπίου πεύκης καίγοντας ~ 400000 ha. Τα μεσογειακά πευκοδάση θεωρούνται 'προσαρμοσμένα' στη φωτιά, υπό την προϋπόθεση ότι η φωτιά συμβαίνει σε μεσοδιαστήματα μεγαλύτερα του ελάχιστου χρονικού παραθύρου που απαιτείται για να εγκαταστήσει η χαλέπιος πεύκη αρτίβλαστα και αυτά να περάσουν στην αναπαραγωγική ηλικία. Η περίοδος αυτή δεν είναι μικρότερη των 25 ετών. Στις μέρες μας η δυνατότητα πρόβλεψης της μεταπυρικής απόκρισης των συστημάτων και η δυναμική τους καθίσταται κρίσιμη και αναγκαία. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζονται και αξιολογούνται οι σύγχρονες προσεγγίσεις που αναπτύσσονται προς την κατεύθυνση αυτή.

THE ROLE OF FIRE IN THE MEDITERRANEAN LANDSCAPES: CURRENT ISSUES AND MODERN PERSPECTIVES

Arianoutsou M.

Department of Ecology and Systematics, Faculty of Biology, School of Sciences, University of Athens, 157 84 Athens
e-mail: marianou@biol.uoa.gr

Fire is a major ecological factor in many biomes of the world. In the Mediterranean ecosystems fire has acted as an integral part of their evolutionary history, by having shaped their adaptive traits. The specific regeneration behaviour of plants is closely related to their physiological traits and is strongly influenced by fire regime (fire season, intensity and interval). Post-fire succession in the Mediterranean plant communities is an autosuccession that leads to the recovery of the pre-fire vegetation.

Fire frequency is an important parameter of fire regime. Very frequent fires may diminish plants that have either short life cycle, such as the rockroses or other long living plants, which require an adequate period before they can produce seeds from which they regenerate. Pines belong to the last category, as they require at least 6-8 years to produce cones and these cones require some period before they become mature.

Among the Mediterranean plant communities those consisted of *Pinus halepensis* Mill. Forests are particularly important for several reasons. They are estimated to cover approximately $3x10^6$ ha in the Mediterranean Basin. In Greece, they constitute 8.72% of its forested area and they host high percentage of the plant species that are endemic in the fire prone habitats. Most of them are close to human settlements, thus recently experiencing quite frequent fires. Almost 1/5 of the fire events which occurred in Greece during the last 30 years have burst over Aleppo pine forests consuming ~ 400000 ha of them. *Pinus halepensis* ecosystems are resilient to fire provided that fire interval follows the 'norm'. This time window must not in any case be less than a minimum time required by Aleppo pine to accomplish its biological cycle, which is to establish new seedlings and reach reproductive maturity. This period is not less than ~25 years.

The ability of predicting potential post-fire vegetation response and dynamics becomes crucial. In this contribution several ecological indicators are presented and evaluated for their reliability in predicting post-fire resilience of Aleppo pine forests.

ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΣΚΕΛΕΤΟΥ ΣΕ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΟΥΣ ΚΑΙ ΔΙΑΙΡΟΥΜΕΝΟΥΣ ΠΡΩΤΟΠΛΑΣΤΕΣ ΤΟΥ ΦΑΙΟΦΥΚΟΥΣ *Macrocystis pyrifera* (TURN.) AG

Βαρβαρήγος Β., Κατσαρός Χ., Γαλάτης Β.

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 15784 Αθήνα

Με τη χρήση ενζυμικών σκευασμάτων του εμπορίου επιτεύχθηκε η απομόνωση και η καλλιέργεια πρωτοπλαστών από γαμετόφυτα του Φαιοφύκους *M. pyrifera*. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζονται οι κύριες παρατηρήσεις που αφορούν την οργάνωση του κυτταροσκελετού των μικροσωληνίσκων (ΜΣ) και των μικρονηματίων ακτίνης (ΜΝΑ) από τη στιγμή της απομόνωσης, μέχρι και την ολοκλήρωση της πρώτης κυτταρικής διαίρεσης. Ανοσοεντόπιση σωληνίνης αποκάλυψε ότι η οργάνωση των ΜΣ στους πρωτοπλάστες είναι παρόμοια με αυτήν στα κύτταρα του θαλλού. Κατά τη μεσόφαση παρατηρήθηκε ένα πλούσιο δίκτυο ΜΣ, που διατάσσονται ακτινωτά γύρω από τα κεντροσωμάτια. Κατά τη μίτωση, το μεσοφασικό δίκτυο ΜΣ αποδιοργανώνεται και δημιουργείτα τυπική άτρακτος. Χρώση της F-ακτίνης με Ροδαμίνη – Φαλλοϊδίνη έδειξε ότι: (α) Οι μεσοφασικοί πρωτοπλάστες διαθέτουν ένα περιφερειακό δίκτυο από λεπτές δέσμες ΜΝΑ. (β) Σε ορισμένους μεσοφασικούς πρωτοπλάστες εμφανίζεται ένας έντονος φθορισμός σε συγκεκριμένες θέσεις του περιφερειακού κυτοπλάσματος, που πιθανό-τατα σχετίζονται με το σχηματισμό προεκβολής ή/και τη θέση του πυρήνα. (γ) Στους πρωτοπλάστες που σχηματίζεται προεκβολή, αρχικά στη βάση της εντοπίζεται ένας δακτύλιος ΜΝΑ. Ο δακτύλιος αυτός, διευρύνεται μετέπειτα επενδύοντας εσωτερικά την αναπτυσσόμενη προεκβολή. (δ) Κατά την κυτοκίνηση παρατηρείται αναδιοργάνωση του συνόλου των ΜΝΑ και δημιουργία ενός περιφερειακού δακτυλίου και ακολούθως ενός δίσκου ΜΝΑ στο επίπεδο που θα σχηματιστεί το κυτοκινητικό διάφραγμα. Η οργάνωση αυτή υποδεικνύει έναν καθοριστικό ρόλο της ακτίνης στον κυτοκινητικό μηχανισμό των φαιοφυκών.

CYTOSKELETON ORGANISATION IN ISOLATED AND DIVIDING PROTOPLASTS OF THE BROWN ALGA *Macrocystis pyrifera* (TURN.) AG

Varvarigos V., Katsaros Chr., Galatis B.

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

Great numbers of protoplasts from gametophytes of the brown alga *M. pyrifera* were isolated and successfully cultivated with the use of commercial enzyme mixtures. In this work we describe the organization of the microtubule (MT) and actin filament (AF) cytoskeleton of the protoplasts from the isolation untill the first cell division. Immuno-localization of tubulin revealed that MT organization in protoplasts is similar to that in vegetative thallus cells. During interphase a rich network of MT bundles was observed radiating out of the centrosomes. During mitosis, the interphase MTs are depolymerized, and a typical metaphase spindle is formed. Staining of the F–actin using Rhodamine-Phalloidine revealed that: (a) The interface protoplasts bear a cortical network of thin bundles of AFs. (b) In some interface protoplasts, an intense fluorescence appears in particular cortical cytoplasmic sites, which are probably related with the rising protrusion and/or the nuclear positioning. (c) In cases a protrusion is developed, an F-actin ring can be detected at its base. While the outgrowth is elongated, the AF ring seems to follow the elongation and becomes wider. (d) During cyto-kinesis, a reorganization of the AF network occurs results in the formation of a cortical AF ring and subsequently of an AF disk at the plane of the future cytokinetic diaphragm. These observations suggest an important role of the F-actin in the cytokinetic mechanism of brown algae.

ΤΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΣΤΗ ΒΙΟ-ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗ ΤΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ: ΕΝΑ ΝΕΟ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ ΕΠΙΧΟΡΗΓΟΥΜΕΝΟ ΑΠΟ ΤΟ ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ (ΕΠΕΑΕΚ ΙΙ)

Bashir A., Αλεξόπουλος Ι., Λιακόπουλος Θ., Μπάγκος Π., Οικονομίδου Β., Κατσαλούλης Π., Λίτου Ζ., Παπανδρέου Ν., Παύλου Κ., Προμπονάς Β., Χαμόδρακας Ι., Χαμόδρακας Σ.Ι.

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 01

Η ραγδαία ανάπτυξη της Βιοπληροφορικής επήλθε με τη συσσώρευση τεράστιων όγκων πληροφοριών από τα διάφορα προγράμματα προσδιορισμού ακολουθιών γονιδιωμάτων. Προκύπτει έτσι η απαίτηση για υψηλά εξειδικευμένο προσωπικό στο γνωστικό αυτό πεδίο, απαίτηση που δεν καλύπτεται από τα πτυχία που προσφέρουν τα ελληνικά πανεπιστήμια σήμερα. Έτσι, γίνεται επιτακτική η ανάγκη για ένα Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών, το οποίο να παράσχει το υπόβαθρο στα εργαλεία και την τεχνογνωσία που απαιτούνται για τη βιοπληροφορική έρευνα στον ακαδημαϊκό χώρο και στην παραγωγή. Το Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών στη Βιοπληροφορική του Πανεπιστημίου Αθηνών απευθύνεται σε πτυχιούχους των θετικών επιστημών και αποπειράται μια διεπιστημονική προσέγγιση, συγκεντρώνοντας μερικούς από τους πιο διακεκριμένους Έλληνες βιοπληροφορικούς. Το διδακτικό προσωπικό έχει επιλεγεί από τμήματα του Πανεπιστημίου Αθηνών, όπως τα τμήματα Βιολογίας και Πληροφορικής, καθώς και από άλλα πανεπιστήμια και ερευνητικά κέντρα. Το Πρόγραμμα, το οποίο οδηγεί στην απονομή Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης από το Πανεπιστήμιο Αθηνών, έχει διάρκεια τριών εξαμήνων. Οι ενδιαφερόμενοι για υποψηφιότητα, για το ακαδημαϊκό έτος που θα ξεκινήσει τον Οκτώβριο του 2003, προσκαλούνται να πληροφορηθούν σχετικά με το Πρόγραμμα στον παγκόσμιο ιστό στην διεύθυνση:

http://bioinformatics.biol.uoa.gr/msc/

BIOINFORMATICS POSTGRADUATE PROGRAMME AT THE UNIVERSITY OF ATHENS: ANNOUNCING A NEW MASTERS PROGRAMME FUNDED BY THE HELLENIC MINISTRY OF EDUCATION (EPEAEK II)

Bashir A., Alexopoulos I., Liakopoulos Th., Bagos P., Iconomidou V., Katsaloulis P., Litou Z., Papandreou N., Pavlou K., Promponas V., Hamodrakas I., Hamodrakas S.I.

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 157 01

Given the pace of development in bioinformatics and the urgent need to assemble a worldwide collective effort to convert the raw data collected from the various genome projects into meaningful and useful biological information, there is a growing need for highly specialized personnel in the field. The traditional degrees offered by the Hellenic Universities do not at the moment fulfil this need and there is room for a postgraduate programme suitable for current science graduates giving them a fast track to the tools and knowledge needed for active research in both academia and industry. The postgraduate bioinformatics programme at the University of Athens (UOA) takes an interdisciplinary approach and brings together some of the leading figures from the Hellenic bioinformatics community. Teaching staff is selected from existing UOA departments including Cell Biology and Biophysics, Biochemistry and Molecular Biology, and Informatics. In addition to these inter-departmental collaborations the programme takes personnel from other Universities/research centres making this a truly unique and timely effort. The programme leading to the qualification of M.Sc from the UOA takes the form of a three semester taught. The first semester covering the basics of molecular biology and computational methods prepares the students for a more detailed investigation of specific bioinformatics tools in the second semester where students are also given a choice of optional courses to customise their specific interests. The third semester is concluded by a research project. Potential applicants, for the first intake to begin in October 2003, are invited to view the information and admissions procedure which we have assembled together on the World Wide Web at the URL:

http://bioinformatics.biol.uoa.gr/msc/

ΕΝΑΣ ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΟΣ ΜΕΤΑΦΡΑΣΤΙΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΕΜΠΛΕΚΕΤΑΙ ΣΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ ARFP/F/CORE+1 ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ ΣΕ ΕΠΙΜΟΛΥΣΜΕΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΘΗΛΑΣΤΙΚΩΝ

Βασιλάκη Ν., Μαυρομαρά Π.

Εργαστήριο Μοριακής Ιολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Βασ. Σοφίας 127, 115 21 Αθήνα

Ο ιός της ηπατίτιδας C (HCV) αποτελεί τον κύριο αιτιολογικό παράγοντα πρόκλησης ιογενούς μη-Α, μη-Β ηπατίτιδας, επιφέροντας συχνά κίρρωση του ήπατος και ηπατοκυτταρικό καρκίνο. Το γονιδίωμα του ιού, ένα μόριο RNA θετικής πολικότητας, κωδικοποιεί μια πολυπρωτεΐνη η οποία ωριμάζει με τη βοήθεια ιικών και κυτταρικών πρωτεασών. Πρόσφατες μελέτες από το δικό μας και δύο άλλα εργαστήρια έδειξαν ότι το πρωτότυπο στέλεχος HCV-1 παράγει ένα νέο πολυπεπτίδιο, την ARFP, F ή core+1 πρωτεΐνη. Αυτή η πρωτεΐνη κωδικοποιείται από το ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης που επικαλύπτεται του core γονιδίου στο +1 πλαίσιο (core+1 ORF). *In vitro* εκφράζεται από το εναρκτήριο κωδικόνιο της ιικής πολυπρωτεΐνης μέσω ενός μεταφραστικού πλαισιοτροποποιητικού μηχανισμού. Εντούτοις, παρόμοιες μελέτες έκφρασης της core κωδικής αλληλουχίας του στελέχους HCV-1a (H) δεν κατέλειξαν σε ανιχνεύσιμα επίπεδα παραγωγής της ARFP/F/core+1 πρωτεΐνης. Προκειμένου να διαλευκανθεί αυτό το θέμα και να προσεγγιστεί λειτουργικά η core+1 πρωτεΐνη, εξετάστηκε η core+1 έκφραση *in vivo* σε επιμολυσμένα κύτταρα. Για το σκοπό αυτό, συζεύχθηκε το γονίδιο της firefly λουσιφεράσης (LUC) με τα core και core+1 ORFs των στελεχών HCV-1 και HCV-1a (H) και πραγματοποιήθηκε κατευθυνόμενη μεταλλαξογένεση. Η συζευγμένη με LUC ARFP/F/core+1 πρωτεΐνη παράχθηκε ποσοτικά *in vivo* και από τα δύο στελέχη. Επιπλέον, δείχθηκε ότι τόσο μεταλλαγές που τροποποιούν την περιοχή των δέκα συνεχόμενων αδενινών του HCV-1 (κωδικοί 8-11), η οποία συνιστά τη θέση αλλαγής του πλαισίου ανάγνωσης που οδηγεί σε έκφραση του core+1 ORF *in vitro*, όσο και η ανερμηνεύσιμη μετάλλαξη του εναρκτηρίου κωδικονίου της ιικής πολυπρωτεΐνης δεν επηρεάζουν την παραγωγή της core+1 πρωτεΐνης *in vivo*. Αυτό δείχνει ότι ο κυρίαρχος μηχανισμός έκφρασης της ARFP/F/core+1 πρωτεΐνης *in vivo* δεν περιλαμβάνει αλλαγή του πλαισίου ανάγνωσης. Αντίθετα, όλα τα στοιχεία που συνάχθηκαν υποδεικνύουν ότι για την έναρξη της μετάφρασης της core+1 πρωτεΐνης επιστρατεύονται κωδικοί που εντοπίζονται εσωτερικά στην core/ core+1 κωδική αλληλουχία, μεταξύ των νουκλεοτιδίων 583 και 606.

AN ALTERNATIVE TRANSLATION MECHANISM IS IMPLICATED IN THE PRODUCTION OF THE HCV ARFP/F/CORE+1 PROTEIN IN TRANSFECTED MAMMALIAN CELLS

Vassilaki N., Mavromara P.

Molecular Virology Laboratory, Hellenic Pasteur Institute, 127 Vas. Sofias Avenue, 115 21 Athens

Hepatitis C virus (HCV) is the main etiologic agent of non-A, non-B viral hepatitis, frequently leading to liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. HCV has a positive single-stranded RNA genome encoding a single polyprotein, which is processed by viral and cellular proteases. Recent studies from our and two other laboratories have shown that the prototype HCV-1 isolate produces a novel protein, known as ARFP, F or core+1. This protein is encoded by an open reading frame (ORF) that overlaps the core gene in the +1 frame (core+1 ORF). *In vitro* this protein is translated from the initiator codon of the viral polyprotein by a ribosomal frameshift mechanism. On the other hand, however, similar studies have failed to detect the ARFP/F/core+1 protein in the HCV-1a (H) isolate. To clarify this issue and to elucidate the functions of this protein, we examined the core+1 expression *in vivo*, in transfected cells. Thus, we fused the luciferase (LUC) gene with the core and core+1 ORFs of the HCV-1 and HCV-1a (H) isolates, and carried out site-directed mutagenesis analysis. The LUC-tagged ARFP/F/core+1 protein was efficiently produced *in vivo* in both HCV-1 and HCV-1a (H). More importantly, neither changes of the specific 10-A residue region of HCV-1 (codons 8-11) - the proposed frameshift site for the production of the ARFP/F/core+1 protein *in vitro*- nor the alteration of the start site of the HCV polyprotein to a stop codon affected the production of the ARFP/F/core+1 protein *in vivo*. These results indicate that in contrast to the *in vitro* studies, the predominant strategy for ARFP/F/core+1 production *in vivo* is not based on a ribosomal frameshift event. Instead, all data from genetic analysis and immunoprecipitation experiments suggest that the efficient production of the ARFP/F/core+1 protein is triggered from internal translational initiation codon(s) located downstream from codons 8-11, between nts 583 and 606.

ΜΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΗΣ ΣΥΝΘΕΤΑΣΗΣ ΤΟΥ ΜΟΝΟΞΕΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΑΖΩΤΟΥ ΜΕ ΑΥΘΟΡΜΗΤΕΣ ΑΠΟΒΟΛΕΣ

[1]Βασιλάκου Μ., [2]Βελισσαρίου Β., [2]Μακατσώρης Κ., [3]Φλωρεντίν-Αραρ Λ., [1]Λάμνισου Κ.

[1]Τομέας Γενετικής & Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα. [2] Εργαστήριο Κυτταρογενετικής, Τμήμα Γενετικής και Μοριακής Βιολογίας, Μαιευτήριο Μητέρα. [3]A Lab Κέντρο Μορ. Βιολογίας & Κυτταρογενετικής, Ιατρικό Ινστιτούτο Έρευνας & Διάγνωσης, Αθήνα

Στην εργασία αυτή μελετήσαμε την πιθανή συσχέτιση του πολυμορφισμού της ενδοθηλιακής συνθετάσης του μονοξειδίου του αζώτου (ecNOS4) με αυθόρμητες αποβολές. Χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη 78 γυναίκες με ιστορικό τουλάχιστον δύο αυθόρμητων αποβολών, ενώ για ομάδα ελέγχου χρησιμοποιήθηκαν 71 γυναίκες άνω των 35 ετών με δύο παιδιά. Για τη μελέτη του πολυμορφισμού έγινε πολλαπλασιασμός της επιλεγμένης περιοχής του γονιδίου ecNOS4 στην οποία εντοπίζεται ο πολυμορφισμός με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης, ηλεκτροφόρηση των προϊόντων PCR σε πήκτωμα αγαρόζης και καταγραφή του γονοτύπου του κάθε ατόμου (ασθενών-ομάδα ελέγχου). Οι συχνότητες των γονοτύπων για τον πολυμορφισμό ecNOS4 bb, ab, aa που παρατηρήθηκαν ήταν :0.74 ,0.24, 0.01 για τις ασθενείς και 0.69, 0.28, 0.03 για την ομάδα ελέγχου, αντίστοιχα. Ο έλεγχος X^2 έδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των συχνοτήτων των aa και ab γονοτύπων στις γυναίκες με αυθόρμητες αποβολές και στην ομάδα ελέγχου. Αντίθετα με προηγούμενα αποτελέσματα από μελέτη σε άλλο ευρωπαϊκό πληθυσμό, τα δικά μας αποτελέσματα οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η παρουσία του αλληλομόρφου a του πολυμορφισμού ecNOS4 δεν αποτελεί παράγοντα ρίσκου για αυθόρμητες αποβολές.

Η εργασία χρηματοδοτήθηκε από τον ΕΛΚΕ του Πανεπιστημίου Αθηνών

LACK OF EVIDENCE FOR ASSOCIATION OF THE ENDO-THELIAL NITRIC OXIDE SYNTHASE GENE POLYMORHISM IN WOMEN WITH IDIOPATHIC RECURRENT MISCARRIAGE

[1]Vasilakou M., [2]Velissariou V., [2]Makatsoris K., [3]Florentin-Arar L., [1]Lamnissou K.

[1]Department of Genetics, Faculty of Biology, University of Athens, Greece. [2]Cytogenetics Laboratory, Dept of Genetics and Molecular Biology, Mitera Maternity and Surgical Center, Athens, Greece. [3]A Lab Molecular Biology and Cytogenetic Center, Medical Institute of Research and Diagnosis, Athens, Greece

In the present study we investigated the relationship between idiopathic recurrent miscarriage and a polymorphism of the gene encoding endothelial nitric oxide synthase (ecNOS4). In a prospective case-control study, 78 women with idiopathic recurrent miscarriage and 71 healthy controls were studied. We used the polymerase chain reaction to identify the different alleles of a 27 base pair tandem repeat polymorphism in intron 4 of the ecNOS gene. The frequencies of bb, ab, aa, were 0.74, 0.24, 0.02 in the patient group and 0.69, 0.28, 0.03 in the control group, respectively. The dada between the two groups were analyzed by chi-square test.

The results from the patient group showed that the frequency of aa and ab genotype in the patient population were not significantly different than those in the control group. Conversely to previous results by others the dada of this work do not support a role for the ecNOS4 polymorphism genetic determinant of the risk of idiopathic recurrent miscarriage.

Η ΚΑΤ' ΕΞΑΙΡΕΣΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΩΝ ΠΑΤΡΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΗΤΡΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΜΟΡΙΩΝ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟΥ DNA ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΤΟΥ *Mytilus galloprovincialis*

[1]Βενέτης Κ., [2]Τσαγκαράκης Δ., [1]Ιερεμιάδου Φ., [2,3]Ζούρος Ε., [1]Ροδάκης Γ.Κ.

[1]Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών,157 01 Αθήνα, [2]Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, 714 09 Ηράκλειο, Κρήτη, [3]Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας Κρήτης

Σύμφωνα με το φαινόμενο της Διπλής Μονογονικής Κληρονομικότητας (Δ.Μ.Κ.) σε ορισμένα δίθυρα μαλάκια, τα αρσενικά άτομα περιέχουν το πατρικώς κληρονομούμενο (M τύπου) μιτοχονδριακό DNA (mtDNA) στη γονάδα τους και το μητρικώς κληρονομούμενο (F τύπου) στους σωματικούς τους ιστούς, ενώ τα θηλυκά άτομα περιέχουν μόνο το F μόριο. Τα μέχρι σήμερα βιβλιογραφικά δεδομένα δείχνουν σε ορισμένο ποσοστό την παρουσία κατ' εξαίρεση του τύπου M σε σωματικούς ιστούς αρσενικών ατόμων, αλλά και σε ιστούς θηλυκών ατόμων. Επίσης, αρκετές εργασίες αναφέρουν τη παρουσία F τύπου σε σπερματοζωάρια. Για να διαλευκανθεί αν η εικόνα αυτή οφείλεται σε «ατέλειες» του μηχανισμού της Δ.Μ.Κ. ή είναι αποτέλεσμα προσμίξεων από κύτταρα της γονάδας, που συμβαίνει κατά την ανατομία για την παραλαβή διαφόρων σωματικών ιστών ή/και κατά τη συλλογή σπερματοζωαρίων, επιδιώξαμε την ανάπτυξη και εφαρμογή μεθόδων ανατομίας και παραλαβής σπέρματος που ελαχιστοποιούν την πιθανότητα προσμίξεων κυττάρων από διαφορετικούς ιστούς. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι οι προηγούμενες διαπιστώσεις άτυπης παρουσίας τύπων mtDNA εμπεριέχουν σημαντικό βαθμό πειραματικού σφάλματος. Συμπερασματικά, οι αναφορές για παρουσία του F τύπου στα σπερματοζωάρια πρέπει να θεωρηθούν ως αναξιόπιστες, ενώ παραμένει υπό αμφισβήτηση η παρουσία του μορίου τύπου M στους σωματικούς ιστούς τόσο των αρσενικών όσο και (κατά μεγαλύτερο βαθμό) των θηλυκών ατόμων.

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

ON THE ATYPICAL PRESENCE OF TWO TYPES OF MITOCHONDRIAL GENOMES IN GONADAL AND SOMATIC TISSUES OF MALE AND FEMALE INDIVIDUALS OF THE MUSSEL *Mytilus galloprovincialis*

[1]Venetis K., [2]Tsagarakis D., [1]Ieremiadou F., [2,3]Zouros E., [1]Rodakis G.C.

[1]Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Biology, University of Athens, 157 01 Athens, [2]Department of Biology, University of Crete, 714 09, Heraklion, Crete, [3]Institute of Marine Biology of Crete

In several bivalve mollusks there exist two mitochondrial DNAs (mtDNA) in the same species (the phenomenon of Doubly Uniparental Inheritance, DUI). More specifically, males contain the paternally transmitted genome (M type) in their gonads and the maternally transmitted genome (F type) in their soma, whereas females contain only the F type. However several studies have reported the presence of the M genome in somatic tissues of both sexes and also of the F genome in the male gonad. Because this "atypical" presence (even in minor amounts) may have implications in our understanding of the mechanism of DUI, we examined the possibility that these reports represent experimental artifacts, namely the inadvertent mixture of gonadal and somatic cells in the process of separating tissues for DNA extraction. We developed methods that minimize this possibility and found a rarer presence of M type genomes in somatic tissues. Moreover, we failed to detect F type molecules in spermatozoa. We conclude that there is no evidence for presence of F type in spermatozoa and that the evidence for presence of M type in somatic tissues of males and, particularly, in somatic tissues of females is questionable.

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

ΕΠΑΓΩΓΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΠΑΘΟ-ΓΕΝΕΣΗ ΣΤΟ ΑΜΥΝΤΙΚΟ ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΕΝΟΣ ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΙΚΟΥ ΡΙΖΟ-ΒΑΚΤΗΡΙΟΥ *Paenibacillus* sp. ΕΝΑΝΤΙΟΝ ΜΥΚΗΤΩΝ ΚΑΙ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

[1]Βενιεράκη Α., [1,2]Τζάμος Σ., [2]Τζάμος Ε.Κ., [1]Κατινάκης Π.

[1]Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας και [2]Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Τμήμα Φυτικής Παραγωγής, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75 - Βοτανικός, 118 55 Αθήνα

Ο μηχανισμός αντοχής των φυτών ενάντια στις ασθένειες ο οποίος αναπτύσεται διασυστηματικά ως αντίδραση στον αποικισμό των ριζών από μη παθογόνα στελέχη ριζοβακτηρίων και προστατεύουν τα φυτά, ονομάζεται επαγόμενη διασυστηματική αντοχή (ISR). Ένας από τους μηχανισμούς αυτούς είναι οι πρωτεΐνες που σχετίζονται με την παθογένεση (PRs), οι οποίες επάγονται σε φυτοπαθολογικές ή συγγενείς συνθήκες, έχουν σταθερή επαγωγή στο φυτό, τα γονίδια που τις εκφράζουν κωδικοποιούνται από το φυτό-ξενιστή και έχουν θεωθηθεί ως παράγοντες ανοσοποίησης των φυτών. Για τη διερεύνηση της δυνατότητας επαγωγής διασυστηματικής αντοχής από ένα ανταγωνιστικό ριζοβακτήριο *Paenibacillus* sp. (στέλεχος K-165) μελετήθηκε η ανταγωνιστική δράση του έναντι των παθογόνων μύκητων *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani, Verticillium dahliae* και έναντι του παθογόνου βακτηρίου της φυλλικής επιφάνειας *Pseudomonas syringae* pv *tomato* (*Pst*). Στο πρώτο σύστημα ξενιστού-παθογόνου, χρησιμοποιήθηκαν ως φυτά-πρότυπα, φυτά *Arabidopsis thaliana* αγρίου τύπου Col-0, μεταλλαγμένα *etr-1*, *jar-1*, *npr-1* και διαγονιδιακά NahG. Στα μεταλλαγμένα *npr-1* φυτά δεν παρατηρήθηκε ανοσοποίηση μετά από εφαρμογή του ανταγωνιστικού βακτηρίου K-165 σε αμφότερα των πειραμάτων ανοσοποίησης με τους δύο μύκητες, αποδεικνύοντας ότι η διασυστηματική αντοχή των φυτών που οφείλεται στο K-165 εξαρτάται από την παρουσία της ρυθμιστικής πρωτεΐνης NPR1. Για διερεύνηση της ανοσοποιητικής ικανότητας του K-165 στο σύστημα παθογόνου βακτηρίου *Pst*-φυτών *Arabidopsis*, μελετήθηκε η έκφραση γονιδίων τα οποία εμπλέκονται στο μονοπάτι της επαγόμενης διασυστηματικής αντοχής όπως τα *PR-1, PR-2, PR-5, AtVsp, Hel, Pdf1.2* με τη μέθοδο της RT-PCR όπου παρατηρήθηκε διαφοροποίηση στην έκφραση των PR γονιδίων, αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι οι πρωτεΐνες που σχετίζονται με την παθογέγεση αποτελούν καθοριστικό παράγοντα για την επαγωγή ανθεκτικότητας στα φυτά με το βακτήριο K-165.

PATHOGENESIS RELATED PROTEINS REGULATION AT A *Paenibacillus* sp. ANTAGONISTIC BACTERIUM DEFENSE PATHWAY AGAINST PATHOGENIC FUNGI AND BACTERIA

[1]Venieraki A., [1,2]Tjamos S.E., [2]Tjamos E.C., [2]Katinakis P.

[1]Agricultural University of Athens, Laboratory of Molecular Biology.
[2]Laboratory of Plant Pathology, Iera Odos 75, Athens, Greece

The plant defense mechanism against diseases which has a systemic response to root colonization from non pathogen rhizobacteria strains and gives protection to the plants is called Induced systemic resistance (ISR). One of these mechanisms are the Pathogenesis-related proteins (PRs) which induced in phytopathological or related conditions; they have stable induction in plants they are expressed by the host-plant genes and it is believed that they are induced resistance factors. The capacity of an antagonistic rizobacterium *Paenibacillus* sp. (strain K-165) to induced systemic resistance against the wilt pathogens *Fusarium oxysporum* f.sp. *raphani* (*For*), *Verticillium dahliae* and the foliar pathogen *Pseudomonas syringae* pv *tomato* DC3000 (*Pst*) was investigated. *Arabidopsis* plants ecotype Col-O, the mutant *etr-1*, *npr-1*, *jar-1* and the trangenic NahG were used as model-plants. The analysis of the results proved that from the *npr1 Arabidopsis* mutant experiment for both experiments didn't show any significant differentiation between treated and untreated plants with K-165. The absence of induced resistance in the *npr1* mutants showed that the induced resistance caused by the K-165 depends on NPR1 regulator protein. At the second part of the experiment, we investigated the resistance inducing capacity of the K-165 against the foliar pathogen *Pseudomonas syringae* pv *tomato* (*Pst*) by studying the gene expression of the ISR involved genes *PR-1, PR-2, PR-5, Hel, AtVsp, Pdf1.2*. Leaf tissues were harvested at different days after inoculation with *Pst*, for RNA analysis. The RT-PCR results showed that these genes are potentiated, leading to enhanced expression after challenge inoculation with *Pst* and that PR genes played a crucial role in the development of induced resistance. In this case it could be concluded that pathogen-induced systemic resistance is associated with potentiation of PR genes.

Ο ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΑΚΑ ΣΤΟ ΣΥΜΒΙΩΤΙΚΟ ΒΑΚΤΗΡΙΟ *Mesorhizobium loti*

Βενιεράκη Α., Φλεμετάκης Ε., Κιρτζαλίδου Α., Efrose R., Χατζηπαυλίδης Ι., Κατινάκης Π.

Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75 - Βοτανικός, 118 55 Αθήνα

Το μηλικό οξύ είναι ένα C_4 δικαρβοξυλικό οξύ όπου μαζί με το ηλεκτρικό, θεωρείται ως κύρια πηγή άνθρακα η οποία χρησιμοποιείται από τα αζωτοδεσμευτικά βακτήρια κατά τη διάρκεια της συμβιωτικής σχέσης τους με τα ψυχανθή. Η πηγή αυτή άνθρακα οξειδώνεται μέσω του τρικαρβοξυλικού κύκλου για την παραγωγή του απαραίτητου ATP και της αναγωγικής ισχύος που απαιτείται για τη μετατροπή του ατμοσφαιρικού αζώτου σε αμμωνία. Τα ένζυμα που συμμετέχουν στα πρωταρχικά βήματα μεταβολισμού του μηλικού οξέος, στα βακτηριοειδή, είναι τα μηλικά ένζυμα (ME1 και ME2) και η μηλική αφυδρογονάση. Στην παρούσα εργασία, έγινε προσπάθεια καθορισμού των χρονικών προτύπων έκφρασης των ME1 ($NADP^+$ μηλικού ενζύμου) και ME2 (NAD^+ μηλικού ενζύμου) στα βακτηριοειδή του *Mesorhizobium* κατά τη συμβίωση τους με το ψυχανθές *Lotus japonicus*. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα μεταγραφήματα του ME1 γονιδίου συσσωρεύονται πριν την έναρξη της δέσμευσης του αζώτου και έπειτα σταδιακά μειώνονται, ενώ τα μεταγραφήματα του ME2 γονιδίου συσσωρεύονται με τρόπο ανάλογο με του *nif*H. Μελετήθηκε η πιθανή τύχη του μηλικού, σε συνάρτηση με τον μεταβολισμό του άνθρακα στα βακτηριοειδή. Εξετάστηκαν επίσης στην εργασία αυτή, τα πρότυπα έκφρασης των γονιδίων που κωδικοποιούν ένζυμα που συμμετέχουν στη διαδικασία της γλυκονεογένεσης και της γλυκόλυσης.

CARBON METABOLISM IN THE SYMBIOTIC BACTERIUM *Mesorhizobium loti*

Venieraki A., Flemetakis E., Kirtjalidou A., Efrose R., Chatzipavlidis I., Katinakis P.

Laboratory of Molecular Biology, Department of Agricultural Biotechnology, Agricultural University of Athens, Iera Odos 75, Votanikos 11855, Athens

Malate is a C_4 dicarboxylic acid which considered as the major carbon source utilized by the N_2 fixing bacteroids during the symdiotic association with their plant hosts. This carbon source is oxidized via the TCA cycle to produce the necessary ATP and reducing power for conversion of atmospheric nitrogen to ammonia. The enzymes involved initial steps of malate metabolism within the bacteroids are malic enzymes (MTE and DME) and malate dehydrogenase. In this study, we determined the temporal expression patterns of *Mesorhizobium loti, tme* and *dme* genes in symbiosis with *Lotus japonicus*. The results revealed that *tme* gene transcripts accumulated before the onset of nitrogen fixation and then gradually decreased, while *dme* gene transcripts were accumulated concomitantly with those of *nif*H. The possible fate of malate, in relation to carbon metabolism in bacteroids, is discussed. The expression patterns of genes coding for enzymes involved in glyconeogenesis and glycolysis was also examined.

GENERATOR: ΛΟΓΙΣΜΙΚΟ ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΙ ΟΠΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΤΩΝ ΑΚΟΛΟΥΘΙΩΝ ΠΛΗΡΩΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΕΝΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΩΝ-ΠΡΩΤΕΩΜΑΤΩΝ

Βερνίκος Γ.Σ.*, Γκόγκας Χ.Γ.*, Προμπονάς Β.Ι., Χαμόδρακας Σ.Ι.

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 01

Τα τελευταία χρόνια, η εντυπωσιακή πρόοδος της Μοριακής Βιολογίας και η ανάπτυξη τεχνολογιών για τον ταχύτατο προσδιορισμό νουκλεοτιδικών αλληλουχιών, οδήγησαν στην εκθετική αύξηση του αριθμού των διαθέσιμων ακολουθιών DNA-πρωτεϊνών, οι οποίες κατατίθενται σε ελεύθερα προσβάσιμες βάσεις δεδομένων. Παράλληλα, η έντονη ερευνητική δραστηριότητα στο πεδίο της Βιοπληροφορικής, δημιουργεί πλήθος ανομοιογενών δευτερογενών δεδομένων, τα οποία, εξεταζόμενα σε μεγάλη κλίμακα, απαιτούν περαιτέρω ανάλυση για την εξαγωγή χρήσιμων βιολογικών συμπερασμάτων. Το GeneRator αποτελεί ένα ενοποιημένο υπολογιστικό περιβάλλον εργασίας για την οπτικοποίηση, οργάνωση, ανάλυση και το συνδυασμό πειραματικών δεδομένων και αποτελεσμάτων διαφόρων αλγορίθμων ανάλυσης βιομακρομορίων, που κωδικοποιούνται σε 'κλειστά συστήματα' ακολουθιών (π.χ. πλήρως προσδιορισμένου γονιδίωματος-πρωτεώματος-χρωμοσώματος). Η εφαρμογή διαχειρίζεται δεδομένα σχετικά με: την ακολουθία και τα χαρακτηριστικά της, γενικά δομικά ή λειτουργικά χαρακτηριστικά (π.χ. ενζυμική ή δομική κατάταξη), κατάταξη πρωτεϊνών με βάση το υποκυτταρικό διαμέρισμα στο οποίο δρουν ή τον αριθμό-τοπολογία πιθανών διαμεμβρανικών τμημάτων, πεπτίδια οδηγητές κ.α. Οι πληροφορίες οργανώνονται σε βάση δεδομένων ανά 'σύστημα' με προοπτική, στο άμεσο μέλλον, να προσφέρεται η δυνατότητα συγκριτικής ανάλυσης της κατανομής χαρακτηριστικών κατά μήκος διαφορετικών 'συστημάτων'. Ο χρήστης μπορεί να αντλήσει πληροφορίες για μεμονωμένα γονίδια ή για ολόκληρο το γονιδίωμα σε μορφή κειμένου ή με αλληλεπίδραση με το γραφικό περιβάλλον της εφαρμογής. Το GeneRator είναι συμβατό με συστήματα Linux, Windows ME-2000-XP, που διαθέτουν κατάλληλο περιβάλλον εκτέλεσης εφαρμογών Java (Java Virtual Machine).

***Συνεισέφεραν εξ' ίσου στην εργασία.**

GENERATOR: A SOFTWARE PLATFORM FOR COMPLETE GENOME-PROTEOME SEQUENCE FEATURE ANALYSIS AND VISUALISATION

Vernikos G.S., Gkogkas C.G., Promponas V.J., Hamodrakas S.J.

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 157 01

The impressive progress in Molecular Biology and the development of rapid genome sequencing technologies led to an exponential growth of the number of the available DNA-protein sequences deposited in public databases. On the other hand, the intensive research activity in the field of Bioinformatics generates a large amount of heterogeneous meta-data, which, examined in a large scale, demand further analysis in order to extract valuable biological information. GeneRator is an integrated computational workbench for the visualisation, organisation, analysis and linkage of experimental data with results obtained utilising several different sequence analysis algorithms, for biomolecules encoded in "closed sequence systems" (i.e. complete genome-proteome-chromosome sequences). This application deals with diverse data related to: the sequence itself, sequence features, general structural or functional features (i.e. enzyme or structural classification), protein classification based on subcellular location or the number-topology of probable transmembrane segments, signal peptides etc. All available information is organised in a small database per "system", with a near future perspective to offer the ability of comparative analysis of feature distribution along different "systems". A user is enabled to retrieve single gene information or summaries for complete gene-sets or their products in plain text output or interact through the graphical user interface and save desired information in publication quality image files. GeneRator is compatible with Linux or Windows ME-2000-XP operating systems, provided that the appropriate Java Runtime Environment is already installed in the system.

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΕ ΜΕΤΑΛΛΟΡΥΘΜΙΖΟΜΕΝΑ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΑ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΣΤΟΝ *Saccharomyces cerevisiae*

Βουτσινά Α., [1]Φραγκιαδάκης Γ.Σ., [1]Αλεξανδράκη Δ.

Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας (ΙΜΒΒ) – Ίδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας (FORTH), [1]Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Βιολογίας, Τ.Θ. 1527, 71110 Ηράκλειο Κρήτης

Η έλλειψη σιδήρου και χαλκού επάγουν την μεταγραφική ενεργοποίηση γονιδίων που εξασφαλίζουν την αναγωγή και την μεταφορά των περιβαλλοντικών δυσδιάλυτων ιόντων Fe^{3+} και Cu^{2+} στο κύτταρο της ζύμης *Saccharomyces cerevisiae*. Γενετική ανάλυση και σαρώσεις βιβλιοθηκών με τη δοκιμασία δύο υβριδίων στη ζύμη (yeast two-hybrid screens) οδήγησαν στην ταυτοποίηση πρωτεϊνών που αλληλεπιδρούν άμεσα με τους DNA-προσδενόμενους μεταγραφικούς ενεργοποιητές των σιδηρο- και χαλκο-ρυθμιζόμενων γονιδίων, τους Aft1p και Mac1p αντιστοίχως.
Λειτουργικές αναλύσεις των αλληλεπιδράσεων αποκάλυψαν:

1. νέους ρόλους των γνωστών συγκαταστολέων της μεταγραφής Hir1p και Ssn6p στην μεταγραφική ενεργοποίηση,
2. νέους ρόλους των HMG-like πρωτεϊνών Nhp6A/B στα μεταγραφικά σύμπλοκα, και
3. δυνητικά νέους ρόλους για πρωτεΐνες που ήταν άγνωστη η εμπλοκή τους στην μεταγραφική ρύθμιση.

Τα αποτελέσματά μας καθώς και οι λειτουργικές δοκιμασίες που χρησιμοποιήθηκαν θα συζητηθούν.

PROTEIN–PROTEIN INTERACTIONS IN METALLOREGULATED TRANSCRIPTIONAL COMPLEXES IN *Saccharomyces cerevisiae*

Voutsina A., [1]Fragiadakis G.S., [1]Alexandraki D.

Institute of Molecular Biology and Biotechnology (IMBB) – Foundation for Research and Technology-Hellas (FORTH), and [1]University of Crete, Department of Biology, P.O. Box 1527, GR-71110 Heraklion, Crete

Iron and copper depletion induce transcriptional activation of genes responsible for the reduction and intracellular transport of the insoluble extracellular Fe^{3+} and Cu^{2+} in yeast *Saccharomyces cerevisiae*.
Genetic analysis and yeast two-hybrid screens led to the identification of proteins interacting directly with the DNA binding activators of the iron- and copper-regulated genes, Aft1p and Mac1p respectively.
Functional analyses of these interactions revealed:

1. new roles for the known Hir1p and Ssn6p co-repressors in transcriptional activation,
2. new roles for the architectural HMG-like proteins Nhp6A/B in transcriptional complexes, and
3. potentialy new functions for proteins not previously known to affect transcription.

Implications of our results and the used functional assays will be discussed.

ΜΕΤΑΓΩΓΗ ΜΗΝΥΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΣΤΗΝ ΚΑΡΔΙΑ ΤΩΝ ΣΠΟΝΔΥΛΩΤΩΝ

Γαϊτανάκη Κ.

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Ε.Κ.Π.Α.

Οι ενεργές ρίζες οξυγόνου (ROS) πυροδοτούν ποικιλία ενδοκυτταρικών οδών μεταγωγής μηνυμάτων, που μπορούν να οδηγήσουν σε κυτταρικό θάνατο με μηχανισμούς απόπτωσης. Ειδικότερα στην καρδιά των θηλαστικών, η ενδοκυτταρική συσσώρευση τέτοιων ριζών, ως αποτέλεσμα οξειδωτικού στρες κατά τη διάρκεια ισχαιμίας ή ισχαιμίας-επαναιμάτωσης, μπορεί να συσχετιστεί με διάφορες παθολογικές καταστάσεις. Ανάμεσα στους διάφορους ενδοκυτταρικούς μηχανισμούς μεταγωγής μηνυμάτων, περιλαμβάνονται και αυτοί στους οποίους συμμετέχουν οι MAPKs. Στην παρούσα μελέτη, εξετάστηκε η επίδραση οξειδωτικού στρες στα μονοπάτια των MAPKs, με έμφαση σε εκείνο της p38-MAPK σε σχέση με το χρόνο και τη δόση του οξειδωτικού παράγοντα. Πειράματα με χρήση αντισωμάτων ειδικών για τις φωσφορυλιωμένες μορφές των μικρών πρωτεϊνών θερμικού σοκ (HSP27), έδειξαν ότι το H_2O_2 επάγει έντονη ενεργοποίηση των πρωτεϊνών αυτών. Μάλιστα, ο ειδικός αναστολέας της p38-MAPK SB203580 βρέθηκε ότι αναστέλλει πλήρως την επαγόμενη από το H_2O_2 φωσφορυλίωση τόσο της p38-MAPK όσο και των HSP27. Πειράματα με χρήση μοριακών τεχνικών, έδειξαν ότι το οξειδωτικό στρες επάγει επίσης έντονη αύξηση τόσο της μεταγραφής όσο και της μετάφρασης του γονιδίου του κολπικού νατριοουρητικού πεπτιδίου, ενός δείκτη υπερτροφίας της καρδιάς. Τα αποτελέσματα συνηγορούν για τον πιθανό προστατευτικό ρόλο των p38-MAPK, ANP και HSP27 σε καταστάσεις οξειδωτικού στρες στην καρδιά του αμφιβίου *Rana ridibunda*.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από το Εμπειρίκειο Ίδρυμα Αθηνών και τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του ΕΚΠΑ

SIGNAL TRANSDUCTION PATHWAYS AND OXIDATIVE STRESS IN VERTEBRATE HEART

Gaitanaki K.

Dept. of Animal and Human Physiology, School of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis 157 81 Athens

E-mail: cgaitan@biol.uoa.gr

Reactive oxygen radicals (ROS) initiate a variety of intracellular signalling pathways, which may lead to cell death through apoptosis. In particular, the intracellular generation of ROS as a result of oxidative stress during ischaemia or ischaemia/reperfusion in the mammalian heart may be related with various pathological conditions. Among the various intracellular signalling mechanisms, MAPKs are included. In the present study, the effects of oxidative stress on the MAPK signaling pathways was examined. Our experiments, by the use of antibodies specific to the phosphorylated forms of the small heat shock (HSP) proteins showed that H_2O_2 induces strong activation of these proteins. Furthermore, the specific p38-MAPK inhibitor SB203580 (1 μM) abolishes the activation of both p38-MAPK and HSP27 induced by H_2O_2. Other experiments, by using specific molecular techniques also showed that oxidative stress induces a significant increase in the transcription as well as the translation of the atrial natriuretic peptide (ANP) gene, which represents a marker of heart hypertrophy. These results support the suggestion that p38-MAPK has a cardioprotective role during oxidative stress in *R. ridibunda* heart.

This work was supported by grants from the Special Research Account of Athens University and the Empeirikio Foundation of Athens

ΜΕΤΑΓΩΓΗ ΜΗΝΥΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΣΤΟ *Mytilus galloprovincialis*

Γαϊτανάκη Κ., Κεφαλογιάννη Ε., Μαρμάρη Α. και Μπέης Ι.

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Ε.Κ.Π.Α.

Η p38-MAPK θεωρείται μία κατεξοχήν ενεργοποιούμενη από στρεσογόνες συνθήκες κινάση. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού της p38-MAPK από το περιβαλλοντικό στρες, στο μανδύα του θαλάσσιου ασπονδύλου *Mytilus galloprovincialis*. Η ανοξία προκάλεσε ένα διφασικό πρότυπο ενεργοποίησης της p38-MAPK, με μέγιστες τιμές στη 1 ώρα (περίπου 6,8 φορές σε σχέση με το μάρτυρα) και στις 8 ώρες (περίπου 4,9 φορές σε σχέση με το μάρτυρα). Επαναφορά μετά από 15 λεπτά ανοξίας, οδήγησε στην προοδευτική απενεργοποίηση της κινάσης. Η σορβιτόλη (0.5M) προκάλεσε άμεση, έντονη (περίπου 9,2 φορές σε σχέση με το μάρτυρα) και αντιστρεπτή ενεργοποίηση της κινάσης. Μειωμένες τιμές αλατότητας μεταξύ 100% και 60% δεν προκάλεσαν καμία ενεργοποίηση, ενώ σε αλατότητα 50% παρατηρήθηκε σημαντική φωσφορυλίωση της p38-MAPK. Επιπρόσθετα, η υπερτονικότητα (120% θαλασσινό νερό) είχε ως αποτέλεσμα την ασθενέστερη ενεργοποίηση της κινάσης. Το οξειδωτικό στρες (5 μM H_2O_2) επίσης οδήγησε σε ένα διφασικό πρότυπο φωσφορυλίωσης της p38-MAPK, με μέγιστες τιμές μετά από 15 λεπτά (περίπου 8,1 φορές σε σχέση με το μάρτυρα) και 1 ώρα (περίπου 8,0 φορές σε σχέση με το μάρτυρα) επίδρασης αντίστοιχα. Επιπλέον, ο ειδικός αναστολέας της κινάσης SB203580 (1 μM) βρέθηκε ότι αναστέλλει πλήρως την επαγόμενη από το H_2O_2 φωσφορυλίωση της p38-MAPK. Τα παραπάνω αποτελέσματα υποδεικνύουν, για πρώτη φορά σε ένα θαλάσσιο ασπόνδυλο που εκτίθεται σε περιβαλλοντικό στρες ως ακέραιος, ζωντανός οργανισμός, ότι το μονοπάτι της p38-MAPK ενεργοποιείται ειδικά από ποικίλες στρεσογόνες συνθήκες, τις οποίες ο οργανισμός αντιμετωπίζει *in vivo*.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από το Εμπειρίκειο Ίδρυμα Αθηνών και τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του ΕΚΠΑ

SIGNAL TRANSDUCTION PATHWAYS AND ENVIRONMENTAL STRESS IN *Mytilus galloprovincialis*

Gaitanaki Catherine, Erene Kefaloyianni, Athina Marmari and Isidoros Beis

Dept. of Animal and human physiology, School of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis 157 84 Athens Greece

The stimulation of p38-MAPK signal transduction pathway by environmental stress was investigated in the marine bivalve *M. galloprovincialis* mantle muscle. Anoxia induced a biphasic pattern of p38-MAPK phosphorylation, with maximal values attained at 1 hour (6.8-fold) and 8 hours (4.9-fold) respectively. Re-oxygenation followed a 15 min of anoxia resulted in the progressive inactivation of the kinase. 0.5M sorbitol induced the rapid kinase activation (9.2-fold relative to controls) and this effect was reversible. Seawater salinities varying between 100-60% had no effect, whereas a salinity of 50% induced a significant p38-MAPK phosphorylation. Furthermore, hypertonicity (120% seawater) resulted in a moderate activation of the kinase. Oxidative stress (5 μM H_2O_2) also induced a biphasic pattern of p38-MAPK phosphorylation with maximal values attained at 15 min (8.1-fold) and 1 hour (8.0-fold) of treatment respectively. The specific p38-MAPK inhibitor SB203580 (1 μM) abolished p38-MAPK activation induced by H_2O_2. All the above results demonstrate for the first time in a marine invertebrate imposed to environmental stress as an intact, living organism, that the p38-MAPK pathway is specifically activated by various stressful stimuli which this animal can often face and sustain *in vivo*.

This work was supported by the Empeirikio Foundation of Athens and the Special Research Account of Athens University

ΑΝΘΡΩΠΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΕΠΙΣΗΜΑΝΣΕΙΣ ΣΤΟ ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟ ΕΡΓΟ 'ΠΕΡΙ ΑΕΡΩΝ, ΥΔΑΤΩΝ ΚΑΙ ΤΟΠΩΝ'

[1]Γερονικολού Σ., [2]Παππά Ε.

[1]ΚΕΑΕΜ Ακαδημίας Αθηνών, Αναγνωστοπούλου 14, 10673 Αθήνα
[2]ΚΕΕΛΣ Ακαδημίας Αθηνών, Αναγνωστοπούλου 14, 10673
lexis10673@lycos.com

Στην εργασία αυτή παρουσιάζεται το έργο του Ιπποκράτου '*Περί Αέρων Υδάτων Και Τόπων*'. Στο εν λόγω έργο, καταγράφεται για πρώτη φορά επιδημιολογική περιβαλλοντική, ανθρωπολογική και εθνογραφική παρατήρηση και αναδεικνύεται ιατρική πρακτική, αξιοπρόσεκτη για την εποχή.

Στην εργασία γίνεται συσχέτιση με την ομηρική, την προσωκρατική και εν γένει ιπποκρατική κοσμολογική αντίληψη. Γίνεται επίσης επεξεργασία που αφορά την αυθεντικότητα και παράθεση σύντομων βιογραφικών στοιχείων του Ιπποκράτου.

ANTHROPOLOGICAL AND ENVIRONMENTAL NOTES IN THE HIPPOCRATIC WORK: "ABOUT AIRS, WATERS AND PLACES''

[1]Geronikolou S., [2]Pappa H.

[1]RCAAM Athens Academy. [2]RCGLA Athens Academy

e-mail: lexis10673@lycos.com

In this article, the work of Hippocrate's "About air, waters and places'' is presented. In this piece of work, for the first time in the scientific history, epidemiological, environmental, anthropological and ethnographic notification had been subscribed.

A medical practice worth noted -for the period performed – has been shown. Additionally, this article is an attempt to a correlation of the homeric, presocratic and "hippocratic'' cosmological conceptions. An elaboration work concerning the authentity of the piece is performed. Finally, a brief curriculum of Hippocrates is added in order to fulfill the analysis.

ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΒΟΛΗΣ ΗΛΙΑΚΗΣ & ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ- ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Γερονικολού Σ., Πετρόπουλος Β.

Ακαδημία Αθηνών ΚΕΑΕΜ, τηλεομοιότυπο: 210-3631606 Ηλεκτρονική διεύθυνση: lexis10673@lycos.com, vpetrop@academyofathens.gr

Στην παρούσα εργασία γίνεται η παραμετρική συσχέτιση της φυσικής και γεωμαγνητικής ακτινοβολίας του περιβάλλοντος σε σχέση με την υγεία. Με δεδομένο ότι ένα πολύ μεγάλο μέρος της διεθνούς βιβλιογραφίας αναφέρει την ακτινοβολία ως μία από τις σημαντικότερες παραμέτρους διαβίωσης σε σχέση με την υγεία, αναζητήσαμε ορισμένα ειδικά χαρακτηριστικά γνωρίσματα της σχέσης αυτής. Τα αποτελέσματα εξάγονται με την προϋπόθεση ότι ως δείκτης υγείας έχει ληφθεί ο γενικός από κάθ΄αιτία δείκτης θνησιμότητας, και οι δείκτες θνησιμότητας από καρδιαγγειακά και αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια που είναι αντιπροσωπευτικοί της νοσηρότητας.

Οι νόσοι αυτές τόσο στην Ελλάδα όσο και διεθνώς, παρουσιάζουν τις τελευταίες δεκαετίες, μεγάλο δείκτη θνητότητας. Συνεπώς, η επιλογή της θνησιμότητος μας παρέχει ασφαλή στοιχεία νοσηρότητας. Τα καρδιαγγειακά νοσήματα, εξ αιτίας της φυσιολογίας τους, επηρεάζονται από τις μεταβολές της θερμοκρασίας (Γερονικολού et al 1996, Γερονικολού et al 1997), η οποία με την σειρά της επηρεάζεται από την μεταβολή της ηλιακής ακτινοβολίας (Γερονικολού et al 1996, Γερονικολού et al 1997, Petropoulos et al 1991, Γερονικολού 2001). Τα γεωμαγνητικά πεδία επηρεάζουν τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια εξ΄αιτίας της φυσιολογίας της νόσου, και επιβεβαιώνεται στην επεξεργασία της παρούσας εργασίας.

Οι δείκτες που χρησιμοποιήσαμε είναι ο αριθμός των εκλάμψεων και ο αριθμός των ηλιακών κηλίδων καθώς και ο γεωμαγνητικός δείκτης Kp.

Με σκοπό την διερεύνηση των μελετήσαμε την περιοχή του Πειραιά για την πενταετία 1985 έως 1989. Η στατιστική επεξεργασία των χρονοσειρών με πολυ-παραγοντικά μοντέλα έδειξε ενδιαφέρουσα συσχέτιση, όταν ο ρυθμός μεταβολής των υπό μελέτη δεικτών είναι μεταξύ κάποιων ορίων, ενώ, εκτός αυτών η επίπτωση δεν δείχνει να είναι εξαρτημένη.

SOLAR AND GEOMAGNETIC RADIATIONS' EFFECT ON HEALTH-EPIDEMIOLOGICAL DATA ANALYSIS

Geronikolou S., Petropoulos B.

RCAAM Athens Academy, 14thAnagnostopoulou str, 10673 Athens
e-mail: lexis10673@lycos.com, vpetrop@academyofathens.gr
fax: 210-3631606

This work, we are correlating with parametrical methods the natural solar and geomagnetic radiation with health. It is noted, in great many papers in the international bibliography, that radiation is one of the most essential parameters of living in terms of health. We searched for the specific characteristics of this relation. The conclusions are based on the general index of mortality and the indices of mortality of cardiovascular and vascular cerebral strokes which are representative of the morbidity. It is general practice in epidemiology to use mortality data in order to study the incidence of morbidity in specific cases as follows: This comes because these diseases produce great percentage of deaths after their prevalence. So, the choice of mortality produces safe statistical results. The cardiovascular disease, due to the physiology of the illness, is influenced from the temperature (Geronikolou et al 1996, Geronikolou et al 1997), which in her part has been retated to the variation of the solar radiation (Geronikolou et al 1996, Geronikolou et al 1997, Petropoulos et al 1991, Geronikolou 2001). The geomagnetic fields have an effect on the vascular cerebral strokes due to the physiology of the disease. This has been verified in the present work.
The parameters we have correlated are: sunspot number, and the flares' number as well as the geomagnetic index Kp.

We studied the city of Piraeus for the quinquennium of 1985-1989. The time clustering involved multivariate analysis, which has shown interesting correlation, once the rhythm of variation of the indices studied is between specific limits. On the contrary, beyond those limits no correlation has been observed.

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΑΡΑΛΟΓΩΝ ΑΝΟΙΚΤΩΝ ΠΛΑΙΣΙΩΝ ΔΙΑΒΑΣΜΑΤΟΣ ΣΤΟΝ Saccharomyces cerevisiae

[2]Γεωργακόπουλος Τ., [2]Βουτσινά Α., [1]Κουτρούμπας Γ., [2]Τζερμιά Μ., [1]Βακωνάκης Ι., [1]Κότσης Δ., [1]Κουτσοδόντης Γ., [1]Προκόβα Β., [1]Φραγκιαδάκης Γ.Σ., [1,2]Αλεξανδράκη Δ.

[1]Τμήμα Βιολογίας, Παν/μιο Κρήτης- και ΙΤΕ-ΙΜΒΒ[2], Τ.Θ. 1527, Ηράκλειο, GR 71110 Κρήτη

Το γονιδίωμα της ζύμης, αν και σχετικά μικρό, περιέχει μεγάλο αριθμό οικογενειών παράλογων ανοικτών πλαισίων διαβάσματος (ORFs). Στο πρόγραμμα EUROFAN, "συσχέτισης δομής και λειτουργίας ομόλογων πρωτεϊνών", ελέγξαμε στελέχη με απλές και πολλαπλές γονιδιακές ελλείψεις και στελέχη υπερέκφρασης οικογενειών γονιδίων άγνωστης λειτουργίας για την ανεύρεση φαινοτύπων σε ποικίλες συνθήκες καλλιέργειας. Επιπλέον ταυτοποιήσαμε για κάθε ORF, εν δυνάμει αλληλεπιδρώντα πεπτίδια με σάρωση γενωμικής βιβλιοθήκης ζύμης ειδικής για δοκιμασία δύο υβριδίων. Η ανεύρεση πεπτιδίων γνωστής λειτουργίας μας οδήγησε στην εκτέλεση εξειδικευμένων δοκιμασιών που υπέδειξαν πιθανές λειτουργίες. Η οικογένεια *YFR021w/YGR223c/ YPL100w* σχετίζεται με λειτουργίες των μιτοχονδρίων/ υπεροξυσωμάτων και με μονοπάτια που σηματοδοτούνται από τα επίπεδα αμινοξέων. Αυτό συμπεράναμε από αντίστοιχους φαινοτύπους και από την αλληλεπίδραση των Yfr021wp και Ypl100wp με τον μεταγραφικό ενεργοποιητή Rtg3p. Η έλλειψη των δύο ORFs μειώνει την συστατική έκφραση του Rtg3p-ρυμιζόμενου γονιδίου *CIT2* και προκαλεί τυπική ανάδρομη αντίδρασή του σε συνθήκες που απαιτούν λειτουργικά μιτοχόνδρια. Η Yfr021wp αλληλεπιδρά και με την Ptr3p, συστατικό του ανιχνευτή αμινοξέων Ssy1p/Ptr3p. Η έλλειψη *YPL100w* προκαλεί φαινότυπους ανάλογους της *ptr3*Δ. Η έλλειψη του *YGR223c* επηρεάζει την λειτουργία των *YFR021w* και *YPL100w*. Φαινοτυπική ανάλυση των *YNL032w*, *YNL099c*, *YNL056w* και *YDR067c* τα συσχέτησε με σηματοδοτικά μονοπάτια κινασών MAP. Αλληλεπίδραση δύο υβριδίων της φωσφατάσης τυροσίνης Ynl032wp με την Tid3p υπέδειξε σχέσεις με την πυρηνική άτρακτο. Αλληλεπιδράσεις μεταξύ των Ynl032wp, Ynl056wp και Ynl099cp υπονοούν ανταγωνιστική ή συνεργατική λειτουργία των τριων παράλογων πρωτεϊνών. Νέες πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις ταυτοποιήσαμε και με την οικογένεια Esa1p(ακετυλο-τρανσφεράση) / Sas2p/Sas3p.

Σημείωση: παρουσιάστηκε στο 23ο συνέδριο της ΕΕΒΕ στην Χίο (2001).

A FUNCTIONAL ANALYSIS OF PARALOGOUS OPEN READING FRAMES in Saccharomyces cerevisiae

Georgakopoulos T.[2], Voutsina A.[2], Koutroubas G.[1], Tzermia M.[2], Vakonakis I.[1], Kotsis D.[1], Koutsododis G.[1], Prokova V.[1], Fragiadakis G.S.[1] and Alexandraki D.[1,2]

University of Crete-Department of Biology[1] and FORTH-IMBB[2], P.O. Box 1527, Heraklion, 711 10 Crete

The yeast *S. cerevisiae* genome contains a large number of gene families encoding paralogous ORFs in spite of its relatively small size. In the EUROFAN programme looking for "relationships between structural and functional protein homologies" we analyzed selected gene families of unknown function by various phenotypic growth tests of strains bearing single and multiple ORF deletions or ORF over-expression. Additionally, we identified potentially interacting proteins with each family member carrying out two-hybrid screens of a yeast genomic library. Some identified interacting peptides of known function led as to perform specific functional assays and the combined results enabled us to suggest functional links for each ORF. *YFR021w/YGR223c/YPL100w* family is related to mitochondrial / peroxisomal functions and amino-acid signaling pathways. In addition to relevant specific growth phenotypes, both Yfr021wp and Ypl100wp interacted with the transcriptional activator Rtg3p. Both ORF deletions reduced the constitutive expression of the *RTG*-regulated *CIT2* gene and caused typical retrograde response of *CIT2* under conditions requiring functional mitochondria. Ptr3p, a component of the amino acid sensor Ssy1p/Ptr3p, also interacted with Yfr021wp and *ypl100wΔ* exhibited *ptr3Δ*-similar phenotypes. Deletion of *YGR223c* interfered with the function of the other two ORFs. Phenotypic defects of *YNL032w*, *YNL099c*, *YNL056w* and *YDR067c* deletants suggested for all four paralogous ORFs involvement in MAP kinase signal transduction pathways. Two-hybrid interaction of Ynl032wp tyrosine phosphatase with Tid3p implied links to spindle / cytoskeleton. Intrafamily member interactions between Ynl032wp, Ynl056wp (STYX protein) and Ynl099cp suggested competitive or collaborative function of these three proteins. New protein interacting partners were also revealed for the Esa1p(acetyltransferase)/ Sas2p/Sas3p paralogous family.

Note: it was presented in the 23rd meeting held in Chios (2001).

Η ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑΚΗ ΠΟΛΥΠΛΟΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΟΡΓΑΝΩΣΗΣ ΣΤΑ ΜΕΤΑΖΩΑ

Γιανναράκης Ι.Κ.[1], Γ. Ροδάκης[2], Ι. Σούρδης[3] και Λ. Χ. Μαργαρίτης[1]

[1]Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, [2]Τομέας Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστη-μιόπολη 157 84 Αθήνα, [3]Τομέας Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Είναι γενικά παραδεκτό ότι η φαινοτυπική πολυπλοκότητα και η ποικιλομορφία των κυτταρικών τύπων στα μετάζωα, ακολουθεί μια εξελικτικά αύξουσα πορεία. Όμως, παρ' όλο ότι είναι αναμενόμενη η συσχέτιση ανάμεσα στην φαινοτυπική πολυπλοκότητα των οργανισμών και στην πληροφορία που περιέχεται στο γονιδίωμα, οι μέχρι σήμερα έρευνες δεν έχουν δώσει θετική απάντηση. Στηριγμένες σε περιορισμένο όγκο δεδομένων, οι περισσότερες μελέτες, εντόπισαν ασθενή συσχέτιση ανάμεσα στην «εξελικτική θέση» και το μέγεθος του γονιδιώματος (C – value). Η μη αναμενόμενη συμπεριφορά στη συσχέτιση αυτών των παραμέτρων ονομάζεται "παράδοξο της τιμής C" και αποτέλεσε έναυσμα για περαιτέρω έρευνες. Είναι όμως πιθανό να μην υπάρχει «παράδοξο», αλλά να πρόκειται για λανθασμένη συσχέτιση ανάμεσα σε μη σαφώς καθορισμένες πληροφοριακές περιοχές (Ένα αντίστοιχα λαν-θασμένο ερώτημα είναι: πώς συσχετίζεται ο εκφραστικός πλούτος ενός βιβλίου με τον αριθμό σελίδων; - το λογοτεχνικό ανάλογο της τιμής C). Επίσης, είναι πιθανό το «παράδοξο» να οφείλεται στην τεράστια απόσταση από άποψη κλίμακας οργάνωσης που χωρίζει το DNA από τον πλήρη οργανισμό, οπότε απαιτείται η επιχειρούμενη συσχέτιση να λάβει υπόψη της και άλλα ενδιάμεσα επίπεδα.

Σήμερα η ραγδαία αύξηση των διαθέσιμων πληροφοριών για το γονιδίωμα πολλών οργανισμών, και τα νέα ερωτήματα που δημιουργούνται από την μελέτη του πρωτεϊνώματος, δείχνουν την ανάγκη για την εισαγωγή ενός νέου τύπου απεικόνισης των οργανισμών που θα συμπληρώσει τις έννοιες του φαινότυπου και του γονότυπου με τα πληροφοριακά χαρακτηριστικά του επικοινωνιακού βιο-συστήματος που αποτελεί κάθε βιολογική οντότητα. Για συντομία, ονομάζουμε αυτή την απεικόνιση «πληροφοριότυπο» (*infotype*).

Ο πληροφοριότυπος απεικονίζει τα στοιχεία που αναφέρονται στην μετρήσιμη ή/και αλγοριθμικά εκφραζόμενη πληροφορία που περιέχεται στο γονιδίωμα και το πρωτεϊνωμα (πληροφοριακό περιεχόμενο, αριθμός γονιδίων, κατανομή λειτουργικών – μή λειτουργικών περιοχών, γράφοι πρωτεϊνών, δείκτες G+C, R/Y κλπ). Ο προσδιορισμός των στοιχείων του πληροφοριότυπου βασίζεται σε μεθόδους *in silico*, και οι ταχύτατα αναπτυσσόμενες βάσεις δεδομένων γονιδιώματος, επιτρέπουν την εφαρμογή νέων μεθόδων ανάλυσης και συσχέτισης που βασίζονται στην θεωρία πληροφοριών και την συνδυαστική λογική.

THE INFORMATIONAL COMPLEXITY OF CELLULAR ORGANIZATION IN METAZOANS

Giannarakis I.K.[1], G. Rodakis[2], I. Sourdis[3] και L.H. Margaritis[1]

[1]Dep. Of Cell Biology And Biophysics, [2]Dep. Of Molecular Biology, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis 157 84 Athens, [3]Department of Biotechnology, Agricultural University of Athens

It is generally accepted that the phenotypic complexity and multiformity of cellular types in metazoans follow an evolutionary increasing trend. Interestingly there is no positive correlation between phenotypic complexity and the informational content of the genome. Based on a limited amount of data, current research shows a weak correlation between "evolutionary position" and the size of the genome (C-value). This non-expected result has been named "C- value paradox" and has initiated further research. There is a possibility that behind this "paradox" lays the false assumption of correlation between non-clearly defined informational domains (A similarly false question could be: What is the correlation between the expressional richness of a book and its pagecount – the literary proportion to C-value?) Yet it is also possible that the "paradox" has to do with the great distance in the organizational levels between DNA and the organism as a whole, showing the need to include other levels of transformation in the attempted correlation.

Currently, the rapid increase in available information on the genome of many organisms as well as the new data and questions that arise from the field of proteomics, show the need for the introduction of a new type of representation that will supplement the context of phenotype and genotype with the informational attributes of the communication biosystem that corresponds to every biological entity. For practical reasons we call this representation "*infotype*". The infotype includes all measurable and/or algorithmically representable attributes of the genome and proteome (informational content, number of genes, distribution of functional and non-functional domains, protein graphs, G+C and R/Y indices etc) The determination and synthesis of *infotype* attributes is based in methods *in silico* and it provides the frame for the implementation of new correlation and analysis methods, based on information theory and combinatorial logic.

Κ.Α. ΚΑΝΤΑΡΤΖΗΣ ΚΑΙ Π.Κ. ΚΑΝΤΑΡΤΖΗΣ, ΔΥΟ ΕΡΕΥΝΗΤΕΣ ΤΗΣ ΛΕΣΒΙΑΚΗΣ ΧΛΩΡΙΔΑΣ ΤΟ 19ο ΑΙΩΝΑ

Γιαννίτσαρος Α., Μπαζός Ι.

Εργαστήριο Συστηματικής Βοτανικής, Τομέας Οικολογίας και Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστημιόπολη, 157 84 Αθήνα

Η Λέσβος είναι μία από τις περιοχές της Ελλάδας που κίνησαν το ενδιαφέρον των ερευνητών της χλωρίδας τους από πολύ ενωρίς. Σημαντικό είναι ότι το σχετικά πρώιμο αυτό ενδιαφέρον εκδηλώθηκε από δύο λέσβιους την καταγωγή ερευνητές, οι οποίοι έδρασαν εδώ κατά το τέλος του 19ου αιώνα. Πρόκειται για τον Κωνσταντίνο Α. Κανταρτζή (C.A. Candargy, όπως υπέγραφε τα έργα του) και τον πρωτότοκο γιο του Παλαιολόγο Κ. Κανταρτζή (P.C. Candargy).

Ο Κ.Α. Κανταρτζής (1826; - ;) ήταν γιατρός το επάγγελμα, ανήσυχος και πολυπράγμων επιστήμων, ο οποίος παράλληλα με την ιατρική ασχολήθηκε με όλες σχεδόν τις φυσιογνωστικές επιστήμες ερευνώντας τη φύση της Λέσβου (φυτά, ζώα, πετρώματα, ορυκτά, μετεωρολογικά φαινόμενα, κλπ.). Ο Π.Κ. Κανταρτζής (1870 - ;) βοτανικός, σπούδασε στη Ζυρίχη και τη Γαλλία και συνέχισε την έρευνα της λεσβιακής χλωρίδας, την οποία είχε ξεκινήσει ο πατέρας του. Η ζωή και το έργο των δύο αυτών επιστημόνων μέχρι το 1989 ήταν ελάχιστα γνωστά. Το έτος αυτό ήρθαν στο φως αρκετά νέα στοιχεία αλλά παραμένουν ακόμη πολλά σημεία αδιευκρίνιστα και αινιγματικά.

Η ανακοίνωση αυτή έχει σκοπό να συνοψίσει τα μέχρι τώρα υπάρχοντα στοιχεία αλλά και να συμπληρώσει ή να διορθώσει ορισμένα από αυτά που έχουν δοθεί λανθασμένα από προηγούμενους ερευνητές.

Με τον Κ.Α. Κανταρτζή έχει ασχοληθεί ο Π. Βλάχος ("Ο ιατρός Κ.Α. Κανταρτζής και τα χειρόγραφά του", Λεσβιακά 12: 92-127, 1989). Με τη ζωή και το έργο των δύο λεσβίων επιστημόνων έχουν επίσης ασχοληθεί οι δανοί S. Diemar και O. Seberg, οι οποίοι σε άρθρο τους ("Biografical and bibliographical notes on C.A. and P.C. Candargy", Taxon 38(4): 569-575, 1989) δίνουν αρκετές πληροφορίες, όχι όμως πάντα ορθές.

Ο Κ.Α. Κανταρτζής δημοσίευσε το 1889 στη Ζυρίχη το βιβλίο του "Flore de l' île de Lesbos. Plantes sauvages et cultivées" και από το 1890 έως το 1892 μία σειρά συμπληρωμάτων στο περιοδικό "Revue Medico-Pharmaceutique, Constantinople" με το γενικό τίτλο "Flore de l' île de Lesbos (Mételin)". Τα έργα αυτά ήταν άγνωστα στον Κ.Η. Rechinger, συγγραφέα του μεγάλου έργου "Flora Aegaea" (1943), ο οποίος δεν αναφέρεται σε αυτά. Περιέχουν πολλές ενδιαφέρουσες πληροφορίες για φυτά της Λέσβου, αυτοφυή και καλλιεργούμενα.

Ο Π.Κ. Κανταρτζής δημοσίευσε αρκετές εργασίες για τη χλωρίδα και τη βλάστηση της Λέσβου συνεχίζοντας το έργο του πατέρα του. Οι δυο τους μαζί με το δευτερότοκο γιο του Κ.Α. Κανταρτζή, Αντώνιο (1873-1950) πραγματοποίησαν αρκετές συλλογές φυτικών δειγμάτων από τη Λέσβο πάνω στα οποία στηρίχθηκαν οι δημοσιεύσεις τους. Το ερμπάριο όμως που κατάρτισαν δυστυχώς έχει χαθεί. Ο Π.Κ. Κανταρτζής βοήθησε τον πατέρα του και στον προσδιορισμό των φυτών. Εξαιρετικά ενδιαφέρον και σημαντικό είναι το γεγονός ότι αυτός έκανε, όπως αναφέρει, 1500 έγχρωμα σχέδια αυτοφυών και καλλιεργούμενων φυτών της Λέσβου διαφόρων ομάδων (σπερματόφυτα, πτεριδόφυτα, βρυόφυτα, μύκητες και λειχήνες, φύκη θαλάσσια και γλυκέων υδάτων). Η εργασία αυτή πραγματοποιήθηκε από το 1882 έως το 1886, δηλ. όταν ο Παλαιολόγος ήταν μόλις 12-16 ετών. Δυστυχώς από τα σχέδια αυτά ελάχιστα έχουν διασωθεί. Μερικά σήμερα αποτελούν εκθέματα του μικρού Βοτανικού Μουσείου του Εθνικού Κήπου της Αθήνας.

Ο Π.Κ. Κανταρτζής εργάσθηκε, μετά τις σπουδές του στη Γαλλία, για ένα μικρό διάστημα στο Πανεπιστήμιο Αθηνών (1900-1901;). Αργότερα τα ενδιαφέροντά του άλλαξαν και ασχολήθηκε με άλλα θέματα πέρα από τη χλωρίδα και τα φυτά. Δυστυχώς μετά το 1905 χάνονται τα ίχνη του και δεν είναι γνωστά το έτος και ο τόπος του θανάτου του.

C.A. CANDARGY AND P.C. CANDARGY, TWO RESEARCHERS OF THE FLORA OF LESVOS IN THE 19th CENTURY

Artemios Yannitsaros and Ioannis Bazos

Institute of Systematic Botany, Section of Ecology and Systematics, Department of Biology, Panepistimiopolis, 157 84 Athens, Greece

Information on the life and the scientific activities of C.A. Candargy and P.C. Candargy, researchers of the flora of Lesvos (East Aegean, Greece) in the 19th century, is given. More data will be published in the near future.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ TNFα ΜΕ ΛΙΠΙΔΙΚΟΥΣ ΜΕΣΟΛΑΒΗΤΕΣ ΣΕ ΠΡΟΛΙΠΟΚΥΤΤΑΡΑ

Γκουντοπούλου Α., Καραλιώτα Σ., Λεονταρίτης Γ., Γαλανοπούλου Ν., Μαυρή Μ.

Τμήμα Χημείας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 157 71, Αθήνα

Η κυτοκίνη TNF*α* έχει σημαντικό ρυθμιστικό ρόλο στο μεταβολισμό αλλά και στη διαφοροποίηση των λιποκυττάρων. Παράλληλα, ο TNF*α* αλληλεπιδρά με λιπιδικούς μεσολαβητές σε πολλά είδη κυττάρων. Έτσι, ο TNF*α* αλληλεπιδρά με τον PAF σε κύτταρα του ανοσολογικού συστήματος, ενώ στο λιπώδη ιστό επιδρά στο μεταβολισμό των φωσφοϊνοσιτιδίων διεγείροντας τη δραστικότητα της PI3K. Η ομάδα μας σε προηγούμενες μελέτες είχε διαπιστώσει τη δυνατότητα των λιποκυττάρων να συνθέτουν και να εκκρίνουν PAF, καθώς και να εκφράζουν μία ενδοκυτταρική PAF-ακετυλοϋδρολάση (PAF-AH). Επίσης είχε διαπιστώσει ότι ο TNF*α* διεγείρει τον μεταβολισμό του λυσο-PAF σε PAF στα ώριμα λιποκύτταρα .

Η παρούσα εργασία μελετά την αλληλεπίδραση του TNF*α* με τον PAF και με το μεταβολισμό των φωσφοϊνοσιτίδιων στα προλιποκύτταρα, στα πλαίσια ενός γενικότερου προβληματισμού για την εξέλιξη των μηχανισμών μεταγωγής σήματος που χρησιμοποιεί ο TNF*α* κατά τη διαφοροποίηση των λιποκυττάρων.

Για τον σκοπό αυτό απομονώθηκαν προλιποκύτταρα από τον επιδιδυμικό λιπώδη ιστό αρουραίου τύπου Wistar και καλλιεργήθηκαν σε DMEM που περιείχε 10% FBS, μέχρι την κατάσταση συμβολής. Για τη μελέτη του μεταβολισμού του λυσο-PAF σε PAF έγινε δίωρη επώαση με [^{3}H]λυσο-PAF και μετά την απομάκρυνση της περίσσειας ακολούθησε τρίωρη διέγερση με TNF*α*. Για τον προσδιορισμό της δραστικότητας PAF-AH έγινε απ' ευθείας τρίωρη διέγερση με TNF*α*. Τα πειράματα έγιναν παρουσία ή απουσία βορτμαννίνης ενός εξειδικευμένου αναστολέα της PI3K.

Παρατηρήθηκε ότι στα προλιποκύτταρα, αντίθετα με τα ώριμα λιποκύτταρα, ο TNF*α* δεν διεγείρει το μεταβολισμό του λυσο-PAF σε PAF παρά μόνο παρουσία βορτμαννίνης. Επίσης ο TNF*α* φαίνεται να αυξάνει τη δραστικότητα της PAF-AH των προλιποκυττάρων, η επίδραση του όμως αυτή αναστέλλεται από τη βορτμαννίνη. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι και στα προλιποκύτταρα υπάρχει αλληλεπίδραση του TNF-α με τον PAF, στην οποία πιθανόν εμπλέκεται και η PI3K.

STUDY OF THE INTERACTION BETWEEN TNF*a* AND LIPID MEDIATORS IN PREADIPOCYTES

Gountopoulou A., Karaliota S., Leondaritis G., Galanopoulou D., Mavri M.

University of Athens, Department of Chemistry, Zografou 15771 Athens, Greece

TNF*a*, a multifunctional cytokine, plays an essential regulatory role in the metabolism and differentiation of adipocytes. TNF*a* interacts with lipid mediators in many cell types. Thus, TNF*a* interacts with PAF in cells of the immune system while in adipose tissue TNF*a* is involved in the metabolism of phosphoinositides stimulating the activity of PI3K. In previous studies our team has established the ability of adipocytes to synthesize and release PAF and also to express an intracellular PAF-acetylhydrolase (PAF-AH). It was also shown that TNF*a* stimulates the metabolism of lyso-PAF into PAF in mature adipocytes.

The present study investigates the interaction of TNF*a* with PAF, as well as, with the metabolism of phosphoinositides in preadipocytes, as a part of a wider attempt to elucidate the evolution of the signal transduction pathways that are utilized by TNF*a* during adipocyte differentiation.

For this purpose, preadipocytes were isolated from Wistar rat epididymal fat pads and maintained in DMEM containing 10% FBS until they reached confluence. In order to study the metabolism of lyso-PAF into PAF the cells were incubated with [^{3}H]lyso-PAF for 2 hours and after aspiration of the abundance, they were incubated with TNF*a* for 3 hours. For the determination of PAF-AH activity, the cells were incubated directly with TNF*a* for 3 hours. The experiments were carried out in the presence or absence of wortmannin, a specific inhibitor of PI3K in animal cells.

We demonstrate that in preadipocytes, in contrast to mature adipocytes, TNF*a* stimulates the metabolism of lyso-PAF into PAF only in the presence of wortmannin. TNF*a* also stimulates the activity of PAF-AH but this stimulation is inhibited by wortmannin. Our results suggest that TNF*a* interacts with PAF in preadipocytes possibly through a pathway which involves PI3K.

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΣΤΑ ΦΥΤΑ. ΠΑΡΟΝ ΚΑΙ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ ΣΤΗΝ ΕΠΟΧΗ ΤΗΣ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

Χρήστος Κ. Γούλας

Εργαστήριο Γενετικής Βελτίωσης Φυτών, Σχολή Γεωπονίας, Τμήμα Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος Παν/μίου Θεσσαλίας

Οι ποικιλίες της σύγχρονης γεωργικής πραγματικότητας, αλλά και οι τοπικές παραδοσιακές, είναι προϊόντα γενετικής τροποποίησης Η γενετική τροποποίηση ως εξελεγκτική (φυσική επιλογή) ή/και εμπειρική ανθρώπινη παρέμβαση (φαινοτυπική επιλογή), δημιούργησε τις τοπικές ποικιλίες της παραδοσιακής γεωργίας, και ως ερευνητική δραστηριότητα γενετικής βελτίωσης ή/και γενετικής μηχανικής τις ποικιλίες της σύγχρονης γεωργικής πραγματικότητας.

Ως κλασική μεθοδολογία βελτίωσης η γενετική τροποποίηση γίνεται εφικτή με παρέμβαση στο συνολικό γένωμα των φυτών και χειρισμό των γονιδίων μέσω των γαμετών (φυλετική αναπαραγωγή) αξιοποιώντας κυρίως την κάθετη μεταφορά γενετικού υλικού (ενδοειδική) ή/και την οριζόντια (ευρείες διειδικές και διγενικές δισταυρώσεις), με τελικό αποτέλεσμα μια "κλασσική" ποικιλία. Ως μεθοδολογία γενετικής μηχανικής κατ' αρχήν αξιοποιεί την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA και καθιστά εφικτή την ελεύθερη οριζόντια μεταφορά γονιδίων στα φυτά χωρίς φυλετικούς περιορισμούς είδους, γένους και λοιπών ταξινομικών επιπέδων ζωής, με τελικό αποτέλεσμα μια "διαγονιδιακή" ποικιλία αντί του αδόκιμου όρου "γενετικά τροποποιημένη ή μεταλλαγμένη" που χρησιμοποιήται. Συζητείται η κλασσική βελτιωτική μεθοδολογία της επαναδιασταύρωσης ως η πρώτη και απλούστερη διαδικασία γενετικής τροποποίησης ποιοτικών χαρακτηριστικών και τα κλασσικά σχήματα επαναλαμβανόμενης επιλογής ως διαδικασίες γενετικής τροποποίησης ποσοτικών χαρακτηριστικών.

Παρουσιάζεται η μεθοδολογία της γενετικής μηχανικής ως δυνατότητα γενετικής τροποποίησης με ελεύθερη, κάθετη ή οριζόντια, μεταφορά γονιδίων και συζητείται η προοπτική ενσωμάτωσης της στην κλασσική μεθοδολογία επαναδιασταύρωσης ή επιλογής με την βοήθεια μοριακών δεικτών (MAB και MAS) και τη δημιουργία νέων γενοτύπων (genotype building)

PLANT GENETIC MODIFICATION: PRESENT AND PROSPECTS IN THE ERA OF BIOTECHNOLOGY

Christos Goulas

Plant Breeding and Genetics Lab, School of Agriculture Faculty Crop Production and Agricultural Environment, Univ. of Thessaly

Modern cultivated varieties and/or local land races used in cropping have resulted from continuos genetic modification. Natural selection (domestication) and/or human empirical selection resulted in the development of the local landraces whereas the plant breeding research effort either as classical methodology and/or as genetic engineering in developing the modern varieties, classical or transgenic respectively.

Classical plant breeding manipulates genes through gamets capitalizing mainly on vertical gene flow (intraspesific hybridization) and/or horizontal, as well (interspecific and intergeneric, wide hybridization). Genetic engineering manipulates single genes through recombinant DNA technology and capitalizes mainly on the free horizontal gene flow. Classical back cross methodology is discussed as the simplest genetic modification procedure for qualitative traits and as succesful examples the short stature wheat varieties, the mongerm sugarbeets ones and the transformation maize and sugarbeets fertile inbreds into cytoplasmic male steriles counterparts are presented. The inbred-hybrid variety development methods are discused as examples of genetic modification for quantitative traits along with the chromosome engineering (chromosome ploidy level manipulation) maize and sugarbeet hybrid varieties, triticale, and gene horizontal transfer into wheat, potato, alfalfa and tomato are presented as some successful application. Genetic engineering methods either as plant genotyping and/or genetic transformation using transgenes are discussed and their application in developing transgenic Bt and GR maize, cotton and soybean varieties presented. The challenge of integrated genetic modification methodology which will be more effective in developing desired varieties is discussed.

Molecular assisted back crossing (MAB) and molecular assisted selection (MAS) are presented as successful applications of such approach along with the prospect of genotype building. The development of new varieties cropped for novel non-food products is also discussed.

ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΑ ΣΧΕΔΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΑΛΥΚΩΝ

Δαλάκα Α., Dahm Η., Πετανίδου Θ.

Τμήμα Γεωγραφίας, Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Μυτιλήνη

Οι αλυκές, εκτός από χώροι παραγωγής αλατιού, αποτελούν ημιτεχνητά ιδιόρρυθμα υγροτοπικά οικοσυστήματα, τα οποία χαρακτηρίζονται από διαρκή εναλλαγή των οικολογικών συνθηκών κατά τη διάρκεια του έτους. Η ιδιορρυθμία τους συνίσταται (α) στη μεγάλη διαβάθμιση συνθηκών (κυρίως αλατότητας αλλά και θερμοκρασίας νερού) σε όλο το εύρος των λεκανών εξάτμισης, (β) στην παρουσία ακραίων περιβαλλόντων ζωής (εξαιρετικά υψηλή συγκέντρωση αλάτων) και (γ) στην έντονη εποχιακότητα των αβιοτικών συνθηκών (π.χ. αυξομείωση της στάθμης του νερού αναλόγως της φάσης παραγωγής). Οι ιδιαιτερότητες ποικίλουν, επίσης, και εξαιτίας της ποικιλίας των παραμέτρων που χαρακτηρίζουν μία αλυκή (π.χ. απόσταση από τη θάλασσα, έκταση, υπόστρωμα, γειτνίαση με ή ένταξη σε ευρύτερους υγροτόπους, χρήσεις γης στις γειτονικές περιοχές κ.λπ.). Συνεπώς, η οικολογική διαχείριση των αλυκών, εκτός από την ίδια την παραγωγή αλατιού, θα πρέπει να λαμβάνει υπόψη σύνολο παραγόντων, διαφοροποιούμενων στο χρόνο και διαφορετικών κάθε φορά, ανάλογα με την περιοχή και την περίπτωση.

Στα πλαίσια του ευρωπαϊκού έργου ALAS (ενός δικτύου τεσσάρων περιοχών σε Ελλάδα, Πορτογαλία, Σλοβενία και Βουλγαρία), στόχος του οποίου ήταν να υποστηρίξει τη διαχείριση και διατήρηση της πολιτιστικής και φυσικής κληρονομιάς των αλυκών, έγινε προσπάθεια ανάπτυξης διαχειριστικών σχεδίων για αλυκές. Η μελέτη κατέδειξε ότι η πλέον καθοριστική δραστηριότητα για τη διατήρηση, προστασία και αειφορική χρήση των αλυκών είναι η διατήρηση της παραγωγικής διαδικασίας. Σημαντικοί στόχοι της διαχείρισης είναι η διατήρηση των υποδομών (κυρίως των παλαιότερων, που συνδυάζουν αξίες πολιτισμικές και οικολογικές), παράλληλα με εκείνη των ενδιαιτημάτων, εστιάζοντας στην προστασία ειδών, προώθηση παραδοσιακής παραγωγής αλατιού, οικοτουρισμό, αναλόγως των προτεραιοτήτων του σχεδίου διαχείρισης. Αν το διαχειριστικό σχέδιο προβλέπει άνοιγμα της αλυκής στο κοινό, θα πρέπει να σχεδιάζεται σωστά η κυκλοφορία των επισκεπτών, στο χρόνο και στο χώρο. Τέλος, η παρακολούθηση της εφαρμογής των προτεινόμενων μέτρων είναι απαραίτητη μετά το πέρας του σχεδιασμού.

ECOLOGICAL MANAGEMENT PLANS IN SALINAS

Dalaka A., Dahm H., Petanidou Th.

Department of Geography, University of the Aegean, Mytilene

Salinas are semi-artificial idiosyncratic wetland ecosystems, experiencing continuous changes of ecological conditions along a year. Their particularity is based on (a) the complex gradient of environmental conditions across a variety of saltpans in a salina (mainly brine salinity as well as temperature), (b) the existence of extreme environments for life (e.g. hypersaline conditions) and (c) the intense seasonality of abiotic conditions (e.g. fluctuating water level, according to the different stages of salt-making). These particularities vary also according to the conditions that may differ between salinas (distance from the sea, surface area, substrate, land use in neighbouring areas such as wetlands etc.). For all these reasons, ecological management plans in salinas should take into account factors other than mere salt production. Such factors may vary with time and site depending on the area and the particular salina case.

In the framework of the project ALAS, a network of four sites (in Greece, Portugal, Slovenia and Bulgaria) aiming at supporting the maintenance and management of cultural and natural heritage of salinas, we tried to develop guidelines for ecological management plans of these particular wetland areas. Our studies showed that the remedy most determining for the conservation and wise use of salinas is active salt-making. Important management targets are the maintenance of infrastructure (mainly old, with high cultural value, probably also of high ecological value) along with habitat conservation encompassing species protection, traditional salt production, ecotourism etc. in conformity with the priorities of the management plan. In the case a management plan foresees public access to a salina, then admission should be well planned so that disturbance effects are reduced. A final, very important step of a management plan is monitoring its effectiveness after a period of implementation.

Η ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΑΠΟΚΑΡΒΟΞΥΛΑΣΗΣ ΤΗΣ ΟΡΝΙΘΙΝΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΠΟΚΑΡΒΟΞΥΛΑΣΗΣ ΤΗΣ ΑΡΓΙΝΙΝΗΣ ΣΕ ΝΕΑΡΑ ΦΥΤΑ ΣΟΓΙΑΣ

Δελής Κ., Αϊβαλάκης Γ., Δήμου Μ., Φλεμετάκης Ε., Efrose R., Βενιεράκη Α., Δροσόπουλος Ι., Κατινάκης Π.

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Ιερά οδός 75, 11855 Βοτανικός, Αθήνα

Οι πολυαμίνες (ΠΑ), θετικά φορτισμένες αλειφατικές ενώσεις θεωρούνται απαραίτητες για τη ζωή των φυτών. Σε αντίθεση με τα ζώα όπου η βιοσύνθεση της Put (πουτρεσκίνης) πραγματοποιείται μόνο απευθείας από την ορνιθίνη, στα περισσότερα ανώτερα φυτά η βιοσύνθεση πραγματοποιείται μέσω δύο εναλλακτικών μεταβολικών οδών, είτε από την ορνιθίνη μέσω της δράσης του ενζύμου της ODC είτε – μέσω μιας πιο πολύπλοκης διαδικασίας – από την αργινίνη με τη δράση του ενζύμου της ADC. Στην παρούσα εργασία χαρακτηρίστηκαν δύο διακριτοί κλώνοι της ODC της σόγιας (*Gm*ODC1 και *Gm*ODC2) και ένας της ADC (*Gm*ADC). Τόσο οι κλώνοι της ODC όσο και ο κλώνος της ADC παρουσίασαν υψηλά ποσοστά ομοιότητας, τόσο σε νουκλεοτιδικό, όσο και σε αμινοξικό επίπεδο με χαρακτηρισμένους κλώνους και αμινοξικές ακολουθίες ήδη μελετημένων φυτών. Η μελέτη της έκφρασης των γονιδίων της βιοσύνθεσης των ΠΑ σε διαφορετικούς ιστούς του φυτού της σόγιας με την ημιποσοτική μέθοδο RT-PCR έδειξε παρόμοιο πρότυπο έκφρασης μεταξύ των γονιδίων *Gm*ODC1 και *Gm*ODC2 και διαφορετικό μεταξύ των *Gm*ODC1,2 και *Gm*ADC. Ο εντοπισμός των μεταγραφημάτων του γονιδίου *Gm*ADC, που μελετήθηκε με *in situ* υβριδισμό σε ρίζες σόγιας, έδειξε την παρουσία τους κυρίως σε ιστούς των οποίων τα κύτταρα διογκώνονται, ενώ δεν ανιχνεύθηκε σήμα από μεριστωματικούς ιστούς. Τα αποτελέσματα του *in situ* υβριδισμού αλλά και το γεγονός ότι τα μέγιστα επίπεδα μεταγραφημάτων των γονιδίων *Gm*ODC1,2 και *Gm*ADC ανιχνεύθηκαν και στο υποκοτύλιο (όργανο στο όποιο παρατηρείται διόγκωση των κυττάρων και πολύ μικρός αριθμός κυτταροδιαιρέσεων) οδηγεί στο συμπέρασμα ότι και τα δύο ένζυμα (ADC, ODC) εμπλέκονται στην διόγκωση των κυττάρων.

EXPRESSION OF GENES CODING FOR ORNITHINE AND ARGININE DECARBOXYLASES IN YOUNG SOYBEAN SEEDLINGS

Delis C., Aivalakis G., Dimou M., Flemetakis E., Efrose R., Venieraki A., Drosopoulos J., Katinakis P.

Agricultural University of Athens, Dept. of Agricultural Biotechnology, Iera Odos 75, 11855 Botanikos, Athens

Polyamines are aliphatic cations with multiple functions, seem to be essential for plants' life. Unlike other eukaryotes, which synthesize polyamines only from ornithine, plants possess an additional pathway utilizing arginine as precursor. The first pathway is initiated by ornithine decarboxylase enzyme (ODC) while the second by arginine decarboxylase (ADC). In this study we report the characterization of two *Glycine max* ODCs (*Gm*ODC1 and *Gm*ODC2) and one ADC (*Gm*ADC) cDNA clones, highly homologous to previously characterized ODCs and ADCs from other plant species. Expression analysis using semi-quantitative RT-PCR showed a similar pattern for *Gm*ODC1 and *Gm*ODC2 transcripts while a different pattern was apparent between *Gm*ADC and *Gm*ODC1,2 transcripts. In root tips, the spatial distribution of *Gm*ADC transcripts revealed expression of this gene only in expanded cells and not in meristems. *In situ* hybridization data and the fact that maximum level for both *Gm*ODC1,2 and *Gm*ADC transcripts, was detected in hypocotyls (organs characterized by a very low level of cell division) led us to the suggestion that both enzymes are involved mainly in cell expansion.

ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΓΑΙΟΣΚΩΛΗΚΑ *Octodrillus complanatus*(ΟΙΚ. LUMBRICIDAE). ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΟΥ ΚΟΛΛΑΓΟΝΟΥ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΤΟΥ

[1]Δελλαπόρτα Λ., [2]Βαβουλίδου Ε.

[1]Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπ/πολη.
[2]Εδαφολογικό Ινστιτούτο Αθηνών, Σ. Βενιζέλου 1, Λυκόβρυση 14123

Ο γαιοσκώληκας *Octodrillus complanatus* ανήκει στην οικογένεια Lumbricidae και αποτελεί το μεγαλύτερο σε μέγεθος είδος γαιοσκωλήκων. Απαντάται ευρέως στον Ελλαδικό χώρο και μπορεί να χρησιμοποιείται ως βιοδείκτης σε οικοτοξικολογικές και άλλες μελέτες. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το κολλαγόνο του γαιοσκώληκα αφού σύμφωνα με μελέτες, το κολλαγόνο αυτό παρουσιάζει ομοιότητες με το κολλαγόνο των σπονδυλοζώων και των θηλαστικών. Βασικός σκοπός της εργασίας αυτής είναι αφενός η ιστολογική μελέτη του γαιοσκώληκα και αφετέρου η μελέτη της κατανομής του κολλαγόνου στους ιστούς του.

Η συλλογή γαιοσκωλήκων έγινε σε περιοχές τις Βοιωτίας και τα ζώα μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο για τη διεξαγωγή των πειραμάτων.

Η ιστολογική μελέτη έγινε σε τομές παραφίνης με χρώση αιματοξυλίνης – ηωσίνης. Το κολλαγόνο μελετήθηκε (ιστολογική κατανομή) εφαρμόζοντας τις κατάλληλες ιστοχημικές τεχνικές όπως CAB και trichrom masson. Ακολούθησε παρατήρηση και μελέτη στο φωτονικό μικροσκόπιο και τέλος φωτογράφηση.

Από την ιστολογική μελέτη έγινε περιγραφή των ιστών και οργάνων του παραπάνω είδους. Μελετήθηκαν αναλυτικά η επιδερμίδα, το πεπτικό σύστημα, το νευρικό, το απεκκριτικό, το κυκλοφορικό και τέλος το αναπαραγωγικό σύστημα του γαιοσκώληκα. Εν συνεχεία και σύμφωνα με τα αποτελέσματα των ιστοχημικών μελετών, κολλαγόνο βρέθηκε στην εφυμενίδα και στον συνδετικό ιστό των εσωτερικών οργάνων του γαιοσκώληκα. Η μεγαλύτερη ποσότητα κολλαγόνου παρατηρήθηκε στην εφυμενίδα, στους μυς κάτω από την επιδερμίδα και στο νευρικό ιστό του παραπάνω είδους.

HISTOLOGICAL STUDY OF THE EARTHWORM *Octodrillus complanatus* AND COLLAGEN DISTRIBUTION IN ITS TISSUES

[1]Dellaporta L., [2]Vavoulidou E.

[1]National Kapodistrian University of Athens, Faculity of Biology Department of Cell Biology &Biophysics, [2]Athens Institute of Soil Science, 1 S.Venizelou str., 141 23 Likovrisi

The earthworm *Octodrillus complanatus (*Lumbricidae) is the major of all earthworm species. It is widespread in the Hellenic territory and can be used as a bioindicator in ecotoxicological tests. According to previous studies the collagen of that earthworm is similar to the vertebrate and mammalian one. The main objective of this project is the O. *complanatus* histological study and the determination of the collagen distribution in its tissues.

The histological study was carried out via the hematoxylin - eosin stain in paraffin sections. The distribution of collagen was examined by histochemical techniques: CAB and Trichrom masson. The sections after staining were examined by light microscopy and the internal organs of the earthworm (alimentary canal, nervous, excretory, circulatory and reproductive systems) were described.

According to the above results and the histological examination of the cuticle of the earthworm and the connective tissue of its internal organs, most of the collagen was detected in the cuticle, in the muscles under the epidermis and in the nervous system.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΒΙΟΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗΣ ΑΛΟΥΜΙΝΙΟΥ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΤΟΥ ΓΑΙΟΣΚΩΛΗΚΑ *Octodrillus complanatus*

[1]Δελλαπόρτα Λ., [2]Βαβουλίδου Ε.

[1]Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπ/πολη.
[2]Εδαφολογικό Ινστιτούτο Αθηνών, Σ. Βενιζέλου 1, Λυκόβρυση 14123

Ο γαιοσκώληκας *Octodrillus complanatus* είναι είδος που απαντάται ευρύτατα στον ελλαδικό χώρο. Σύμφωνα με διάφορες μελέτες μπορεί να χρησιμοποιείται ως βιοδείκτης ρύπανσης σε οιλοτοξικολογικές μελέτες καθώς έχει αποδειχτεί ότι συσσωρεύει τοξικές ουσίες περισσότερο ίσως από όλα τα άλλα είδη των εδαφικών οικοσυστημάτων. Σκοπός της εργασίας αυτής είναι μελέτη της βιοσυσσώρευσης του αλουμινίου στους ιστούς του παραπάνω είδους.

Η συλλογή γαιοσκωλήκων έγινε σε περιοχές της Βοιωτίας και τα ζώα μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο για τη διεξαγωγή των πειραμάτων. Οι γαιοσκώληκες χωρίστηκαν σε 6 ομάδες και επωάστηκαν, για διάστημα 8 εβδομάδων, σε δοχεία με κατάλληλο εδαφικό υπόστρωμα διαφόρων συγκεντρώσεων αλουμινίου (Al) (0, 10, 100, 1000, 2000, 4000 mg Al/kg χώματος). Ακολούθησε τέφρωση των ζώων και ο ποσοτικός προσδιορισμός του αλουμινίου στους ιστούς τους έγινε με τη μέθοδο της ατομικής απορρόφησης.

Το εδαφικό υπόστρωμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν αργιλώδες, μέτρια όξινο και πλούσια εφοδιασμένο σε οργανική ύλη.

Οι μέσες τιμές των συγκεντρώσεων του αλουμινίου που παρατηρήθηκαν ήταν 0,337 ppm Al στους μάρτυρες και 0,404, 0,308, 0,379 και 0, 345 ppm στις συγκεντρώσεις των 10, 100, 1000, 2000 αντίστοιχα. Στην υψηλότερη συγκέντρωση αλουμινίου στο έδαφος (4000 mg/kg) μετρήθηκε μια μεγαλύτερη μέση τιμή (0,445 ppm) του αλουμινίου στους ιστούς των ζώων.

Σύμφωνα με τα παραπάνω αποτελέσματα δεν διαπιστώθηκε σημαντική μεταβολή της συγκέντρωσης του αλουμινίου στους ιστούς των ζώων σε σχέση με την αύξηση των δόσεων του αλουμινίου στο έδαφος. Στην υψηλότερη μόνο συγκέντρωση (4000 mg Al/Kg εδάφους) παρατηρήθηκε μια σχετικά μεγαλύτερη απορρόφηση αλουμινίου.

STUDY OF BIOACCUMULATION OF ALUMINUM (Al) IN THE *Octodrilus complanatus* TISSUES (FAMILY LUMBRICIDAE)

[1]Dellaporta L., [2]Vavoulidou E.

[1]Department of Cell Biology &Biophysics, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, [2]Athens Institute of Soil Science, 1 S. Venizelou str., 141 23 Likovrisi

The earthworm *Octadrillus complanatus* (Lumbricidae family) is widespread in the Hellenic territory and it can be used in many ecotoxicological tests as a bioindicator. According to previous studies earthworms show the greatest rate of metals accumulation among all other species of terrestrial ecosystems. The main objective of this project is to study the accumulation of aluminum in the tissues of the *Octadrillus complanatus.*

Earthworms have been collected in Viotia and transferred to the laboratory for the conduct of experiments. The earthworms were separated into 6 groups and hatched for a period of 8 weeks in receptacles with soil substrate of various Al concentrations (0, 10, 100, 1000, 2000, 4000 mg/kg of soil). The aching of the animals followed the measurement of Al concentration in their tissues via the method of individual absorption. A clay soil, rich in organic material was used as substrate with a pH between 5.0 and 7.0.

A mean value of 0.337 ppm was calculated as a control. In the concentrations of 10, 100, 1000, 2000 the mean values were similar to the one of the controls (0,404, 0,308, 0,379 and 0,345 ppm). In the highest soil concentration (4000mg Al/kg of soil) a higher mean value (0,445 ppm), of aluminum was also detected in the animal tissues.

According to the above results no change in the concentration of aluminum in the animal tissues is observed in relation with the aluminum concentration increase in the soil. A higher accumulation of aluminum in the tissues was observed only when the A1 concentration in the soil was also the highest (4000mg/kg).

ΜΕΛΕΤΗ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΠΟΥ ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΟΥΝ ΓΙΑ ΔΥΟ ΙΣΟΤΥΠΟΥΣ ΙΝΒΕΡΤΑΣΗΣ ΣΤΟ ΦΥΤΟ *Glycine max*

[1]Δήμου Μ., [1]Αϊβαλάκης Γ., [1]Δελής Κ., [1]Φλεμετάκης Μ., [1]Efrose R., [1]Βενιεράκη Α., [2]Γκανή-Σπυροπούλου Κ., [1]Κατινάκης Π.

[1]Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Ιερά Οδός 75, 11855, Βοτανικός, Αθήνα. [2]Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 15771, Αθήνα

Η διοχέτευση της σακχαρόζης στο μεταβολισμό των κυττάρων αποταμίευσης ή κατανάλωσης απαιτεί τη διάσπασή της από ισότυπους της ινβερτάσης ή/και της συνθετάσης της σακχαρόζης, οι οποίοι βρίσκονται σε διαφορετικά υποκυτταρικά διαμερίσματα. Έχουμε απομονώσει και χαρακτηρίσει δύο cDNA κλώνους του φυτού *Glycine max*, τους *GmINV1* and *GmINV2*, οι οποίοι κωδικοποιούν για ένα χυμοτοπιακό ισότυπο της ινβερτάσης και έναν προσδεδεμένο στο κυτταρικό τοίχωμα, αντίστοιχα. Οι πρωτεϊνικές αλληλουχίες που προκύπτουν από τη μετάφραση των δύο γονιδίων, φέρουν χαρακτηριστικά γνωρίσματα, τα οποία παρουσιάζονται συντηρημένα σε όλα τα γονίδια που κωδικοποιούν για ινβερτάσες. Προκειμένου να αναλύσουμε την τοπική και χρονική κατανομή των δύο αυτών μεταγραφημάτων, σε αναπτυσσόμενες κύριες και δευτερογενείς ρίζες χλωρωτικών φυταρίων σόγιας, μελετήσαμε τη γονιδιακή τους έκφραση, χρησιμοποιώντας τις τεχνικές της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης με χρήση αντίστροφης μεταγραφάσης (RT-PCR) και του επιτόπιου RNA-RNA υβριδισμού. Επιπλέον, παρατηρήσαμε ενζυμική δραστικότητα ινβερτάσης, χρησιμοποιώντας την τεχνική του επιτόπιου εντοπισμού ενζυμικής δραστικότητας. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται και ερμηνεύονται σε σχέση με τους πιθανούς ρόλους των ισότυπων της ινβερτάσης, στους ιστούς που μελετήθηκαν.

EXPRESSION OF TWO *Glycine max* INVERTASE ISOFORMS

[1]Dimou M., [1]Aivalakis G., [1]Delis C., [1]Flemetakis M., [1]Efrose R., [1]Venieraki A., [2]Gkani-Spyropoulou K., [1]Katinakis P.

[1]Agricultural University of Athens, Department of Agricultural Biotechnology, Iera Odos 75, 11855 Botanikos, Athens. [2]National and Kapodistrian University of Athens, School of Sciences, Faculty of Biology, Department of Botany, Panepistimiopolis, Zografou, 15771, Athens

The channeling of sucrose into sink metabolism requires its cleavage by several isoforms of invertase and sucrose synthase, which are localized in different subcellular compartments. We have isolated and characterized two *Glycine max* cDNAs, designated as *GmINV1* and *GmINV2*, encoding vacuolar and cell-wall bound forms of invertase, respectively. The protein sequences deduced from both genes revealed the characteristic hallmarks, known to be conserved in invertase genes. To investigate the spatial and temporal distribution of these two transcripts, in developing root and lateral roots of etiolated soybean seedlings, we performed gene expression studies using RT-PCR and IN-SITU hybridization approaches. Furthermore, we observed invertase activity by an IN-SITU activity staining technique. The results are presented and discussed, in accordance to the possible roles of invertase isoforms, in the tissues examined.

ΕΞΥΠΝΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΟΠΛΑ

[1]Di Matteo A., [1]Federici L., [2]Mattei B., [2]Salvi G., [1]Johnson K.A., [1]Savino C., [2]De Lorenzo G., [2]Cervone F., [1,3]Τσερνόγλου Δ.

[1]Department of Biochemical Sciences and [2]Department of Plant Biology, University of Rome 'La Sapienza', P.le A. Moro 5, 00185 Rome και [3]Τμήμα Επιστημών της Θάλασσας, Πανεπιστήμιο Αιγαίου, 81100 Μυτιλήνη

Φυτοπαθογόνοι οργανισμοί όπως ο μύκητας *Fusarium moniliforme* χρησιμοποιούν ποικιλία ενζύμων για να καταστρέψουν τα κυτταρικά τοιχώματα των φυτών και να εισχωρήσουν στους φυτικούς ιστούς που χρησιμοποιούν για να τραφούν. Τα φυτά αντιδρούν χρησιμοποιώντας διάφορες ουσίες που κατευθύνονται ειδικά στις ουσίες που έχουν εισβάλει. Ένα τέτοιο σύστημα επιθέσεως και αμύνης είναι το ένζυμο ενδοπολυγαλακτουρονάση που χρησιμοποιείται από το *F. moniliforme* για να φθείρει τα κυτταρικά τοιχώματα των φυτών, όπως του *Phaseolus vulgaris*, το οποίο με τη σειρά του αντιδρά μέσω ειδικού αναστολέα του ενζύμου. Το ένζυμο αυτό και ο αναστολέας του έχουν κρυσταλλωθεί και οι δομές τους έχουν προσδιοριστεί[1,2] με κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ σε υψηλή διακριτική ικανότητα (1.9 και 1.7 Å, αντίστοιχα). Μελετήσαμε την αλληλεπίδραση των δύο πρωτεϊνών με διάφορες μεθόδους και προσδιορίσαμε τα αμινοξέα που εμπλέκονται. Θα περιγραφούν οι λεπτομέρειες αυτού του συστήματος βιολογικής επιθέσεως και αμύνης.

Η μελέτη έγινε με υποστήριξη από την Ε.Ε. (QLK3-CT99-089), το Istituto Pasteur Fondazione Cenci Bolognetti και το Ίδρυμα Armenise-Harvard. Επίσης ευχαριστούμε τον Καθ. M. Brunori για πολύτιμες συμβουλές.

Βιβλιογραφία

1. Federici, L. *et al*. (2001) *PNAS*, **98**, 13425-13430.
2. Di Matteo, A. *et al*. (2003) *PNAS* (accepted for publication).

SMART BIOLOGICAL WEAPONS

Di Matteo[1] A., L. Federici[1], B. Mattei[2], G. Salvi[2], K.A. Johnson[1], C. Savino[1], G. De Lorenzo[2], F. Cervone[2] and D. Tsernoglou[1,3]

[1]Department of Biochemical Sciences and [2]Department of Plant Biology, University of Rome 'La Sapienza', P.le A. Moro 5, 00185 Rome and [3]Department of Marine Sciences, University of the Aegean, 81100 Mytilene

Plant pathogens such as the fungus *Fusarium moniliforme* rely on a variety of enzymes to degrade plant cell walls and gain access to plant tissues, which they use to feed themselves. The plants respond by using many substances specifically aimed at the invading substrates. One such system of attack and defence is the enzyme endopolygalacturonase used by *F. moniliforme* to degrade the plant cell wall, e.g. that of *Phaseolus vulgaris*, which in turn responds through a specific inhibitor of the enzyme. The invading enzyme and its plant inhibitor have been crystallized and their structures have been determined[1,2] by X-ray diffraction at high resolution (1.9 and 1.7 Å, respectively). Their mode of interaction has been studied by a variety of methods and the aminoacids involved have been identified. The details of the biological attack and defence will be described.

This work was supported by E.U. grant QLK3-CT99-089, the Istituto Pasteur Fondazione Cenci Bolognetti and the Armenise-Harvard Foundation. We also thank Prof. M. Brunori for his valuable advice.

References

1. Federici, L. *et al*. (2001) *PNAS*, **98**, 13425-13430.
2. Di Matteo, A. *et al*. (2003) *PNAS* (accepted for publication).

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΤΟΓΡΑΦΗΣΗ HSP 70 ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΩΝ ΚΛΩΝΩΝ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ *Bactrocera oleae*

Δροσοπούλου Ε., Νικήτα Β., Σκούρας Ζ.Γ., Μαυραγάνη-Τσιπίδου Π.

Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54 124 Θεσσαλονίκη

Το έντομο *Bactrocera oleae,* ο κοινός "δάκος της ελιάς", έχει ιδιαίτερη οικονομική σημασία για όλες τις μεσογειακές χώρες, καθώς προκαλεί εκτεταμένες καταστροφές στην ελαιοπαραγωγή. Η μελέτη του εντόμου αυτού, σε μοριακό κυρίως επίπεδο, μπορεί να συμβάλλει σημαντικά στην προσπάθεια καταπολέμησής του με βιολογικές μεθόδους. Η παρούσα εργασία, που αποτελεί μέρος μιας συνολικότερης προσπάθειας ανάλυσης και χαρτογράφησης του γονιδιώματος του δάκου, επικεντρώνεται στη μελέτη του θερμοεπαγόμενου γονιδίου *hsp70*. Το γονίδιο *hsp70*, μέλος της οικογένειας Hsp70, παρουσιάζει αξιοσημείωτη εξελικτική σταθερότητα και παίζει σημαντικό ρόλο στην απόκριση των οργανισμών στο θερμικό σοκ. Στη *Drosophila* και σε άλλα δίπτερα έχουν αναγνωριστεί πολλαπλά αντίγραφα του γονιδίου *hsp70*, ενώ ο προαγωγέας του έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως σε πειράματα γενετικού μετασχηματισμού. Πραγματοποιήθηκε σάρωση γονιδιωματικής βιβλιοθήκης του εργαστηριακού στελέχους AT του εντόμου *B. oleae*, χρησιμοποιώντας ως ανιχνευτή τμήμα ενός *hsp70* αντιγράφου του εντόμου *Ceratitis capitata*. Απομονώθηκαν τρεις κλώνοι, οι οποίοι μετά από *in situ* υβριδισμό σε πολυταινικά χρωμοσώματα σιαλογόνων αδένων βρέθηκε ότι προέρχονταν από τη θέση 96 του VR χρωμοσωματικού βραχίονα. Δύο από τους γονιδιωματικούς κλώνους χαρτογραφήθηκαν με απλές και διπλές πέψεις με ενδονουκλεάσες περιορισμού και υβριδισμούς κατά Southern. Η παραπάνω ανάλυση έδειξε την παρουσία τουλάχιστον τεσσάρων διαφορετικών αντιγράφων του γονιδίου *hsp70* στο *B. oleae*. Υποκλωνοποίηση και περαιτέρω ανάλυση των αντιγράφων αναμένεται να δώσει περισσότερες πληροφορίες για την οργάνωση του γονιδίου *hsp70* στο *B. oleae*.

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF HSP70 GENOMIC CLONES OF *Bactrocera oleae*

Drosopoulou E., Nikita V., Scouras Z.G., Mavragani-Tsipidou P.

Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University, 54 124 Thessaloniki

Bactrocera oleae is an insect species of great economical importance due to the losses of the olive fruit crops. Molecular studies of the insect can significantly contribute to the efforts of its biological control. The present report is part of an ongoing effort of analyzing and mapping the *B. oleae* genome and is focussed on the analysis of the *hsp70* gene. The *hsp70* gene, a member of the Hsp70 family, presents high levels of conservation and plays a crucial role during heat-shock response. In *Drosophila* and other Diptera species multiple *hsp70* gene copies have been identified, while its promoter has been widely used in insect transformation systems. A genomic library of the standard laboratory *B. oleae* population was screened using parts of a *Ceratitis capitata hsp70* copy as probe. Three λ clones bearing *hsp70* sequences were isolated and mapped on region 96 of *B. oleae* VR polytene arm, by *in situ* hybridization on the salivary gland polytene chromosomes. Two of the isolated clones were mapped by the use of restriction endonuclease digestions and southern blottings, revealing the presence of at least four copies of the *hsp70* gene. Subcloning and further analysis of the isolated *hsp70* sequences is expected to give more information on the genomic organization of the *hsp70* gene in *B. oleae*.

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΔΥΟ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΚΑΣΤΑΝΙΑΣ (*Castanea sativa* Mill.) ΑΠΟ ΤΗ ΝΗΣΟ ΛΕΣΒΟ

[1]Δρούζας Α.Δ., [2*] Αραβανόπουλος Φ.Α.

*[1]Γενική Διεύθυνση Ανάπτυξης Δασικών Πόρων, Υπουργείο Γεωργίας, Ιπποκράτους 3-5, Αθήνα, [2] Εργαστήριο Δασικής Γενετικής και Βελτίω-σης Δασικών Ειδών, Τμήμα Δασολογίας και Φυσικού Περιβάλλοντος, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, ΤΘ 238, Θεσσαλονίκη 54124, Ηλεκτρ. Ταχ. aravanop@for.auth.gr, *Presenting author*

Η καστανιά (*Castanea sativa* Mill.), είναι ένα από τα πιο σημαντικά πολυλειτουργικά δασικά πλατύφυλλα είδη με εκτενή εξάπλωση στην Ευρώπη και με ιδιαίτερη σημασία για το Μεσογειακό χώρο. Το είδος υφίσταται μακροχρόνιες ανθρωπογενείς επιδράσεις και η γενετική συγκρότηση του, έχει επηρεαστεί από τη μορφή διαχείρισης, καλλιέργειας, την εισαγωγή αλλόχθονου γενετικού υλικού και από βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις. Μελετήθηκαν δύο απομονωμένοι πληθυσμοί, ένας φυσικός σε πρεμνοφυή μορφή και ένας οπωρώνας (επιλεγμένα εμβόλια σε άγρια υποκείμενα), από την περιοχή Αγιάσου, Λέσβου. Χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της ανάλυσης ισοενζύμων (10 γονιδιακές θέσεις) κατόπιν οριζόντιας ηλεκτροφόρησης πηκτής αμύλου και τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με αντίστοιχα άλλων πληθυσμών από την νότια Βαλκανική (6 πληθυσμοί) και τη Μικρά Ασία (13 πληθυσμοί). Οι δύο πληθυσμοί της Λέσβου παρουσιάζουν σημαντική γενετική ποικιλότητα, η οποία δεν φαίνεται να έχει επηρεαστεί από την απομόνωση και τις μακροχρόνιες δασοκομικές και διαχειριστικές πρακτικές που εφαρμόζονται. Στα δενδρογράμματα γενετικών αποστάσεων ο φυσικός πληθυσμός της νήσου Λέσβου περιλαμβάνεται στην ομάδα πληθυσμών από τον ελληνικό ηπειρωτικό χώρο η οποία παρουσιάζει αξιόλογη γενετική συγγένεια με τους πληθυσμούς της δυτικής Μ. Ασίας. Η σχετικά μεγάλη γενετική απόσταση των πληθυσμών αυτών από τους πληθυσμούς της ανατολικής Μ. Ασίας πιθανώς αποτελεί ένδειξη διαφορετικών οδών μετανάστευσης ή προέλευσης από διαφορετικά καταφύγια κατόπιν της τελευταίας παγετώδους περιόδου. Ωστόσο ο πληθυσμός του οπωρώνα περιλαμβάνεται στην ομάδα πληθυσμών της ανατολικής Μ. Ασίας, πιθανή ένδειξη ανθρωπογενούς επίδρασης στη μετακίνηση επιλεγμένου γενετικού υλικού σε μια ευρεία γεωγραφική περιοχή η οποία ιστορικά έχει συνδεθεί με τη Βυζαντινή και την Οθωμανική αυτοκρατορία.

Η έρευνα υποστηρίχθηκε μερικώς από το ερευνητικό πρόγραμμα EVK2-CT99-0006

GENETIC VARIATION IN TWO ISOLATED CHESTNUT (*Castanea sativa* Mill.) POPULATIONS FORM LESVOS ISLAND

[1]Drouzas A.D., [2*]Aravanopoulos F.A.

*[1]Directorate of Forest Resources Development, Hellenic Ministry of Agriculture, Ippokratous 3-5, 101 64, Athens, GREECE, [2]Laboratory of Forest Genetics and Forest Tree Breeding, School of Forestry and Natural Environment, Aristotle University of Thessaloniki, P.O. Box 238, Thessaloniki, 51214, GREECE, E-mail: aravanop@for.auth.gr, *Presenting author*

Castanea sativa Mill., is a widespread broad-leave species in Europe and of special importance in the Mediterranean region. The species has undergone through a domestication process and its genetic structure has been influenced by the practices of silviculture, management and the introduction of exotic genetic material. Two isolated chestnut populations, one natural (coppice stand) and one domesticated (grafted orchard) originating from the Greek island of Lesvos (NE Aegean sea), were studied by means of isoenzyme electrophoresis and results were compared with pertinent literature regarding South Balkan and Asia Minor populations, in terms of genetic variability and genetic distance. A significant amount of genetic diversity was detected in both populations; silvicultural and management techniques as well as the domestication process did not seem to adversely affect the genetic variation of *Castanea sativa* in Lesvos island. The clustering of all wild Greek populations with western Turkish populations shows the close affinity of the populations located around the Aegean sea. The relatively high distance of the above group to the group of the eastern and far eastern Asia Minor populations potentially implies a difference in the gene pool, as a result of different migration routes or origination from different refugia. On the other hand, the clustering of the orchard population from Lesvos island with the group of the eastern and far eastern Asia Minor populations can be regarded as an evidence of human influence, concerning the movement and introduction of some particularly selected clones within a wide geographical area that historically was associated with the Byzantine and Ottoman empires.

This research was partially supported by the research project EVK2-CT99-0006

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ PKC ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΔΕΝΥΛΙΚΗΣ ΚΥΚΛΑΣΗΣ ΣΤΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟ ΤΗΣ ΠΡΟΔΡΟΜΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΤΟΥ ΑΜΥΛΟΕΙΔΟΥΣ

Ευθυμιόπουλος Σπύρος[1] και Nikolaos K. Robakis [2]

[1]Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ελλάδα, [2]Department of Psychiatry and Fishberg Research center for Neurobiology, Mount Sinai School of Medicine, New York, U.S.A.

Η αμυλοειδική β πρωτεΐνη (Αβ) είναι το κύριο συστατικό των νευρικών πλακών που παρατηρούνται στους εγκεφάλους των ασθενών με Alzheimer και θεωρείται ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της ασθένειας. Η Αβ πρωτεΐνη προέρχεται από την πρωτεολυτική επεξεργασία της πρόδρομης πρωτεΐνης του αμυλοειδούς (Amyloid Precursor Protein, APP) από τα ένζυμα β - και γ-secretases, τα οποία παράγουν το άμινο- και το καρβόξυ-τελικό άκρο της Αβ, αντίστοιχα. Όμως, η APP υποβάλλεται επίσης σε πρωτεολυτική επεξεργασία από το ένζυμο α-secretase μέσα στην ακολουθία της Αβ και έτσι αποτρέπεται η παραγωγή της. Επομένως, η επαγωγή της πρωτεολυτικής δραστηριότητας του ενζύμου α-secretase αποτελεί το αντικείμενο έντονης ερευνητικής δραστηριότητας που στοχεύει στην ανάπτυξη των μοριακών εργαλείων αναστολής της παραγωγής Αβ και της εναπόθεσής του στους εγκεφάλους των ασθενών με Alzheimer. Οι μελέτες μας δείχνουν ότι η ενεργοποίηση του μονοπατιού μεταγωγής σημάτων της φωσφολίπασης C/ πρωτεϊνικής κινάσης C αυξάνει τη πρωτεολυτική δραστηριότητα του ενζύμου α-secretase και μειώνει σημαντικά την παραγωγή Αβ. Επιπλέον, έχουμε δείξει ότι η ενεργοποίηση του μονοπατιού μεταγωγής σημάτων της αδενυλικής κυκλάσης εμποδίζει και τη συστατική και την PKC-επαγόμενη δραστηριότητα του ενζύμου α-secretase. Συνολικά, οι μελέτες μας δείχνουν ότι η δραστηριότητα του ενζύμου α-secretase και ο μεταβολισμός της πρόδρομη πρωτεΐνης του αμυλοειδούς ρυθμίζεται από την αλληλεπίδραση των μονοπατιών μεταγωγής σημάτων της αδενυλικής κυκλάσης και της πρωτεϊνικής κινάσης C. Κατά συνέπεια θεραπευτικές στρατηγικές που στοχεύουν στην ενεργοποίηση μονοπατιών μεταγωγής σημάτων θα πρέπει να λαμβάνουν υπόψη τους την ανταγωνιστική δράση των μονοπατιών μεταγωγής σημάτων της αδενυλικής κυκλάσης και της πρωτεϊνικής κινάσης C.

THE ROLE OF PKC AND ADENYLATE CYCLASE ON THE METABOLISM OF AMYLOID PRECURSOR PROTEIN

Efthimiopoulos Spiros[1] and Nikolaos K. Robakis[2]

[1]Department of Animal and Human Physiology, School of Biology, University of Athens, Greece. [2]Department of Psychiatry and Fishberg Research center for Neurobiology, Mount Sinai School of Medicine, New York, U.S.A.

The amyloid β peptide (Aβ) is the main component of the neuritic plaques observed in the brains of Alzheimer's disease patients and is considered to play an important role in the development of the disease. This peptide derives from the proteolytic processing of the Alzheimer's Amyloid precursor protein (APP) by both β- and γ-secretases, which generate the N- and C-terminus of Aβ, respectively. However, APP is also processed by a-secretase within the Aβ sequence thus formation of Aβ is prevented. Therefore, upregulation of the proteolytic activity of a-secretase is the subject of intense research aiming at providing molecular tools to inhibit production of Aβ and its deposition in the brains of Alzheimer's disease patients. Our studies show that activation of the phospholipase C/protein kinase C signal transduction pathway increases the proteolytic activity of a-secretase and significantly decreases production of Aβ. In addition, we have also shown that activation of the adenylate cyclase signal transduction pathway inhibits both constitutive and PKC-induced activity of a-secretase. Taken together, our studies indicate that the activity of a-secretase and the metabolism of Alzheimer's Amyloid precursor protein is regulated by the interaction of the adenylate cyclase and protein kinace C signal transduction pathways. Therefore, therapeutic strategies aimed at activating signal transduction pathways should consider the antagonistic effects of the adenylate cyclase and protein kinase C signal transduction pathways.

ΚΡΑΝΙΟΠΡΟΣΩΠΙΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΙΑ ΣΤΗΝ ΠΡΟΪΣΤΟΡΙΚΗ ΕΛΛΑΔΑ

Ζακοπούλου Ρ., Ζαφειράτος Κ. και Σ.Κ. Μανώλης

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 81 Αθήνα, email: smanol@biol.uoa.gr

Η συσχέτιση μεταξύ ανθρώπινων ομάδων αποτελεί θέμα συζήτησης στην Ανθρωπολογία, ειδικά όταν μελετάμε αρχαίους πληθυσμούς. Η Βιολογική απόσταση είναι ένα μέτρο που ερμηνεύει τη συγγένεια ή την απόκλιση μεταξύ πληθυσμών που βασίζονται στην ανάλυση σκελετικών γνωρισμάτων (Buikstra et al, 1990) και υπολογίζεται με πολλούς τρόπους. Μια παραδοσιακή μέθοδος είναι η «Penrose Απόσταση». Ο βαθμός συσχέτισης προϋποθέτει ότι οι πληθυσμοί που μοιράζονται χαρακτηριστικά γνωρίσματα συγγενεύουν περισσότερο σε σχέση με εκείνους που εκφράζουν αρκετές διαφορές. Επειδή η σύγχρονη ανάλυση της βιολογικής απόστασης είναι προβληματική λόγω της πολυλειτουργικής φύσης των βιομετρικών στοιχείων αποφασίσαμε να χρησιμοποιήσουμε αυτή την μέθοδο υπολογισμού της βιολογικής απόστασης. Τα βιομετρικά δεδομένα επηρεάζονται από γενετικούς καθώς κι από επιγενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες.

Το σχήμα του κρανίου υφίσταται σημαντικές μεταβολές και φαίνεται ότι οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στον χρηστικό τρόπο λειτουργίας των δοντιών και των γνάθων. Τα κρανιομετρικά δεδομένα είναι ακόμη ένα ερευνητικό κλειδί για την απόδειξη κουλτουριστικών, ιστορικών επαφών (Droessler, 1981; Heathcote, 1980; Howells, 1973, 1989; Jantz,1973; Key, 1983; Pietrusewsky, 1994; Sciulli, 1990, Spencer,1974a, 1974b, 1994).

Σε αυτή την εργασία παρουσιάζουμε τα αποτελέσματα μιας στατιστικής επεξεργασίας διάφορων δειγμάτων προϊστορικών πληθυσμών της Ελλάδας και ενός δείγματος σύγχρονου πληθυσμού. Σκοπός της εργασίας είναι να διερευνήσουμε την παρουσία ή όχι κρανιοπροσωπικής ποικιλομορφίας στον ελλαδικό χώρο, στη διάρκεια της προϊστορίας (Νεολιθική – Εποχή του Χαλκού), ενώ ως μέτρο σύγκρισης χρησιμοποιήθηκε ένα δείγμα σύγχρονων Ελλήνων (Outgroup).

Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι από την αρχαιότητα ο ελληνικός πληθυσμός ήταν αρκετά ποικιλόμορφος, γεγονός που ερμηνεύεται ως προσαρμογή στο γεωγραφικό κατάκερματισμού της χώρας, και ίσως αποτέλεσμα γενετικής παρέκκλισης και μειωμένης ροής γενετικού υλικού μεταξύ των πληθυσμιακών ομάδων (γεωγραφική απομόνωση).

Μέρος της έρευνας χρηματοδοτήθηκε από τον Ε.Λ.Κ.Ε. του Ε. & Κ. Πανεπιστημίου Αθηνών

CRANIOFACIAL VARIATION IN PREHISTORIC GREECE

Zakopoulou R., Zafeiratos C., and S.K. Manolis

Department of Animal & Human Physiology, School of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, 15781 Athens. email: smanol@biol.uoa.gr

The affinity between human groups constitutes a subject of discussion in Biological Anthropology, specifically when we study ancient populations. The Biological distance is one metre that interprets the affinity or divergence between populations that are based on the analysis of skeletal biometric traits (Buikstra et al, 1990). There are several methods that calculate Biological Distance. A traditional method is "Penrose Distance Analysis". The degree of relationship presupposes that the populations that shared characteristic traits are more close related concerning those that express enough differences. Because the modern analysis of biological distance is questioning because the multifonctional nature of biometric elements, we decided to use this traditional method. The biometric data are influenced from genetic as well as by epigenetic and environmental factors.

The form of skull suffers important changes and appears that is owed to a large extent, in the utilitarian way of operation of teeth and jawbones. The craniometric data are still an inquiring-key for the proof of cultural and historical contacts (Droessler, 1981; Heathcote, 1980; Howells, 1973, 1989; Jantz, 1973; Key, 1983; Pietrusewsky, 1994; Sciulli, 1990; Spencer, 197a, 1974b, 1994).

In this work we present the results of statistical analysis of various samples of prehistoric Hellenic populations and a sample of modern Greeks. The aim of this work is to investigate the presence or not of cranio-facial diversity in Helles, during the prehistory (Neolithic era to Bronze Age). The sample of modern Greeks (outgroup) was used for comparison purposes.

From the results it appears that during the prehistoric times Hellenic population was enough variform, make that is interpreted as an adaptation in the geological conditions, because the geographic breaking of the country, and as possible result of genetic drift and reduced genetic flow between demographic groups, (i.e. because of geographic isolation).

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΣΗΜΕΙΑΚΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΓΩΝ ΣΤΗ ΒΑΡΕΙΑ ΑΛΥΣΙΔΑ ΤΗΣ β-ΜΥΟΣΙΝΗΣ (β-MHC) ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΥΠΕΡΤΡΟΦΙΚΗ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΠΑΘΕΙΑ

Ζαφειρόπουλος Α.[1,2], Δ.Ι. Στραβοπόδης[1], Ι.Σ. Παπασιδέρη[1], Γ. Αναστασιάδης[3], Χ. Γαλάνης[2], Λ. Μαργαρίτης[1]

[1]Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Παν/μιο Αθηνών. [2]417 ΝΙΜΤΣ, [3]Λαϊκό Γεν. Νοσοκομείο Αθηνών

Η υπερτροφική μυοκαρδιοπάθεια (HCM) αποτελεί μια ανεξήγητη διαταραχή των συσταλτών πρωτεϊνών του σαρκομεριδίου, η οποία οδηγεί σε υπερτροφία του μυοκαρδίου. Το αποτέλεσμα αυτού του είδους της υπερτροφίας είναι η διαστολική και συστολική δυσλειτουργία, η εμφάνιση ισχαιμίας του μυοκαρδίου, η γένεση αρρυθμιών και ενίοτε ο αιφνίδιος θάνατος. Μέχρι στιγμής, έχουν μελετηθεί επαρκώς 7 γονίδια. Οι συχνότερες μεταλλαγές εμφανίζονται στο γονίδιο της βαρειάς αλυσίδας της β-μυοσίνης (*MYH7-14q11.2-q13*) σε ποσοστό >40%. Η μεταλλαγμένη β-MyHC πρωτεΐνη συνήθως εμφανίζει ελαττωμένη ικανότητα σύνδεσης και μετατόπισης της ακτίνης, ελαττωμένη ικανότητα συστολής, ελαττωμένη ικανότητα υδρόλυσης του ATP και ελαττωμένη ικανότητα δημιουργίας παχιών νηματίων με την α-MyHC. Δημιουργεί επίσης αποδιάταξη και καταστροφή των σαρκομεριδίων των μυοκυττάρων στο 50% τουλάχιστον. Ο σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η ανάπτυξη μιας ευχερούς, ευαίσθητης και οικονομικής μεθόδου για τον προσδιορισμό της ύπαρξης πιθανών μεταλλαγών στο γονίδιο της β-μυοσίνης και συγκεκριμένα, στη θέση 403 της πρωτεΐνης του γονιδίου όπου έχουμε αντικατάσταση της αργινίνης (R) από γλουταμίνη (Q). Η επιλογή έγινε βάσει της αυξημένης συχνότητας της μεταλλαγής αυτής καθώς επίσης και της βαρειάς κλινικής εικόνας που τη συνοδεύει. Επιλέχθηκαν 37 ασθενείς που πληρούσαν τα κλινικά κριτήρια για να χαρακτηριστούν ως πάσχοντες από HCM, ενώ από αυτούς επιλέχθηκαν 7 για την ανίχνευση πιθανής μεταλλαγής στη θέση 10164 του γονιδίου της β-MHC. Η μέθοδος ανίχνευσης της μεταλλαγής περιελάμβανε κλωνοποίηση του εξωνίου-13 μέσω PCR, επώαση των προϊόντων με ενδονουκλεάσες περιορισμού Dde-I ή Ava-I, απεικόνιση των αποτελεσμάτων με ανίχνευση ζωνών σε ηλεκτροφορητικό πήκτωμα αγαρόζης. Καινοτομία στην παρούσα μελέτη αποτελεί ο σχεδιασμός εντελώς καινούργιων ολιγοεκκινητών, που να βρίσκονται αυστηρά μέσα σε εξώνια, ώστε να αποφεύγονται τυχόν αποτυχίες κλωνοποίησης PCR προϊόντων που οφείλονται σε πολυμορφισμούς των εσωνίων.

IDENTIFICATION OF POINT MUTATIONS IN β-MYOSIN HEAVY CHAIN (β-MHC) IN PATIENTS WITH HYPERTROPHIC CARDIOMYOPATHY

Zaphiropoulos A.[1,2], D.J. Stravopodis[1], I.S. Papassideri[1], G. Anastasiadis[3], C.Galanis[2], and L.H. Margaritis[1]

[1]Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, [2]417 NIMTS, [3]"Laikon" General Hospital, Athens

Hypertrophic cardiomyopathy (HCM) is a disorder of the contractile proteins of the myocardial sarcomere. This hypertrophy results in diastolic and systolic dysfunction of the myocardium, myocardial ischemia, arrythmiogenesis and occasionally in sudden death. Up to now several genes have sufficiently been studied. The most frequent mutations (>40%) occur in the beta myosin heavy chain gene (*MYH7-14q11.2-q13*). The mutant β-MyHC protein has: reduced binding capacity to actin, reduced contractility, reduced ATP hydrolysis, disarray and destruction of the sarcomeres. The aim of this work is to provide a novel, cheap and sensitive method for the identification of the possible mutations in the β-MHC gene. We focused on the 403 site of β-MHC protein, where the substitution of arginine by glutamine results in a malignant prognosis, whereas it is one of the most frequent mutations. 37 patients clinically confirmed with HCM were examined by PCR technology. The novelty of this study is the design of totally new set of primers, which are strictly within exons. In contrast to what has been published by other groups our "exonic" primers are of generic use, as they do not depend on individual polymorphism. Even thou we are able to isolate exon 13 of β-MHC gene very efficiently, we have not detective yet the desire point mutation, which is still in progress.

ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΕΣ ΟΡΓΑΝΩΣΗΣ ΣΕ ΥΠΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΕΠΙΠΕΔΟ, ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ ΤΗΣ ΤΥΧΑΙΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΚΙΝΗΣΗΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Ζαχαριουδάκης Γ.

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15781 Αθήνα. E-mail: georgiossaz@lycos.com

Είναι γενικά αποδεκτό ότι η αποτελεσματική κυτταρική λειτουργία συνδέεται στενά με την κυτταρική οργάνωση, η οποία αναγνωρίζεται σε διάφορα ιεραρχικά επίπεδα, από την παρουσία οργανιδίων ως το σχηματισμό πολυενζυμικών συμπλεγμάτων. Συνεπώς η παρουσία ανομοιογένειας στο εσωτερικό ενός κυτταρικού διαμερίσματος πρέπει να εξετάζεται προσεκτικά, δεδομένου ότι μπορεί να καταδεικνύει μιας μορφή οργάνωσης σε μικροσκοπικό επίπεδο. Ανομοιογένειες των συγκεν-τρώσεων για μικρά μόρια στο εσωτερικό μεμονωμένων κυττάρων έχουν αναφερθεί. Γενικά, βαθμιδώσεις συγκεντρώσεων θα συμβαίνουν όποτε μια αντίδραση είναι, σε μικρό ή μεγάλο βαθμό, ελεγχόμενη από τη διάχυση, ιδιαίτερα στις περιπτώσεις που ένα μόριο εισάγεται ή παράγεται στα όρια ενός κυτταρικού διαμερίσματος. Ως συνέπεια τέτοιων βαθμιδώσεων για μόρια που αποτελούν υποστρώματα ή τροποποιητές για αντίστοιχες πρωτεΐνες, θα πρέπει να δεχτούμε ότι ο βαθμός κορεσμού των τελευταίων θα μεταβάλλεται στο χώρο. Για σημαντικό αριθμό πρωτεϊνών η δέσμευση υποκαταστατών συνοδεύεται με δομικές μεταβολές, συχνά με τη μορφή σχηματισμού ολιγομερών (1). Σε ορισμένες περιπτώσεις η παρουσία μεταβολιτών οδηγεί σε μεταβολή του μοριακού βάρους πρωτεϊνών κατά μια τάξη μεγέθους και μάλιστα σε ένζυμα με ρόλο-κλειδί για ολόκληρα μεταβολικά μονοπάτια, όπως η 6-φωσφοφρουκτοκινάση για τη γλυκόλυση. Τέτοιου είδους μεταβολές θα επηρεάζουν την κινητικότητα των μακρομορίων, ένα χαρακτηριστικό που σπανίως εξετάζεται. Προτείνεται ότι στις περιπτώσεις όπου η δέσμευση του υποστρώματος ή τροποποιητή προκαλεί δομικές αλλαγές σε μια πρωτεΐνη, είναι πιθανόν να έχουμε μεταβολή στην κατανομή της τελευταίας στο χώρο, μέσω της συστηματικής αλλοίωσης της κινητικότητάς της. Αυτό εξ αιτίας της δυναμικής αλληλομετατροπής μεταξύ μορφών που διαφέρουν στη σταθερά διάχυσης, ανάλογα με την -ανομοιογενή- παρουσία των μορίων που προκαλούν αυτή την αλληλο-μετατροπή, ένα μηχανισμό που παρουσιάζει κάποιες αναλογίες με τη χημειο-ταξία των βακτηρίων. Προσομοιώσεις σε απλοποιημένα μοντέλα δίνουν αποτελέσματα που συμφωνούν με αυτή την υπόθεση.

1. T. W. Traut, Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol., 29 (2), 125-163, (1994).

POSSIBILITIES OF ORGANIZATION AT THE SUBCELLULAR LEVEL THROUGH BIASED RANDOM MOTION OF PROTEINS

Zacharioudakis G.

Faculty of Biology, Department of Botany, University of Athens, Panepistimioupolis, Athens 15781, Greece. E-mail: georgiossaz@lycos.com

It is broadly accepted that efficient cell function is closely related to cellular organisation, recognized in different hierarchical levels, varying from the presence of organelles to myltienzyme complexes. Consequently the existence of non-homogeneities within a cell compartment should be examined carefully, since it may be a sign of microscopic organization of some sort. Concentration non-homogeneities for small molecules inside single cells have been reported. Generally, concentration gradients should occur when a reaction is, more or less, diffusion-controlled, especially in cases where a molecule is created or introduced at the boundaries of a cellular compartment. As a result of such gradients of molecules that are substrates or effectors for respective proteins it should be expected that the ligation state of the latter will vary in space. Ligand binding is accompanied by structural changes in a considerable number of proteins, in many cases in the form of an oligomerization (1). In some cases, the presence of metabolites provokes a variation of the molecular weight of proteins be an order of magnitude, and this may happen to enzymes having key role in metabolic pathways, e.g. 6-phosphofructokinase in glycolysis. Such variations will change the mobility of the macromolecules, an aspect that is rarely addressed. It is suggested here that in cases where ligand fixation induces structural changes to a protein, it is possible to have a variation in the spatial distribution of the latter, through the systematic deviation of its mobility. This is due to dynamic interconversion among forms that differ in the constant of diffusion, according to the – non-homogeneous – presence of molecules that provoke that interconversion, a mechanism that represents some analogy to bacterial chemotaxis. Numerical simulations, applied to simplified systems, show results in agreement with this hypothesis.

1. T. W. Traut, Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol., 29 (2), 125-163, (1994).

ΤΡΕΙΣ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ ΣΤΟ 18S rRNA ΤΗΣ ΖΥΜΗΣ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗ ΜΕΤΑΦΡΑΣΤΙΚΗ ΠΙΣΤΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ ΕΝΑΝΤΙ ΑΜΙΝΟΓΛΥΚΟΖΙΤΙΚΩΝ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ

Ζουριδάκης Μ., Κωνσταντινίδης Θ., Συνετός Δ.

Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26110 Πάτρα

Ο ρόλος του ριβοσωματικού RNA στην ακριβή αποκωδικοποίηση της γενετικής πληροφορίας έχει αποκαλυφθεί κυρίως μέσω κατασταλτικών ή αντικατασταλτικών μεταλλάξεων που αυξάνουν ή μειώνουν τη λάθος ανάγνωση των κωδικίων και βρίσκονται στο 16S rRNA της *E. coli*. Μεταξύ αυτών είναι η C310G στην έλικα 12, η G1206C στην έλικα 34 και η G517A στην έλικα 18. Εξετάσαμε τη λειτουργία των αντίστοιχων μεταλλάξεων *com1* (C310G), *com6* (G1206C) και *rdn2* (G517A) στο 18S rRNA της ζύμης. Κύτταρα ζύμης που φέρουν την *com1* εμφάνισαν φαινότυπο βραδείας ανάπτυξης. Αυτό συνοδεύτηκε από ισχυρή καταστολή του δείκτη *ade1-14* (UGA) και εξαιρετική ευαισθησία προς την παρομομυκίνη. Η καταστολή συνοδεύτηκε από τη σημαντική αύξηση της λανθασμένης ενσωμάτωσης του μη νοηματικού αμινοξέος λευκίνη σε μία αυξανόμενη αλυσίδα πολυφαινυλαλανίνης. Η ευαισθησία προς την παρομομυκίνη επιβεβαιώθηκε με άλλο πείραμα στο οποίο η αναστολή της ανάπτυξης κατά 50% παρατηρήθηκε σε μόλις 8 μM παρομομυκίνης για την *com1* έναντι 73 μM του αγρίου τύπου. Αντίθετα, η μετάλλαξη *rdn2* παρουσίασε επίσης φαινότυπο βραδείας ανάπτυξης αλλά κατά τα άλλα είχε την αντίστροφη επίδραση, δηλαδή ισχυρή αντικατασταλτική δράση, υπερακρίβεια και ισχυρή ανθεκτικότητα στην παρομομυκίνη (50% αναστολή της ανάπτυξης σε 500 μM). Η μελέτη των μεταλλάξεων αυτών ολοκληρώθηκε με τη μελέτη του διπλά μεταλλαγμένου στελέχους *com1rdn2*. Το στέλεχος αυτό κατήργησε το φαινότυπο βραδείας ανάπτυξης των επί μέρους μεταλλάξεων. Όμως, παρουσίασε επίπεδα λάθους ανάγνωσης και ανθεκτικότητας στην παρομομυκίνη παραπλήσια προς τα αντίστοιχα του αγρίου τύπου. Δηλαδή, οι μεταλλάξεις *com1* και *rdn2* επηρεάζουν τη μεταφραστική πιστότητα και την αντίσταση έναντι αμινογλυκοζιτικών αντιβιοτικών στον ίδιο περίπου βαθμό αλλά αντίστροφα. Επί πλέον, οι επιδράσεις των μεταλλάξεων *com6* και *rdn2* βρέθηκαν ότι είναι επίσης προσθετικές αλλά αντίστροφες κατά τη μελέτη του έτερου διπλά μεταλλαγμένου στελέχους *com6rdn2*.

THREE SITE-DIRECTED MUTATIONS IN YEAST 18S rRNA AFFECT TRANSLATIONAL FIDELITY AND RESISTANCE TO AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTICS

Zouridakis M., Konstantinidis T., Synetos D.

Laboratory of Biochemistry, School of Medicine, University of Patras, 261 10 Patras

The role of ribosomal RNA in the accurate decoding of genetic information has been largely uncovered by suppressor or antisuppressor mutations that increase or decrease misreading, respectively. Many of these mutations are in 16S rRNA of *Escherichia coli*. Among these are C310G in helix 12, G1206C in helix 34 and G517A in helix 18. We have examined the function of the corresponding mutations *com1* (C310G), *com6* (G1206C) and *rdn2* (G517A) in 18S rRNA of yeast. Yeast cells carrying mutation *com1* exhibited a slow growth phenotype. This was followed by strong suppression of the *ade1-14* (UGA) marker and extreme sensitivity to the aminoglycoside antibiotic paromomycin. Suppression was accompanied by increased general misreading as shown by a substantial increase of the rate of misincorporation of the noncognate amino acid leucine in a growing polyphenylalaline chain. Sensitivity to paromomycin was confirmed by another experiment in which 50% inhibition of growth was observed at only 8 μM paromomycin for *com1* compared to 73 μM for the wild type. In contrast, mutation *rdn2* displayed also a slow growth phenotype but had the opposite effect, exhibiting strong antisuppression and hyperaccuracy, followed by strong resistance to paromomycin, since 50% inhibition of growth was observed at 500 μM paromomycin. The study of the individual mutants was concluded by the study of the double mutant *com1rdn2*. Interestingly, the double mutant abolished the slow growth phenotype. However, it exhibited misreading levels and resistance to paromomycin similar to those of the wild type. Thus, *com1* and *rdn2* affect the decoding process and the resistance to aminoglycoside antibiotics to an equal degree but in reverse ways. Moreover, the effects of mutations *com6* and *rdn2* were found to be also additive but reverse in strain *com6rdn2*, the other double mutant under study.

Supported in part by a grant from the Karatheodoris 2000 Research Program of the University of Patras

ΟΙ ΣΥΝΕΠΕΙΕΣ ΤΟΥ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΟΥ ΤΟΥ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟΥ DNA ΣΤΙΣ ΧΡΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΣΑΝ ΕΡΓΑΛΕΙΟ ΓΙΑ ΕΞΕΛΙΚΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Ελευθέριος Ζούρος

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, 714 09 Ηράκλειο, Κρήτη

Σύμφωνα με τη θεωρία της Ουδέτερης Μοριακής Εξέλιξης, ο βαθμός διαφοροποίησης ομολόγων αλληλουχιών είναι (στατιστικώς) ανάλογος του χρόνου που μεσολάβησε από τη στιγμή που διαχωρίστηκαν σε διαφορετικές εξελικτικές γραμμές και ανεξάρτητος της πληθυσμιακής ή προσαρμοστικής ιστορίας των γραμμών αυτών. Η αρχή αυτή αποτελεί τον ακρογωνιαίο λίθο για τη χρήση των μοριακών δεδομένων για φυλογενετικές, βιογεωγραφικές και βιοϊστορικές μελέτες. Πάνω από το 75% των μελετών αυτών έχουν χρησιμοποιήσει το μιτοχονδριακό DNA (mtDNA) και μεταξύ αυτών η πιο φημισμένη περίπτωση είναι η «μιτοχονδριακή Εύα», που τοποθετείται μεταξύ 150-200 χιλιάδες χρόνια από σήμερα. Αυτή η χρήση του μορίου στηρίζεται στην παραδοχή ότι το ζωικό mtDNA δεν ανασυνδυάζεται, αλλά η παραδοχή αυτή τελεί σήμερα υπό έντονη αμφισβήτηση. Ενώ είναι φανερό πως η ύπαρξη ανασυνδυασμού θα θέσει σε αμφιβολία πολλές φυλογενετικές σχέσεις που βασίστηκαν στη χρήση του mtDNA, δεν είναι τελείως φανερό κατά ποια κατεύθυνση θα επηρεάσει τις εκτιμήσεις για το χρόνο σύγκλισης των αλληλουχιών στην κοινή προγονική αλληλουχία. Οι περισσότερες μελέτες τείνουν στο συμπέρασμα ότι η σύγκλιση μετατοπίζεται προς το απώτερο παρελθόν. Στην περίπτωση αυτή η ηλικία της μιτοχονδριακής Εύας, για παράδειγμα, μπορεί άνετα να ξεπερνά το μισό εκατομμύριο χρόνια. Η σωστή χρονική εκτίμηση των κομβικών σημείων στην ιστορία των ειδών δεν έχει μόνο φυλογενετική αξία, αλλά θέτει και τα σωστά χρονικά πλαίσια για τη μελέτη των βιοκοινωνικών διεργασιών που διαμόρφωσαν τη σημερινή μορφή των υπό μελέτη ειδών.

Σχετικό ερευνητικό πρόγραμμα του Λ.Ζ. χρηματοδοτείται από τη Γ.Γ.Ε.Τ. (ΠΕΝΕΔ 01ΕΔ42)

HOW THE RECOMBINATION OF MITOCHONDRIAL DNA MAY AFFECT ITS USES FOR EVOLUTIONARY STUDIES

E. Zouros

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

According to the theory of Neutral Molecular Evolution the degree of differentiation between homologous sequences is a function of only the time since their split from the common ancestor and independent of the populational or adaptational history of the lineages. This principle forms the basis for the use of molecular data for phylogenetic, biogeographical and biohistorical studies. More than 75% of these studies have used the mitochondrial DNA (mtDNA). One of the most celebrated cases is the claim that «mitochondrial Eve» lived some 150-200 thousand years ago. The use of mtDNA as a tool for evolutionary studies is based on the assumption that it does not recombine, but this assumption is now seriously in doubt. It is intuitively clear that if recombination does occur, it may seriously affect many conclusions about phylogenies based on mtDNA. But it is not clear how the occurrence of recombination will affect the time estimates of key events in evolutionary history. Most authors tend to agree that these estimates will be pushed further back in time. Thus, the age of «mitochondrial Eve» may be longer than 500 thousand years. It is clear that placing correct time estimates on key evolutionary events in the history of species is not important only for phylogenetic studies, but also for the study of the sociobiological processes that have led to the present form of the species of interest.

Relevant research of E.Z. is funded by G.S.R.T. (PENED 01ED42)

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΣΥΝΤΗΞΗ ΠΡΩΤΟΠΛΑΣΤΩΝ ΣΤΟ ΜΥΚΗΤΑ *Sclerotium rolfsii* ΚΑΙ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΠΑΘΟΓΟΝΟΥ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΥΒΡΙΔΙΚΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ

Hayat S., Χρηστιάς Χ.

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών

Ο φυτοπαθογόνος μύκητας *Sclerotium rolfsii* προσβάλλει πολλά είδη καλλιεργούμενων φυτών. Το τέλειο στάδιό του είναι πολύ σπάνιο στη φύση. Υπάρχουν δύο χαρακτηριστικά στελέχη του μύκητα, γνωστά σαν A και R, που διαφέρουν ως προς την μυκηλιακή ανάπτυξη, το μέγεθος και τον αριθμό των παραγομένων σκληρωτίων. Λόγω της παντελούς έλλειψης τόσο αγενών όσο και εγγενών σπορίων γενετικός ανασυνδυασμός δεν είναι δυνατός παρά μόνο με την χρήση της τεχνολογίας σύντηξης πρωτοπλαστών. Στην εργασία αυτή παρουσιάζονται αποτελέσματα σχετικά με την παραγωγή πρωτοπλαστών στα δύο στελέχη και σύντηξή τους για την παραγωγή νέων σταθερών υβριδικών στελεχών. Η παραγωγή πρωτοπλαστών των στελεχών A και R ήταν $2.8x10^5$ και $3.8x10^5$ ανά γρ. μυκηλίου αντίστοιχα. Πειράματα σύντηξης έγιναν σε PEG 4000 (30%) και 0.2 mM $CaCl_2$. Απομονώθηκαν τέσσαρα (4) υβριδικά στελέχη που χαρακτηρίστηκαν σαν F-1, F-2, F-3 και F-4. Η σταθερότητα των στελεχών αυτών μελετήθηκε σε διάστημα 3 γενεών. Ο ρυθμός της μυκηλιακής ανάπτυξης των υβριδικών στελεχών ήταν παρόμοιος με αυτόν των μητρικών. Από τα στελέχη αυτά τα F-1 και F-4 είναι πολύ σταθερά, ενώ τα F-2 και F-3 έδειξαν μια τάση για επιστροφή στα μητρικά στελέχη.

Σύγκριση της παθογόνου ικανότητας των τεσσάρων υβριδικών στελεχών σε σχέση με τα μητρικά στελέχη μελετήθηκε σε ειδικά πειράματα θερμοκηπίου με την χρήση δύο φυτών-ξενιστών, τομάτας και καρότου. Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν μορφολογικοί παράμετροι όπως το ύψος, ο αριθμός και η επιφάνεια των φύλλων, το νωπό και ξηρό βάρος των φυτών.

Όλα τα υβριδικά στελέχη είχαν αυξημένη παθογόνο ικανότητα σε σχέση με τα μητρικά. Το μητρικό A ήταν πιο επιθετικό από το R. Το υβριδικό F-1 είχε την μεγαλύτερη παθογόνο ικανότητα και το F-2 την μικρότερη. Τα καρότα ήσαν πιο ευαίσθητα από την τομάτα σε όλα τα στελέχη που χρησιμοποιήθηκαν.

Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης έδειξαν ότι η τεχνολογία σύντηξης πρωτοπλαστών μπορεί να χρησιμοποιηθεί για γενετική ανάλυση και παραγωγή υβριδίων σε ασπορογόνους φυτοπαθογόνους μύκητες, όπως ο *Sclerotium rolfsii*.

PATHOGENECITY STUDIES WITH FUSANTS DERIVED FROM PROTOPLASTS OF *Sclerotium rolfsii*

Hayat S., Christias Chr.

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

Sclerotium rolfsii is a serious plant pathogen which infects many cultivated plants. Its perfect basidiomycetous stage is extremely rare in nature. The species occurs in two strains, designated as A and R, which are distinct with regard to mycelial development and the pattern of sclerotium formation. Protoplast fusion technology provides an attractive approach to obtain recombinants in imperfect fungal pathogens. In the present study we report the production of protoplasts of both strains and their subsequent fusion in order to recover possibly stable fusants. Protoplast yields as high as $2.8x10^{-5}$ and $3.8x10^{-5}$ per gram of fresh mycelial weight were obtained for strains R and A respectively in 1M sucrose, pH 5,8 after 24 hours incubation. Fusion experiments were conducted using PEG 4000 (30%) with 0.2mM $CaCl_2$ for recovering stable fusants from strains A and R. Four fusants, namely F-1, F-2, F-3 and F-4 were recovered from fusion of protoplasts of strains A and R. The stability of the fusants was tested for a period of three generations. Fusants F-1 and F-4 were found to be stable, while F-2 and F-3 were unstable on the basis of patterns of sclerotium formation, the size and the numbers of sclerotia produced. The growth rate of the fusants was comparable to that of the parent strains A and R.

Green house pot experiments were conducted to investigate the pathogenic behaviour of fusants as well as of the parent strains A and R on two host crops, tomato and carrots. Morphological parameters such as plant height, number of leaves, leaf area, fresh and dry weight of plants were used in two month old plants. All fusants were found to be more pathogenic as compared to the parent strains in both crops. Among parent strains, A was more pathogenic than R. F-1 was the most virulent, while F-2 the least. Carrots were much more susceptible than tomato.

The results of this study showed that the protoplast fusion technology can be used advantageously for genetic analysis and recombination in asporogenous plant pathogenic fungi like *Sclerotium rolfsii*.

ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΩΝ ΜΕΤΑΒΑΤΙΚΩΝ ΝΕΡΩΝ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΜΑΚΡΟΑΣΠΟΝΔΥΛΩΝ

Ηλιοπούλου–Γεωργουδάκη Ιωάννα, Κωνσταντίνα Καραδήμα, Παναγούλα Μπακούλια, Αγγελική Ρούβαλη, Γιώργος Σπηλιόπουλος

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

Τα βενθικά μακροασπόνδυλα, ενώ έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως ως αξιόπιστοι δείκτες στην εκτίμηση της ποιότητας των επιφανειακών νερών, εν τούτοις δεν έχει αναφερθεί ανάλογη χρήση τους για τα μεταβατικά νερά (με εξαίρεση ένα πρόγραμμα παρακολούθησης της ποιότητας των μεταβατικών νερών στην πολιτεία της Μασαχουσέτης, ΗΠΑ). Με δεδομένη τη σημασία της ποιότητας της μεταβατικής παράκτιας ζώνης για την υδρόβια τροφική αλυσίδα, η διερεύνηση της δυνατότητας εφαρμογής ανάλογων δεικτών βενθικών μακροασπονδύλων για την παρακολούθηση της ποιότητας των υδάτων και αυτής της τόσο ευαίσθητης περιοχής, αποτελεί ένα σημαντικό επιστημονικό στόχο.

Για το σκοπό αυτό μελετήθηκαν τρεις περιοχές μεταβατικών ζωνών που βρίσκονται στα δέλτα των ποταμών Μεγανείτη και Φοίνικα, καθώς και ενός χείμαρρου στην περιοχή του Νομού Αχαΐας, στα βόρεια της Πελοποννήσου. Η μεταβατική ζώνη του ποταμού Φοίνικα αποτελεί σταθμό αναφοράς, ο οποίος αντιπροσωπεύει την «ελάχιστα επηρεασμένη από ανθρώπινη παρέμβαση» κατάσταση. Οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν εποχιακά, ήτοι καλοκαίρι, φθινόπωρο και χειμώνα της περιόδου 2002-2003. Ως κατάλληλη θέση δειγματοληψίας επιλέχθηκε η ενδοπαλιρροιακή ζώνη, σε βάθος που κυμαινόταν από 30 έως 50 εκατοστά. Σε κάθε σταθμό επιλέχθηκαν δύο θέσεις δειγματοληψίας (εκατέρωθεν της εκβολής του ποταμού) σε ευθεία απόσταση 15 μέτρων μεταξύ τους. Συλλέχθηκε ένα ολικό δείγμα από κάθε σταθμό με τη μέθοδο D-Net.

Η αναγνώριση των συλλεχθέντων οργανισμών πραγματοποιήθηκε με τη χρήση ταξινομικής κλείδας μέχρι το επίπεδο της οικογένειας. Καταγράφθηκε και απαριθμήθηκε κάθε taxon. Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν υπολογίστηκαν οι δείκτες εκτίμησης της ποιότητας των υδάτων. Με βάση τους επιμέρους δείκτες για κάθε περιοχή προέκυψε ένας συνολικός δείκτης, ο οποίος εκτιμά τη συνολική βιολογική κατάσταση (Invertebrate Community Index - ICI).

Για τις περιοχές μελέτης η τιμή για τον δείκτη ICI κυμάνθηκε από 44 - 58%, γεγονός που τις χαρακτηρίζει ως «Μετρίως Υποβαθμισμένες».

EVALUATION OF THE ECOLOGICAL CONDITION OF TRANSITIONAL WATERS WITH THE USE OF MACROINVERTEBRATES

Iliopoulou – Georgudaki Joan, Constantina Karadima, Panagoula Bakulia, Angela Rouvalis, George Spiliopoulos

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

Despite the fact that benthic macroinvertebrates have been widely used as a reliable index for the assessment of the surface water quality, there is no report on proportionately use for transitional waters (with the exception of a transitional water quality monitoring project, performed at the State of Massachusetts, USA). Considering the importance of the transitional coastal zone quality for the aquatic food chain, the study of the possibility of applying benthic macroinvertebrate indices for the monitoring of the water quality of this very sensitive zone, constitutes an important scientific goal.

For this purpose, three areas of transitional waters were studied. The three studied areas are in the same geographical region, located in the Northern Peloponnese; the deltas of the rivers Meganites and Phoenicas as well as a stream at the Achaias Prefecture. The transitional zone of the Phoenicas River consists the reference station, as it represents the "minimally influenced by human action" condition. Sampling was conducted seasonally, during the summer, autumn and winter over the period 2002-2003. The inter-tidal zone was chosen as a suitable sample location where the depth was ranging between 30 and 50 centimetres. Within each sampling location, two sampling sites were chosen in the distance of 15 meters on each side of the delta. A composite sample was collected at each location using the D-Net method.

Using an identification guide, the collected organisms were identified to family level. Every taxon was recorded and counted. The estimation indices were calculated from the results deriving from our analyses. Based on the indices of each sampling area, a total assessment score was obtained, which indicates the overall biological condition (Invertebrate Community Index – ICI).

For the studied areas, the ICI value was found to be between 44 – 58 %. This fluctuation characterizes them as ''Moderately Impaired''.

ΑΜΙΓΗ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΑ ΜΟΡΙΑ ΣΕ ΘΗΛΥΚΑ ΑΤΟΜΑ ΤΟΥ ΜΥΔΙΟΥ *Mytilus galloprovincialis*

[1]Θεολογίδης Γ., [1]Τσαούσης Α., [1]Λαδουκάκης Μ., [1,2]Ζούρος Ε.

[1]Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, 714 09 Ηράκλειο, Κρήτη, [2]Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας Κρήτης

Στα είδη *Mytilidae* (μύδια) συνυπάρχουν ένα μητρικώς (F) και ένα πατρικώς (M) διαβιβαζόμενο μιτοχονδριακό DNA (mtDNA) (φαινόμενο της Διπλής Μονογονικής Κληρονομικότητας, ΔΜΚ). Η διαπίστωση ότι το mtDNA του μυδιού ανασυνδυάζεται έθεσε το ερώτημα της ύπαρξης «μωσαϊκών» μορίων στον πληθυσμό (μόρια που σε μερικές περιοχές είναι M και σε άλλες F). Η υπόθεση αυτή ελέγχθηκε στο F μόριο θηλυκών ατόμων του *Mytilus galloprovincialis* εξετάζοντας τέσσερις περιοχές (COI, COIII, 16S rRNA, ND5) που καταλαμβάνουν διαφορετικά σημεία στο κυκλικό μόριο του mtDNA με τη μέθοδο RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) του προϊόντος της PCR. Αντίθετα με την παρουσία μωσαϊκών M μορίων σε αρσενικά άτομα, στα θηλυκά άτομα βρέθηκαν μόνο αμιγή τύπου F mtDNA μόρια. Η παρατήρηση αυτή είναι συμβατή με την ΔΜΚ σύμφωνα με την οποία ανασυνδυασμός μεταξύ M και F μορίων είναι δυνατός μόνο στα αρσενικά άτομα, όπου τα δυο μόρια συνυπάρχουν. Για να «επιβιώσουν» τα μόρια αυτά πρέπει αναγκαστικά να μεταβιβαστούν μέσα από το σπέρμα, δηλαδή να λειτουργήσουν σαν M μόρια. Επιβεβαιώνεται έτσι ότι το μητρικώς μεταβιβαζόμενο μόριο αποτελεί αυτοτελή οντότητα που δεν επηρεάζεται από την εξελικτική ιστορία του πατρικώς μεταβιβαζόμενου μορίου. Επειδή το αντίστροφο συμβαίνει, η ΔΜΚ οδηγεί σε μια μονόδρομη ροή γενετικής πληροφορίας από το F στο M μόριο.

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

FEMALE *Mytilus galloprovincialis* CONTAIN ONLY PURE F-TYPE mtDNA MOLECULES

[1]Theologidis I., [1]Tsaousis A., [1]Ladoukakis E., [1,2]Zouroç E.

[1]Department of Biology, University of Crete, 714 09, Heraklion, Crete,
[2]Institute of Marine Biology of Crete

Species of the family *Mytilidae* (mussels) contain a maternally (F) and a paternally (M) transmitted mitochondrial genome (the phenomenon of Doubly Uniparental Inheritance, DUI). The observation that the mussel mtDNA recombines raises the possibility of presence in the population of mosaic mtDNA molecules (molecules containing pieces of sequences from both types). The possibility was tested by examining four regions (COI, COIII, 16S rRNA, ND5) at disjoint parts of the circular molecule through RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) scoring of the PCR product. Contrary to the finding of mosaic M molecules in males, only pure F types were recovered in females. This observation agrees with what we know about DUI, according to which mtDNA recombination is possible only in males, where the two types coexist. From these males, recombinant molecules have to be transmitted though the sperm, i.e. they have to behave as M type molecules. This confirms that the maternally transmitted mitochondrial genomes behave as independent lineages whose evolution is not affected by events occurring in the paternal lines. Because the exact opposite occurs with the maternal molecules, we conclude that DUI imposes a one-way flow of genetic information, i.e. from F to M molecules.

This research is funded by G.S.R.T. (PENED 01ED42)

Η ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ ΕΞΠΑΝΣΙΝΩΝ (ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΤΟΙΧΩΜΑΤΟΣ) ΣΤΗΝ ΚΑΠΠΑΡΗ (*Capparis spinosa* L.)

Ιωαννίδη Ε., Ριζοπούλου Σ.

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα 15781

Το κυτταρικό τοίχωμα (ΚΤ) θεωρείται -πλέον- εξωκυτταρικό οργανίδιο του φυτικού κυττάρου, στο οποίο οφείλεται η αύξηση του κυττάρου. Ταυτόχρονα, το ΚΤ διαφοροποιείται ως προς τη δομή, τη σύσταση και τη λειτουργία. Το ΚΤ συμβάλλει αρχικά στον καθορισμό της πολικότητας των φυτικά κυττάρων κι ύστερα στην επέκτασή τους (expand), διατηρώντας ωστόσο τη μηχανική ακεραιότητα, με μετακίνηση κι ενσωμάτωση νεοσυντιθέμενων πολυμερών συστατικών. Η καταπόνηση του ΚΤ είναι αναπόφευκτη συνέπεια της πίεσης σπαργής (Ψp), στην οποία Ψp οφείλεται η διόγκωση του κυττάρου, μ' έκκριση κυτταρίνης (που καθορίζει τη διεύθυνση επέκτασης του ΚΤ), μ' επιλεκτική χαλάρωση των δεσμών μεταξύ των πολυμερών του τοιχώματος και τελικά την είσοδο H_2O. Χαρακτηριστική ιδιότητα των αυξανόμενων φυτικών κυττάρων είναι ο ρυθμός αύξησή τους σε όξινο pH. Υπεύθυνη για την όξινη αύξηση (acid growth) θεωρείται μια ομάδα πρωτεϊνών του ΚΤ: εξπανσίνες (expansins), η οποία καταλύει την pH-εξαρτώμενη χαλάρωση κι επέκταση του ΚΤ, χαλαρώνοντας υδρογονοδεσμούς ανάμεσα σε πολυσακχαρίτες, χωρίς υδρόλυση. Ως περιοχή δράσης των εξπανσινών αναφέρεται η ενδιάμεση φάση μεταξύ ινιδίων κυτταρίνης και ημικυτταρινών. Αποτέλεσμα είναι η απομάκρυνση των ινιδίων κυτταρίνης και η είσοδος νέο-συντιθέμενων πολυμερών και H_2O.

Στο εργαστήριό μας διερευνάται ο μηχανισμός της άνθισης. Θεωρούμε ότι σ' ένα άνθος που ανοίγει ταχέως, το ΚΤ των ανθικών ιστών χαλαρώνει ώστε να προσληφθεί H_2O. Το θέρος, άνθη της *Capparis spinosa* L. (κάππαρης) ανοίγουν ταχύτατα, κατά τη δύση του ηλίου και η νυκτερινή τους επίδειξη διαρκεί για 12-16 ώρες. Οι προσπάθειες που έχουν γίνει μέχρι στιγμής αποσκοπούν στην ανίχνευση γονιδίων που ανήκουν στην οικογένεια των εξπανσινών στην κάππαρη και η κατασκευή κλώνων που θα βοηθήσουν στον εντοπισμό των γονιδίων αυτών στο σώμα του φυτού.

AN EXPANSIN FAMILY IN CAPER (*Capparis spinosa* L.)

Ioannidi E., Rhizopoulou S.

Department of Botany, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 15781

The plant cell wall is a strong fibrillar network that gives each cell its stable shape. To enlarge, cells selectively loosen this network, enabling it to yield to the expansive forces generated by cell turgor pressure (Ψp). A large body of established work suggested that plant cells enlarge faster when wall pH was reduced below approximately 5.5; this acid growth behavior was also characteristic of isolated walls. Expansins are plant cell wall (i.e. extracellular), pH-dependent proteins that characteristically induce extension and stress relaxation of isolated walls, but they do not hydrolyse the major polysaccharides of the wall matrix. Expansins, encoded by multigene families, which function in cell enlargement or pollen tube invasion by stigma respectively, have been detected in a range of plant tissues, showed considerable variation in abundance. Biochemical evidence suggests that expansins disrupt noncovalent bonding between microfibrils and matrix of cellulose, thus loosening the cell wall and permitting therefore the entrance of water.

We investigate the role of expansins in a wild, perennial, native species of Mediterranean Flora, namely *Capparis spinosa* L. (caper) that grows under field conditions entirely during the summer drought period, ant it exhibites a fast, nocturnal anthesis. The transition of *C. spinosa*'s flowers from bud initiation to anthesis takes a week. At any time from early June to early August, the shrubs bear a mixture of flowers and buds, along newborn branches. A flower of *C. spinosa,* though, consistent by four green sepals, four white petals, numerous purplish stamens and a flexible style, lasts only about a night. We observed that the flower opening takes place within an hour. We designed degenerate expansin-specific oligonucleotides for caper, based on available expansin sequences present in databases. These results will be discussed in line with current ideas on the role of expansins in other, mostly cultivated and rapidly growing plants.

ΜΕΤΑΠΥΡΙΚΗ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΩΝ ΠΕΥΚΟΔΑΣΩΝ: ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΗΣ ΕΝΤΑΣΗΣ ΤΗΣ ΦΩΤΙΑΣ ΣΤΟ ΧΡΟΝΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗΣ ΤΩΝ ΜΟΝΟΕΤΩΝ ΠΟΩΔΩΝ ΦΥΤΩΝ

***Καζάνης Μ.Δ., **Αριανούτσου Μ.**

Τομέας Οικολογίας -Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 81 Αθήνα
**dkazanis@cc.uoa.gr, **marianou@biol.uoa.gr*

Η ένταση της φωτιάς κατά τη διάρκεια της εξέλιξής της συχνά δεν κατανέμεται ομοιόμορφα σε όλες τις θέσεις της καιομένης έκτασης. Μικροδιαφορές στην τοπογραφία, στην δομή της βλάστησης, αλλά και στην κατεύθυνση του ανέμου έχουν ως αποτέλεσμα ένα μωσαϊκό ενοτήτων που κάηκαν με διαφορετική ένταση. Στόχος της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση του κατά πόσο τέτοιες διαφορές επηρεάζουν τη σύνθεση των μεταπυρικών φυτοκοινοτήτων, ειδικότερα των μονοετών ποωδών φυτών, της σημαντικότερης φυτικής ομάδας κατά τα πρώτα μεταπυρικά έτη στα μεσογειακά πευκοδάση Χαλεπίου πεύκης. Η σημασία τους συνίσταται τόσο στην ποιοτική σύνθεση της μεταπυρικής φυτοκοινότητας, αφού αποτελούν την πλουσιότερη σε είδη ομάδα, όσο και στην ποσοτική, λόγω των υψηλών δεικτών αφθονίας που παρουσιάζουν.

Σε πευκοδάσος του όρους Πεντέλη, που κάηκε το καλοκαίρι του 1995, μεταπυρικά ήταν διακριτές δύο ενότητες: μίας εντόνως καμένης (απουσία καμένων πευκοβελόνων στα κλαδιά και το έδαφος) και μίας μετρίως καμένης (παρουσία καμένων πευκοβελόνων στα κλαδιά και το έδαφος). Σε κάθε μία εκ των ενοτήτων αυτών έγινε ποιοτική και ποσοτική καταγραφή της σύνθεσης της βλάστησης κατά τα δύο πρώτα μεταπυρικά έτη.

Από τα δεδομένα των δειγματοληψιών προκύπτουν ενδείξεις σύμφωνα με τις οποίες η ένταση της φωτιάς επηρεάζει τη βραχυπρόθεσμη αναγέννηση των μονοετών ειδών, πιθανότατα λόγω της διαφορετικής θερμο-ευαισθησίας των σπερμάτων ειδών με μόνιμη και παροδική εδαφική τράπεζα. Έτσι, παρ' ότι τα μονοετή ψυχανθή, με τα σκληροπεριβληματικά σπέρματα, είναι η πλουσιότερη και αφθονότερη ομάδα και στις δύο ενότητες, η εκπροσώπησή τους είναι ενισχυμένη στην εντόνως καμένη ενότητα, ενώ, αντιθέτως, η εκπροσώπηση ειδών με παροδική τράπεζα σπερμάτων (συνήθως μαλακά) καταγράφεται ενισχυμένη στην μετρίως καμένη ενότητα.

POST-FIRE REGENERATION OF MEDITERRANEAN PINE FORESTS: STUDYING THE EFFECT OF FIRE SEVERITY ON THE TEMPORAL REGENERATION PATTERN OF ANNUAL HERBACEOUS PLANTS

***Kazanis M.D., **Arianoutsou M.**

Department of Ecology and Systematics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis 157 81, Athens
* dkazanis@cc.uoa.gr, ** marianou@biol.uoa.gr

When fire bursts over a forested landscape, it does not burn homogeneously throughout the area. Differences in the topography, vegetation structure or the direction of the wind result in a mosaic of patches burned out with different severity. The present study aims at the investigation of how differences in fire severity are reflected to differences in the regeneration pattern of annual herbaceous plants occurring in Aleppo pine forests. Annual herbaceous plants form the most important component of the regenerating pine forest during the first post-fire years, since they are the dominant plant group both qualitatively and quantitatively.

A fire event burst over a 40-yr-old pine forest stand on Mt. Penteli in summer of 1995 created two quite distinct patches in terms of intensity. The first was moderately burned and it was characterized by the presence of burned pine needles on the canopy and the soil. In the severely burned patch no pine needles were present either on the canopy nor on the ground; had they all been burned to ashes. In each patch, the vegetation was recorded qualitatively and quantitatively for the first two years after the fire.

Data collected pinpoint to some insights according to which fire severity affects, in the short-term, the regeneration pattern of the annual herbs. This is maybe due to the different physiological characteristics of the seeds of the species forming the permanent and the transient soil seed banks. Thus, despite the fact that hard seeded annual legumes are the richest and most abundant group in both patches, it is better represented in the severely burned patch. On the contrary, soft seeded species that form transient soil seed banks are more abundant in the moderately burned patch.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΟΛΥΤΙΚΗΣ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ ΤΗΣ NS5A ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C (HCV)

Καλαμβόκη Μ., Μαυρομαρά Π.

Εργαστήριο Μοριακής Ιολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ
127 Βασ. Σοφίας, 115 21 Αθήνα

Ο ιός της ηπατίτιδας C (HCV) είναι ένας μικρός, θετικής πολικότητας RNA, ηπατοτρόπος ιός που κατατάσσεται στην οικογένεια των Φλαβιιών. Η μη δομική πρωτεΐνη NS5A του ιού της ηπατίτιδας C είναι μια πολυλειτουργική φωσφοπρωτεΐνη, που εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου ξενιστή. Η NS5A πρωτεολύεται ελεγχόμενα από πρωτεάσες που μοιάζουν με τις κασπάσες, παρουσία αποπτωτικών παραγόντων και ως εκ τούτου προκύπτουν πεπτίδια, τα οποία μπορούν να μπουν στον πυρήνα του κυττάρου, ενώ παρουσιάζουν και ιδιότητες μεταγραφικών ρυθμιστών. Στην παρούσα μελέτη αναφέρουμε ότι η NS5A πρωτεΐνη που εκφράζεται σε ευκαρυωτικά κύτταρα (ηπατικής ή μη προελεύσεως), είτε από ιικά οχήματα μεταφοράς που βασίζονται στον ιό του απλού έρπητα HSV-1 (HSV-1 βασιζόμενα amplicons), είτε από ευκαρυωτικά πλασμίδια, πρωτεολύεται σε τουλάχιστον δύο πεπτίδια, 40-kDa και 24-kDa αντίστοιχα, από κυτταρικές πρωτεάσες. Διαπιστώσαμε ότι αναστολείς των καλπαϊνών παρεμποδίζουν την παραγωγή του 40-kDa προϊόντος, ενώ τόσο οι αναστολείς καλπαϊνών όσο και ο γενικός αναστολέας για τις κασπάσες Z-VAD-FMK μπλοκάρουν την παραγωγή του προϊόντος 24-kDa. Ωστόσο, ειδικοί αναστολείς των πρωτεοσωμάτων δεν είχαν καμία επίδραση στην πρωτεόλυση της NS5A πρωτεΐνης. Ενδιαφέρον αποτελεί ότι και τα δύο πεπτίδια προέρχονται από το αμινοτελικό άκρο της NS5A πρωτεΐνης. Τέλος, in vitro συστήματα πρωτεόλυσης επιβεβαίωσαν ότι η NS5A αποτελεί υπόστρωμα των καλπαϊνών. Συμπερασματικά, φαίνεται ότι οι καλπαΐνες μόνες τους ή με τη συνδυασμένη δράση πρωτεασών που μοιάζουν με τις κασπάσες εμπλέκονται στην πρωτεόλυση της NS5A πρωτεΐνης και αυτή η δράση των καλπαϊνών μπορεί να είναι σημαντική για τον έλεγχο των λειτουργιών της NS5A πρωτεΐνης.

CHARACTERIZATION OF THE PROTEOLYTIC PROCESSING OF THE HEPATITIS C VIRUS NS5A PROTEIN

Kalamvoki M., Mavromara P.

Molecular Virology Laboratory, Hellenic Pasteur Institute, 127 Vas. Sofias Avenue, 115 21 Athens

The hepatitis C virus (HCV) is a small, positive sense RNA, hepatotropic virus classified within the Flaviviridae family. The non-structural 5A (NS5A) protein of HCV is a multifunctional phosphoprotein that is predominantly localized in the cytoplasm. NS5A is cleaved by caspase-like protease(s) in the presence of apoptotic stimuli, generating fragments that can potentially enter the nucleus and exhibit transactivation properties. In this study, we report that when the NS5A protein is produced either from HSV-1 based amplicon vectors or in transient transfected cells (liver or non liver origin) it is cleaved into a 40-kDa and a 24-kDa fragment by host cell proteins. We found that calpain inhibitors blocked the production of the 40-kDa fragment, whereas both calpain inhibitors and the pancaspase inhibitor, Z-VAD-FMK, blocked the production of the 24-kDa fragment. However, the specific proteasomal inhibitors had no effect on NS5A processing. Interestingly, both fragments originated from the N-terminus part of the protein. Finally, cell free cleavage assays supported the *in vivo* data indicating that NS5A is a substrate for calpains. We conclude that calpains alone or in combination with the caspase-like protease(s) are involved in NS5A processing suggesting that calpain activity might be critical for controlling NS5A function.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ NS5A ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΤΟΥ ΙΟΥ HCV ΣΤΗΝ IRES-ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΗ ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΙΙΚΟΥ RNA

Καλλιαμπάκου Κ., Καλαμβόκη Μ., Μαυρομαρά Π.

Εργαστήριο Μοριακής Ιολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ
127 Βασ. Σοφίας, 115 21 Αθήνα

Ο ιός της ηπατίτιδας C (HCV) είναι η κύρια αιτία της χρόνιας ηπατίτιδας. Το γενετικό του υλικό, θετικής πολικότητας μονόκλωνο RNA, κωδικοποιεί για ένα μεγάλο ανοιχτό πλαίσιο ανάγνωσης στα άκρα του οποίου υπάρχουν μη-μεταφραζόμενες περιοχές (NTRs). Το 5'NTR φέρει περιοχή εσωτερικής πρόσδεσης ριβοσώματος (IRES) η οποία προσδένει το ριβόσωμα κοντά στο εναρκτήριο κωδικόνιο. Μελετούμε το μοριακό μηχανισμό που εμπλέκεται στην IRES-εξαρτώμενη μετάφραση και συγκεκριμένα, την επίδραση που πιθανά έχουν πρωτεΐνες του ιού πάνω στην IRES λειτουργία. Μία από αυτές, η μη-δομική 5A πρωτεΐνη (NS5A) αποτελεί καλό υποψήφιο μια και εμπλέκεται σε κυτταρικές λειτουργίες που συνδέονται άμεσα ή έμμεσα με τον μεταφραστικό μηχανισμό του κυττάρου. Για τη μελέτη μας χρησιμοποιούμε σύστημα παροδικής έκφρασης. Συγκεκριμένα, κυτταρικές σειρές ηπατικής ή μη προελεύσεως επιμολύνονται ταυτόχρονα με δύο διαφορετικούς πλασμιδιακούς φορείς. Ο πρώτος είναι ένας CAT-LUC δισιστρονικός φορέας έκφρασης όπου το δεύτερο γονίδιο (LUC) βρίσκεται κάτω από το μεταφραστικό έλεγχο του HCV IRES. Για τον έλεγχο της ειδικότητας χρησιμοποιείται επίσης το IRES του ιού της Εγκεφαλομυοκαρδίτιδος (EMCV). Ο δεύτερος πλασμιδιακός φορέας εκφράζει είτε την NS5A πρωτεΐνη είτε την γαλακτοζιδάση (αρνητικός μάρτυρας). Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι η NS5A πρωτεΐνη του ιού HCV καταστέλλει σε μεγάλο βαθμό και μάλιστα με τρόπο εξαρτώμενο από τη συγκέντρωσή της την έκφραση της LUC όταν αυτή ελέγχεται από το IRES του HCV. Αντίθετα, σχεδόν καμία καταστολή δεν παρατηρείται με το IRES του EMCV. Η καταστολή είναι εντονότερη στις ηπατικής προέλευσης κυτταροσειρές. Με βάση τα παραπάνω η NS5A πρωτεΐνη φαίνεται πιθανό να καταστέλλει την IRES-εξαρτώμενη μετάφραση του HCV δημιουργώντας τις προϋποθέσεις για την έναρξη της αντιγραφής του ιϊκού γονιδιώματος.

EFFECT OF HCV NS5A PROTEIN ON IRES-DEPENDENT TRANSLATION OF THE VIRAL RNA

Kalliampakou K., Kalamvoki M., Mavromara P.

Molecular Virology Laboratory, Hellenic Pasteur Institute, 127 Vas. Sofias Avenue, 115 21 Athens

Hepatitis C virus (HCV) is the main leading cause of chronic liver disease. HCV has a single-stranded, positive sense RNA genome carrying a single long open reading frame (ORF) that is flanked at both termini by non-translated regions (NTRs). The 5'NTR carries an internal ribosome entry site (IRES) permitting the binding of ribosomes in close proximity to the start codon of the ORF. To understand the molecular mechanism involved with the IRES-dependent translation, we are currently studying the possible effect of selected HCV viral proteins on the IRES function. One candidate is the non-structural 5A protein (NS5A). NS5A has been found to interact with a number of key cellular pathways, which directly or indirectly are involved in translation. To analyze the putative effect of the HCV NS5A protein on HCV translation we use a transient expression system. Cell lines of hepatic or non-hepatic origin are co-transfected with two different plasmid vectors. The first is a CAT-LUC bicistronic expression vector where the second cistron (LUC) is under the translational control of the HCV IRES. Additionally, the IRES from encephalomyocarditis virus (EMCV) is used to control specificity. The second vector expresses either the NS5A protein or the galactosidase protein (negative control). Our results show that the expression of NS5A protein strongly suppresses, in a concentration-dependent manner, the expression of the LUC protein when the IRES of HCV is used. On the other hand, almost no effect is observed with the IRES of EMCV. Interestingly, the suppression is more obvious in the cell lines of hepatic origin. In conclusion, our data support a possible inhibition of the IRES-dependent translation of HCV by the NS5A protein. This inhibition may be essential for the replication of the viral RNA.

ΣΠΑΝΙΕΣ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΚΥΣΤΙΚΗ ΙΝΩΣΗ ΑΠΟ ΤΗ ΒΟΡΕΙΑ ΕΛΛΑΔΑ

[1,2]Καλογερίδης Α., [1]Αυγητίδου Α., [1]Γεωργίτση Μ., [2]Τσανάκας Ι., [1]Κουβάτση Α.

[1]Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη [2]Γενικό Περιφερειακό Νοσοκομείο "Ιπποκράτειο", Θεσσαλονίκη
e-mail: akouvats@bio.auth.gr

Η κυστική ίνωση είναι μία πολυσυστηματική νόσος που βρίσκεται στο επίκεντρο, τόσο της βασικής όσο και της εφαρμοσμένης έρευνας. Στην Ελλάδα είναι η δεύτερη πιό συχνή μονογονιδιακή ασθένεια μετά τη Μεσογειακή αναιμία.

Με σκοπό να χαρακτηριστεί η συχνότητα των μεταλλάξεων της κυστικής ίνωσης στη Βόρεια Ελλάδα αναλύθηκαν οι 11 πιο συχνές γνωστές μεταλλάξεις σε 66 ασθενείς. Ταυτοποιήθηκε έτσι το 80,1% των CF χρωμοσωμάτων. Στη συνέχεια εφαρμόστηκε η σάρωση των εξονίων του γονιδίου CFTR με την τεχνική SSCP στους ασθενείς με αταυτοποίητες μεταλλάξεις. Τα δείγματα με διαφορετικό πρότυπο SSCP αναλύθηκαν περαιτέρω με την τεχνική της εύρεσης της πρωτοδιάταξης του DNA.

Μέχρι στιγμής, η εξέταση 21 εξονίων (1, 2, 3, 4, 5, 6a, 6b, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14a, 14b, 15, 16, 17a, 17b, 20, 21) του γονιδίου αποκάλυψε διαφορετικά πρότυπα SSCP σε αρκετούς ασθενείς. Αυτά οφείλονται σε αλλαγές της αλληλουχίας του DNA που αντιπροσωπεύουν, είτε «παθογόνες» μεταλλάξεις, είτε πολυμορφισμούς. Τα μοριακά ευρήματα συσχετίζονται με το φαινότυπο των ασθενών.

RARE MUTATIONS IN CF PATIENTS FROM NORTHERN GREECE

[1,2]Kalogeridis A., [1]Augitidou A., [1]Georgitsi M., [2]Tsanakas I., [1]Kouvatsi A.

[1]Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki. [2]Hippokration General Hospital of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece
e-mail: akouvats@bio.auth.gr

Cystic Fibrosis (CF) is a multisystematic disease with great interest in terms of basic and applied research. In Greece Cystic Fibrosis is the second most frequent Mendelian inherited disease after Thalassemia.

In our effort to determine the spectrum of Cystic Fibrosis mutations in Northern Greece we analyzed 11 of the most frequent known mutations in 66 patients. It was found that they represent the 80.1% of the CF chromosomes. At a second step, we are screening exon by exon the CFTR gene, using the SSCP analysis, to all the CF patients with unknown mutations. The samples with variant SSCP patterns are further analyzed by sequencing.

Until now, the screening of 21 exons (1, 2, 3, 4, 5, 6a, 6b, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14a, 14b, 15, 16, 17a, 17b, 20, 21) of the CFTR gene has revealed variant SSCP patterns in many patients. They represent both, mutations or polymorphisms. The correlation of these alterations in the DNA sequence with the patients' phenotype are discussed.

ΒΙΟΕΛΕΓΧΟΣ ΤΟΥ ΦΥΤΟΠΑΘΟΓΟΝΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *Rhizoctonia solani* ΜΕ ΣΤΕΛΕΧΗ ΣΤΡΕΠΤΟΜΥΚΗΤΩΝ

Κανινή Γ.Σ., Κατσίφας Ε.Α., Καραγκούνη Α.Δ.

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 157 81 Ζωγράφου Αθήνα

Ο μύκητας *Rhizoctonia solani* είναι παθογόνος για μεγάλο αριθμό φυτών χρήσιμων για τον άνθρωπο, όπως είναι η πατατιά, η ντοματιά, το βαμβάκι, η φασολιά κ.α. Σκοπός της ερευνητικής προσπάθειας ήταν η διερεύνηση της δυνατότητας βιοελέγχου του φυτοπαθογόνου μύκητα με στελέχη βακτηρίων που ανήκουν στο γένος *Streptomyces*, ως εναλλακτική λύση για την αντιμετώπιση των φυτικών ασθενειών με φιλικό προς τον άνθρωπο και το περιβάλλον τρόπο.

Χρησιμοποιήθηκαν δύο στελέχη του φυτοπαθογόνου μύκητα, τα: *Rhizoctonia solani* DSM843 (εργαστηριακό στέλεχος προερχόμενο από τη γερμανική συλλογή μικροοργανισμών DSMZ) και *Rhizoctonia solani* 1105 (στέλεχος άγριου τύπου απομονωμένο από προσβεβλημένα φυτά φασολιάς, που παραχωρήθηκε από το Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο) και μελετήθηκε η δυνατότητα βιοελέγχου των δύο μυκήτων με σύνολο 500 στελεχών στρεπτομυκήτων που απομονώθηκαν από δέκα διαφορετικά οικοσυστήματα του ελλαδικού χώρου. Όλα τα απομονωθέντα στελέχη στρεπτομυκήτων ελέγχθηκαν για την παραγωγή αντιμικροβιακών ουσιών εναντίον των φυτοπαθογόνων μυκήτων. Επιλέχθηκαν τα στελέχη που αναστέλλουν την αύξηση των δύο στελεχών του φυτοπαθογόνου μύκητα και έγινε προσπάθεια ταυτοποίησης των βιοενεργών ενώσεων που παράγουν, δίνοντας κυρίως έμφαση στις ομάδες ενζύμων των χιτινασών, κυτταρινασών και γλυκανών. Στη συνέχεια, μελετήθηκε η σχέση του φυτοπαθογόνου μύκητα με τα επιλεγμένα στελέχη στρεπτομυκήτων in vivo σε πειράματα ανταγωνισμού. Στο στάδιο αυτό, χρησιμοποιήθηκε ως πειραματικό υλικό η φασολιά (*Phaseolus vulgaris*).

BIOCONTROL OF THE PHYTOPATHOGENIC FUNGI *Rhizoctonia solani* BY *Streptomyces* STRAINS

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

Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, 15781, Athens

Rhizoctonia solani is a common plant pathogen fungi for a variety of useful for plants such as potato, tomato plant, cotton, been etc. Our aim was to study the *in vitro* and *in vivo* antagonism of the pathogenic fungi by *Streptomyces* strains and the possibility to use these strains to control fungal pathogens while minimizing the need for routine chemical fungiside applications.

Two strains of the plant pathogen fungi were used: *Rhizoctonia solani* DSM843 (a type strain provided by the DSMZ culture collection) and *Rhizoctonia solani* 1105 (wild type strain isolated from the rhizosphere of a bean plant and provided by the Benakeio Phytopathological Institute). A total of 500 *Streptomyces* strains, isolated from 10 diverse sites of the Greek territory were screened for their ability to control the two fungal pathogens using *in vitro* plate antagonism bioassays. The *Streptomyces* strains which were found to suspend the fungal growth were selected and then examined for the production of bioactive substances, giving emphasis to the fungal cell wall-degrading enzymes, such as chitinases, cellulases and glucanases. Additionally, *in vivo* antagonism experiments were performed to determine the effectiveness of the selected *Streptomyces* strains as biocontrol agents towards pathogenic fungal infections of *Phaseolus vulgaris*.

ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΤΥΡΟΚΟΜΙΚΗΣ ΜΟΝΑΔΑΣ (ΑΧΑΪΑ, ΕΛΛΑΣ)

Καραδήμα Κωνσταντίνα, Ιωάννα Ηλιοπούλου–Γεωργουδάκη

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

Στην Ελλάδα γενικά, αλλά και στο Νομό Αχαΐας ειδικότερα, παρά το ότι η παραγωγή γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων είναι σχετικά περιορισμένη, οι αντίστοιχες μονάδες παραγωγής εκτιμάται ότι, με τα ακατέργαστα απόβλητά τους, συμβάλλουν σημαντικά στη ρύπανση του περιβάλλοντος.

Το μεγαλύτερο περιβαλλοντικό πρόβλημα που προκαλείται από τις μονάδες επεξεργασίας γάλακτος, είναι η απόθεση μεγάλων ποσοτήτων υγρών ακατέργαστων αποβλήτων κυρίως στα υδάτινα οικοσυστήματα. Τα απόβλητα αυτά περιέχουν μεγάλο οργανικό φορτίο και υψηλά επίπεδα νιτρικών και φωσφόρου, με αποτέλεσμα να προκαλούν δυσμενείς επιπτώσεις στους υδάτινους αποδέκτες, των οποίων μεταβάλλουν σημαντικά το pH και τη θερμοκρασία, λόγω των καυστικών και όξινων καθαριστικών προϊόντων που χρησιμοποιούνται κατά την επεξεργασία του γάλακτος.

Στην παρούσα εργασία, γίνεται εκτίμηση της τοξικότητας των αποβλήτων τοπικής τυροκομικής μονάδας (Νομού Αχαΐας), αφενός με τη χρήση του μικροβιοτέστ Thamnotoxkit F, και αφετέρου με τον έλεγχο τοξικότητας σε ψάρια του γλυκού νερού (πέστροφες : *Onchorynchus mykiss*).

Από τη μονάδα ελήφθησαν δύο διπλά δείγματα ολικού αποβλήτου ενώ οι έλεγχοι έγιναν με διπλές επαναλήψεις για μεγαλύτερη αξιοπιστία των αποτελεσμάτων.

Στα τεστ τοξικότητας (Thamnotoxkit F και πέστροφες) υπολογίσθηκε το LC_{50} 48h και 96h αντίστοιχα. Μετά από την μετατροπή των τιμών αυτών σε τοξικές μονάδες, ευρέθη ότι αυτές στο μεν μικροβιοτέστ Thamnotoxkit F κυμαίνονταν από 7,08 έως 29,15, ενώ στις πέστροφες ήταν 22,30. Οι τιμές αυτές και για τους δύο ελέγχους κατατάσσουν τα απόβλητα από «τοξικά» έως «πολύ τοξικά».

TOXICITY BIOTESTING OF A DAIRY UNIT EFFLUENTS (ACHAIA, GREECE)

Karadima Constantina, Joan Iliopoulou - Georgudaki

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

In Greece in general and subsequently in the Achaias Prefecture, despite the fact that the production of milk and dairy products is limited, the raw liquid wastes of 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. These wastes contain a high organic burden, as well as high levels of nitrite and phosphorus, resulting malign effects on aquatic receivers. Moreover the pH and temperature of the last is highly fluctuated due to caustic substances and acidic cleaning products used in milk manufacturing, contribute to these effects.

In this study, the toxicity of the wastes of a local diary product unit (Achaias Prefecture) is estimated, firstly by using the microbiotest Thamnotoxkit F and secondly by using the trout (*Onchorynchus mykiss*) as a test animal.

Two double samples of total waste were collected from the unit and all tests were performed in duplicates in order to ensure the results' credibility.

In the toxicity tests Thamnotoxkit F and trout the LC_{50} in 48 and 96 hours respectively were calculated. After the transformation of these values in toxic units, the results according to the microbiotest Thamnotoxkit F ranged from 7.08 to 29.15, while according to the trout toxicity test was 22.30. These values classify the tested dairy effluents from "toxic" to "highly toxic".

ΑΝΑΚΑΛΥΨΗ ΝΕΩΝ ΠΑΘΟΓΟΝΙΚΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ/ΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΜΟΝΟΠΑΤΙΩΝ ΣΕ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΠΡΟΤΥΠΑ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ, ΜΕ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΕΥΡΕΙΑΣ ΚΛΙΜΑΚΑΣ

Καραμέτου Β., Οικονόμου Ν., Κόλλιας Γ., Αϊδίνης Β.

Ινστιτούτο Ανοσολογίας/ Ε.ΚΕ.Β.Ε. «Αλ. Φλέμιγκ», Αλ. Φλέμιγκ 34, Βάρη

Η ταυτοποίηση ανοσοανεξάρτητων κυτταρικών μηχανισμών ως εν δυνάμει θεραπευτικών στόχων της Ρευματοειδούς Αρθρίτιδας (ΡΑ) αποτελεί αντικείμενο εκτεταμένης μελέτης. Προηγούμενες μελέτες στο εργαστήριο μας έχουν δείξει ότι οι ΣΙβς έχουν ένα αυτόνομο παθογονικό ρόλο στην ανάπτυξη της ασθένειας, καταδεικνύοντας ότι κατέχουν την ικανότητα να μεταναστεύουν δια μέσου ολόκληρου του σώματος και να προκαλούν παθολογία ειδικά στις αρθρώσεις. Η ενεργοποίηση του ινοβλάστη αρθρικού υμένα (Συνοβιακός Ινοβλάστης, ΣΙβ) είναι ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά της ΡΑ και οδηγεί σε απορυθμισμένη παραγωγή χυμοκινών και συστατικών της εξωκυττάριας μήτρας (ECM).

Στην παρούσα μελέτη και με στόχο να κατανοήσουμε τους μηχανισμούς που κυβερνούν την ενεργοποίηση και την παθογονική ικανότητα τους, χρησιμοποιήσαμε ευρείας-κλίμακας μεθόδους διαφορικής ανάλυσης της γονιδιακής έκφρασης, σε αναζήτηση απορυθμισμένων κυτταρικών μονοπατιών η/και γονιδίων. Για τον σκοπό αυτό, χρησιμοποιήσαμε δυο διαφορετικές πλατφόρμες μικροσυστοιχιών DNA, ολιγο-νουκλεϊτιδικές μικροσυστοιχίες της εταιρείας Affymetrix, καθώς και cDNA μικροσυστοιχίες από το Ινστιτούτο Sanger. Ανάλυση των αποτελεσμάτων κατέδειξε έναν μεγάλο αριθμό «ινοβλαστικών» γονιδίων που απορυθμίζονται στη ΡΑ, καθώς κι έναν αριθμό πρώιμων και όψιμων γονιδίων που απορυθμίζονται κατά την διάρκεια της παθογένεσης της Αρθρίτιδας. Λειτουργική ομαδοποίηση των διαφορικά εκφρασμένων γονιδίων, που επιβεβαιώθηκε με λειτουργικές δοκιμές *in vitro,* ενέπλεξε συγκεκριμένες κυτταρικές λειτουργίες στην ενεργοποίηση του ΣΙβ. Ανάμεσά τους, αποδείχθηκε ότι η αυξημένη πρόσφυση στην εξωκυττάρια μήτρα συσχετίζεται με αναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού και μειωμένο πολλαπλασιασμό. Σε μια παρόμοια, ευρύτερης κλίμακας προσέγγιση και σε συνεργασία με το Ινστιτούτο RIKEN/Ιαπωνία, κατασκευάσαμε διάφορες αφαιρετικές βιβλιοθήκες cDNA από ΣΙβς, ακολουθούμενη από ευρείας-κλίμακας αλληλούχηση. 13000 γονίδια αποδείχθηκαν απορυθμισμένα στην Αρθρίτιδα. Ανάμεσα τους, ανακαλύψαμε 1500 καινοφανή, φλεγμονώδη γονίδια τα οποία δεν έχουν αναφερθεί ποτέ, είτε σε δημοσιεύσεις είτε σε βάσεις δεδομένων γονιδιακών αλληλουχιών.

HIGH THROUGHPUT GENE AND PATHWAY DISCOVERY IN ANIMAL MODELS OF RHEUMATOID ARTHRITIS

Karametou V., Oikonomou N., Kollias G., Aidinis V.

Institute of Immunology/ BSRC "Al. Fleming", 34 Fleming Street, 16672 Vari

Increasing attention has been directed towards identifying non-T cell mechanisms as potential therapeutic targets in Rheumatoid Arthritis (RA). Synovial Fibroblast (SF) activation, a hallmark of RA, results to inappropriate production of chemokines and matrix components, which in turn lead to bone and cartilage destruction. We have previously demonstrated that SFs have an autonomous pathogenic role in the development of the disease, by showing that they have the capacity to migrate throughout the body and cause pathology specifically to the joints. Moreover and in order to decipher the pathogenic mechanisms that govern SF activation and pathogenic potential, we have employed the two most prominent methods of differential gene expression analysis, differential display and DNA microarrays, in a search for deregulated cellular pathways in the arthritogenic SF.

In the present study and given the validity of our system, we have extended the differential expression screens to include primary SFs, immortalized SFs, as well as whole joints, from two different immune-independent animal models of RA. We have employed two different microarray platforms, oligonucleotide chips from Affymetrix, as well as cDNA glass slides from Sanger. The screens revealed a large number of "fibroblast specific" genes that get deregulated in RA, as well as a number of early and late genes that get deregulated in Arthritis during the progression of the disease. Functional clustering of differentially expressed genes, validated by dedicated *in vitro* functional assays, implicated a number of cellular pathways in SF activation. Amongst them, increased adhesion to the extracellullar matrix (ECM) was shown to correlate with cytoskeleton rearrangement and diminished proliferation. In a similar, large-scale approach and in collaboration with RIKEN/Japan, we have constructed various fibroblast subtractive cDNA libraries, followed by high throughput sequencing. 13000 genes were shown to be deregulated in Arthritis. Amongst them, we have discovered 1500 genes that have never been reported either in publications or sequence databases. Therefore these genes constitute novel, inflammation-related genes.

ΒΛΑΒΕΣ ΣΤΟ DNA ΚΑΙ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΣΕ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ

[1,2]Καραναστάση Γ., [2]Μεσσήνη-Νικολάκη Ν., [1,2]Αναγνωστάκης Ν., [1,2]Μαριδάκη Κ., [1,2]Χριστόπουλος Γ., [3]Γουργουλιάνης Κ., [3]Χρίστου Κ., [1]Τσιλιμιγκάκη Σ., [4]Κανιούρα Μ., [1]Πιπεράκης Σ.Μ.

[1]Εργαστήριο Επιδιορθωτικών Μηχανισμών DNA, Ινστιτούτο Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος, Αθήνα. [2]Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα. [3]Πνευμονολογική Κλινική, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα. [4]Εργαστήριο Αιμοδυναμικής, Νοσοκομείο «Ευαγγελισμός», Αθήνα.

Στη παρούσα μελέτη ερευνήσαμε την ευαισθησία λεμφοκυττάρων ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα στην επίδραση εξωγενών παραγόντων (H_2O_2 και αλκοόλης) καθώς και την επιδιορθωτική τους ικανότητα. Χρησιμοποιώντας την τεχνική του "comet assay" μπορέσαμε να υπολογίσουμε το ποσοστό των βλαβών και την επιδιόρθωση στην παραπάνω ομάδα και να την συγκρίνομε με φυσιολογικούς πληθυσμούς.

Ακόμη μελετώντας την μορφολογία των κυττάρων με διάφορες χρωστικές (acridine orange, ethidium bromide) προσδιορίσαμε τον αριθμό των νεκρωτικών και των αποπτωτικών κυττάρων.

Από τα αποτελέσματα μας διαφαίνεται μειωμένη επιδιορθωτική ικανότητα στις βλάβες του DNA σε άτομα που πάσχουν από καρκίνο του πνεύμονα.

DNA DAMAGE AND REPAIR CAPACITY IN LUNG CANCER PATIENTS' LYMPHOCYTES

[1,2]Karanastasi G., [2]Messini-Nikolaki N., [1,2]Anagnostakis N., [1,2]Maridaki K., [1,2]Christopoulos G., [3]Gourgoulianis K., [3]Christou K., [1]Tsilimigaki S., [4]Kanioura M., [1]Piperakis S.M.

[1]DNA Repair Laboratory, Institute of Biology, NCSR Democritos, Athens, Greece. [2]Department of Cell Biology, School of Biology, University of Athens, Athens, Greece. [3]Palmonary Department, University of Thessaly, Larisa, Greece. [4]Hemodynamics Laboratory, Evangelismos Hospital, Athens, Greece

In the present study we examined the effects of H_2O_2 and ethanol on peripheral blood lymphocytes of lung cancer patients in comparison to healthy individuals.

Using the comet assay technique we estimated the DNA damage and the repair capacity of the above populations.

We also estimated apoptosis and necrosis of these cells according to their morphology and staining with acridine orange and ethidium bromide.

Our results indicate that lung cancer patients have a reduced DNA repair capacity.

ΣΤΟΜΑΧΙΚΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΗΣ ΒΕΝΘΙΚΗΣ ΓΑΡΙΔΑΣ *Penaeus (Melicertus) kerathurus* (FORSKÅL, 1775) (DECAPODA, PENAEIDAE) ΑΝΟΙΧΤΑ ΤΗΣ ΕΚΒΟΛΗΣ ΤΟΥ ΠΟΤΑΜΟΥ ΠΗΝΕΙΟΥ ΣΤΟ ΘΕΡΜΑΪΚΟ ΚΟΛΠΟ

[1]Καράνη Ε., [1]Νεοφύτου Χ., [2]Χαρτόσια Ν.

[1]Τμήμα Γεωπονίας Ζωικής Παραγωγής και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, 384 46, Βόλος.
[2]Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 541 24, Θεσσαλονίκη

Η ανάλυση του στομαχικού περιεχομένου έγινε σε 145 άτομα (47 ♀♀, 98 ♂♂) του είδους *Penaeus (Melicertus) kerathurus* (Forskål, 1775). Τα δείγματα συλλέχθηκαν με αιωρούμενα δίχτυα (με διάμετρο ανοιγμάτων 20mm) τον Οκτώβριο του 2002, σε βάθη 10-15 m, ανοιχτά της εκβολής του ποταμού Πηνειού στο Θερμαϊκό κόλπο.

Εξετάζεται η ποιοτική σύνθεση του στομαχικού περιεχομένου στις διάφορες κλάσεις μεγέθους και για τα αρσενικά και τα θηλυκά άτομα χωριστά καθώς και το εύρος του μήκους του κεφαλοθώρακα τους.

Η ανάλυση του στομαχικού περιεχομένου των ατόμων αυτών αποκάλυψε ένα ευρύ φάσμα κατηγοριών λείας: Algae (Chrysophyta), Foraminifera, Porifera, Cnidaria, Anthozoa (Alcyonacea), Nematoda, Sipuncula, Mollusca (Aplacophora, Polyplacophora, Gastropoda, Bivalvia), Annelida (Polychaeta), Crustacea (Copepoda, Decapoda Natantia, Decapoda Brachyura, Mysidacea, Amphipoda, Cumacea, Isopoda, Tanaidacea), Bryozoa Echinodermata (Holothuroidea), Chordata (Ascidiacea, Pisces) και Απροσδιόριστα.

Οι πληροφορίες που αποκτήθηκαν συζητούνται σε σχέση με τις αντίστοιχες από την σχετική βιβλιογραφία.

STOMACH CONTENT OF THE BENTHIC SHRIMP *Penaeus (Melicertus)kerathurus*, (FORSKÅL, 1775) (DECAPODA, PENAEIDAE) OFF PINIOS ESTUARY IN THERMAIKOS GULF

[1]Karani I., [1]Neofitou Ch., [2]Chartosia N.

[1]Department of Agriculture Animal Production and Aquatic Environment, School of Agricultural Sciences, University of Thessaly, 384 46, Volos, Greece.
[2]Department of Zoology, School of Biology, Aristotlean University of Thessaloniki, 541 24, Thessaloniki, Greece

Stomach content analysis was carried out in 145 individuals (47 ♀♀, 98 ♂♂) of the species *Penaeus (Melicertus) kerathurus* (Forskål, 1775). Specimens were collected with hanging nets (mesh-size of 20 mm) in October 2002, at depths of 10-15 m, off Pinios estuary in Thermaikos Gulf.

The qualitative composition of the stomach content is examined in the different size classes and for male and female individuals separately. The range of their carapace length is also given.

Stomach content analysis of these individuals revealed a wide range of prey categories: Algae (Chrysophyta), Foraminifera, Porifera, Cnidaria, Anthozoa (Alcyonacea), Nematoda, Sipuncula, Mollusca (Aplacophora, Polyplacophora, Gastropoda, Bivalvia), Annelida (Polychaeta), Crustacea (Copepoda, Decapoda Natantia, Decapoda Brachyura, Mysidacea, Amphipoda, Cumacea, Isopoda, Tanaidacea), Bryozoa Echinodermata (Holothuroidea), Chordata (Ascidiacea, Pisces) and Unidentified.

The acquired information is discussed with the corresponding from the relevant literature.

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΦΥΛΟΥ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΒΙΟΜΕΤΡΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΜΕΤΑΚΑΡΠΙΚΩΝ ΚΑΙ ΜΕΤΑΤΑΡΣΙΚΩΝ ΟΣΤΩΝ ΤΗΣ ΣΥΓΧΡΟΝΗΣ ΣΚΕΛΕΤΙΚΗΣ ΣΥΛΛΟΓΗΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Καργιολάκης Γ., Μακρυγεωργάκη Μ. και Σ.Κ. Μανώλης

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 81 Αθήνα,

E-mail: smanol@biol.uoa.gr

Ο προσδιορισμός του φύλου ενός ανθρώπινου σκελετού είναι ο πρώτος και σημαντικότερος δημογραφικός παράγοντας για την περαιτέρω ανθρωπολογική ή δικαστικής ανθρωπολογίας ανάλυση. Η ακρίβεια των μεθόδων που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό αυτό εξαρτάται άμεσα από την πληρότητα του σκελετικού δείγματος. Έτσι, η χρήση των μετακαρπικών και μεταταρσικών οστών για τον προσδιορισμό του φύλου κρίνεται αναγκαία, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις που λείπουν ή είναι πολύ φθαρμένα οστά, όπως το κρανίο, η λεκάνη και τα μακρά οστά.

Εδώ παρουσιάζονται οι βιομετρικές μέθοδοι που εφαρμόστηκαν σε οστά της σύγχρονης ελληνική σκελετικής συλλογής αναφοράς. Τα δείγματα που μετρήθηκαν είναι γνωστού φύλου και με αυτό τον τρόπο έγινε δυνατή η μετέπειτα αξιολόγηση των βιομετρικών μεθόδων. Συνολικά, μετρήθηκαν τα μετακαρπικά (69 άτομα) και μεταταρσικά (71 άτομα) οστά από την σύγχρονη σκελετική συλλογή αναφοράς του Εργαστηρίου Βιολογικής Ανθρωπολογίας του Τομέα Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου.

Οι μετρήσεις των μετακαρπικών οστών βασίστηκαν στους Musgrave και Harneja (1999), όπως ακριβώς αναφέρονται από τον Falsetti (2000). Όσον αφορά στις μετρήσεις των μεταταρσικών, οι μετρήσεις που χρησιμοποιήθηκαν αναφέρονται από τους Martin & Saller (1971) και Smith (1999). Στη συνέχεια, ακολούθησε στατιστική επεξεργασία των βιομετρικών δεδομένων και δημιουργήθηκαν εξισώσεις πολλαπλής παλινδρόμησης.

Τα αποτελέσματα των εξισώσεων αυτών για τα μετακαρπικά ή τα μεταταρσικά τους οστά απετέλεσαν κριτήριο διαχωρισμού των ατόμων σε αρσενικά και θηλυκά. Με αυτόν τον τρόπο, γνωρίζοντας εκ των προτέρων το φύλο του κάθε ατόμου, μπορέσαμε να διαπιστώσουμε την ακρίβεια των συγκεκριμένων μετρήσεων συνολικά και για κάθε μετακαρπικό ή μεταταρσικό οστό ξεχωριστά. Τα όρια αξιοπιστίας των αποτελεσμάτων κυμαίνονταν, με κάποια οστά να παρουσιάζουν μεγαλύτερη ακρίβεια και κατά συνέπεια στατιστική αξία. Επιπλέον, συγκεκριμένες μετρήσεις βρέθηκαν να έχουν μεγαλύτερη αξιοπιστία στο ένα φύλο από ότι στο άλλο.

SEX DETERMINATION BY USING THE BIOMETRIC ANALYSIS OF THE METACARPAL AND METATARSAL BONES OF THE MODERN HUMAN SKELETAL REFERENCE COLLECTION

Kargiolakis G., Makrigeorgaki M., and S.K. Manolis

Department of Animal & Human Physiology, School of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, 15781 Athens. E-mail: smanol@biol.uoa.gr

Sex determination of a human skeleton is the primary and most important demographic factor for the following anthropological or forensic analysis. The precision of methods that is used for this determination depends immediately on the state of preservation of skeletal sample. Thus, the use of the metacarpal and metatarsal bones for sex determination is judged necessary, particularly in cases where they are absent or are very worn out bones, as skull, pelvis and long bones.

Here are presented the biometric methods that were applied in bones of a contemporary skeletal series. The samples that were measured are of known sex and because of that became possible the later evaluation of the biometric methods. Generally, were measured the metacarpals (69 individuals) and metatarsals (71 individuals) bones from the Modern Greek Human Skeletal Reference Collection of the Laboratory of Biological Anthropology (Department of Animal & Human Physiology).

The measurements of metacarpal bones were based on Musgrave and Harneja (1999), as they are precisely reported by Falsetti (2000). With regard to the measurements of metatarsals, the measurements that were used are reported by Martin and Saller (1971), and Smith (1999). Then, it followed a statistical treatment of biometric data and was created equations of multiple regression.

The results of these equations for metacarpal or metatarsal bones constituted the criterion of segregation of individuals as male and female. In this way, knowing beforehand the sex of each individual, we could realise the precision of particular measurements generally and for each metacarpal or metatarsal bone separately. The limits of reliability of the results oscillated, with certain bones presenting higher precision and accordingly statistical value. Moreover, concrete measurements were found to have higher reliability in one sex that in the other.

ΕΠΑΓΩΓΗ ΑΥΤΟΑΝΟΣΗΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΤΙΔΑΣ ΣΕ AKR/J ΚΑΙ ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΑ HLA-DR3 ΠΟΝΤΙΚΙΑ ΜΕ ΤΗ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΠΕΠΤΙΔΙΟΥ ΤΗΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ ΘΥΡΕΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ

[1]Καρράς Ε., [2]Christadoss P., [3]Καραγιαννιώτης Γ., [1]Λυμπέρη Π.

[1]Εργαστήριο Ανοσολογίας, Τμ. Βιοχημείας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Αθήνα, Ελλάς, [2]Dept of Microbiology and Immunology, Univ. of Texas Medical Branch, Galveston, U.S.A., [3]Endocrinology Division, Memorial Univ. of Newfoundland, St. John's, Canada

Η αυτοάνοση πειραματική θυρεοειδίτιδα (ΕΑΤ), η οποία επάγεται από θυρεοσφαιρίνη ή πεπτίδια της θυρεοσφαιρίνης και ανοσοενισχυτικό, έχει μελετηθεί εκτεταμένα στον ποντικό και αποτελεί μοντέλο της ανθρώπινης νόσου (θυρεοειδίτιδα Hashimoto / HT).

Μελετήσαμε το πεπτίδιο της ανθρώπινης θυρεοσφαιρίνης p2340 (2340-2359), γνωστό από προηγούμενες μελέτες του εργαστηρίου, ως προς την ικανότητά του να διεγείρει Τ λεμφοκύτταρα και να προκαλεί ΕΑΤ σε ποντίκια AKR/J (H-2^k) και διαγονιδιακά HLA-DR3. Η παρουσία E^k και HLA-DR3 "μοτίβων" στην αλληλουχία του p2340, του προσδίδουν μεγάλες πιθανότητες πρόσδεσης σε τάξης ΙΙ μόρια του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC).

Ενέθηκαν έξι ποντίκια AKR/J και πέντε DR3 ηλικίας 6-8 εβδομάδων υποδορίως με 100 nmol p2340 σε πλήρες ανοσοενισχυτικό έκδοχο του Freund (CFA). Μετά από 9-11 μέρες έγινε λήψη των κυττάρων από λεμφαδένες, και εφαρμόστηκε δοκιμασία πολλαπλασιασμού (πρόσληψη ^{3}H-θυμιδίνης). Παράλληλα, εννέα AKR/J ποντίκια ενέθηκαν υποδορίως με 100 nmol πεπτιδίου/ζώο με CFA και μετά από 3 εβδομάδες με 50 nmol πεπτιδίου/ζώο σε απλό ανοσοενισχυτικό έκδοχο του Freund (IFA). Ιστολογική μελέτη έδειξε την επαγωγή ΕΑΤ, μέτριου βαθμού (δείκτης διήθησης του θυρεοειδούς 1-2 με μέγιστο το 4) σε όλα τα ποντίκια. Τέλος, υποδόρια ανοσοποίηση πέντε HLA-DR3 ποντικών με p2340 και CFA, έδειξε την επαγωγή ήπιας μορφής ΕΑΤ (με δείκτη διήθησης 1 έως 2) στα τέσσερα από τα πέντε ποντίκια που εξετάστηκαν.

Συνολικά, παρουσιάζονται στοιχεία για την παθογονικότητα του πεπτιδίου p2340 της ανθρώπινης θυρεοσφαιρίνης σε ποντίκια AKR/J και διαγονιδιακά HLA-DR3. Το πεπτίδιο μπορεί επομένως να παρουσιάζεται από DR3 μόρια ασθενών με θυρεοειδίτιδα Hashimoto και να συμμετέχει στην παθογένεια της νόσου.

INDUCTION OF EXPERIMENTAL AUTOIMMUNE THYROIDITIS IN AKR/J AND HLA-DR3 TRANSGENIC MICE BY A HUMAN THYROGLOBULIN PEPTIDE

[1]Karras E., [2]Christadoss P., [3]Carayanniotis G., [1]Lymberi P.

[1]Immunology Lab., Dept. of Biochemistry, Hellenic Pasteur Institute, Athens, Greece, [2]Dept. of Microbiology and Immunology, University of Texas Medical Branch, Galveston, U.S.A., [3]Div. of Endocrinology, Memorial University of Newfoundland, St. John's, Canada

Experimental autoimmune thyroiditis (EAT), can be induced by thyroglobulin (Tg) or thyroglobulin peptides in complete Freund's adjuvant (CFA) in genetically susceptible mice, and is used as animal model for Hashimoto's thyroiditis (HT).

In this study we tested the ability of the human Tg peptide p2340 (2340-2359), previously characterized in our lab, to stimulate a T cell response and induce EAT in AKR/J (H-2^k) and HLA-DR3 mice. The presence of several E^K and HLA-DR3 binding motifs within p2340, prompted us to investigate the binding capacity of p2340 to MHC class II molecules.

Six AKR/J and five DR3 mice, 6-8 weeks of age, were immunized s.c. with 100 nmol p2340 in CFA. Nine to eleven days later, lymph node cells were collected and proliferation assay was performed (incorporation of ^{3}H-thymidine). In parallel, nine AKR/J mice were injected s.c. with 100 nmol of p2340 per animal in CFA and 3 weeks later boosted with 50 nmol of p2340 per animal in incomplete Freund's adjuvant (IFA). Histological analysis of the thyroid glands showed induction of EAT, with an infiltrarion index of 1 to 2 in all mice. Finally, immunization of five HLA-DR3 mice with p2340 in CFA, resulted in mild EAT (infiltration index 1 to 2) at four out of five mice tested.

To summarize, we provide evidence about the pathogenicity of the human Tg peptide p2340 in AKR/J and transgenic HLA-DR3 mice. Therefore, p2340 could be presented by DR3 molecules in patients with HT and participate in the development of the disease.

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΙ ΜΟΡΦΟΜΕΤΡΙΑ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΗΣ ΕΥΡΩΠΑΪΚΗΣ ΑΣΤΑΚΟΚΑΡΑΒΙΔΑΣ (*H. gammarus* L.) ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ. ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΤΩΝ ΙΧΘΥΑΠΟΘΕΜΑΤΩΝ

Κατσαρές Β., Τριανταφυλλίδης Α., Αποστολίδης Α.Π., Κουβάτση Α., Τριανταφυλλίδης Κ.

Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., 54124 Θεσσαλονίκη. e-mail: triant@bio.auth.gr

Η Ευρωπαϊκή αστακοκαραβίδα (*Homarus gammarus*) αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα από οικονομική άποψη θαλάσσια είδη. Εντούτοις, ελάχιστες είναι οι πληροφορίες στη βιβλιογραφία σχετικά με τη γενετική σύσταση του είδους, ενώ η μοναδική μορφομετρική ανάλυση αφορά πληθυσμούς του Ηνωμένου Βασιλείου. Η γνώση της γενετικής σύστασης ενός είδους, σε συνδυασμό με μορφομετρικές αναλύσεις είναι βασικές παράμετροι για την αποτελεσματικότερη διαχείρισή του. Στη συγκεκριμένη εργασία, επτά πληθυσμιακά δείγματα από την Ελλάδα εξετάστηκαν με την ανάλυση του Τυχαία Ενισχυόμενου Πολυμορφικού DNA (Randomly Amplified Polymorphic DNA – RAPD) και με μορφομετρικές αναλύσεις. Για τη γενετική ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν τρεις εκκινητές που ήταν γνωστό ότι αποκάλυψαν πολυμορφισμό στην αμερικάνικη αστακοκαραβίδα (*H. americanus*). Η γενετική διαφοροποίηση που παρατηρήθηκε είναι σημαντική, καθώς τα πληθυσμιακά δείγματα του Αιγαίου διακρίνονται από αυτό του Ιονίου, αλλά και αυτά του Βορείου Αιγαίου από τα αντίστοιχα του Κεντρικού. Η ομαδοποίηση αυτή φαίνεται στο φυλογενετικό δέντρο UPGMA που κατασκευάστηκε. Οι μορφομετρικές αναλύσεις περιελάμβαναν 8 χαρακτηριστικά. Παρατηρήθηκαν κάποιες στατιστικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των πληθυσμιακών δειγμάτων των διαφόρων περιοχών. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με τη γενετική ανάλυση. Παρατηρήθηκαν μικρά πληθυσμιακά μεγέθη, ιδιαίτερα στο Ιόνιο, γεγονός που οφείλεται κυρίως σε υπεραλίευση. Τάσεις υπεραλίευσης διαπιστώθηκαν και στο Βόρειο Αιγαίο. Κρίνεται, επομένως, επιτακτική η ανάγκη διαφύλαξης των αυτόχθονων πληθυσμών της ευρωπαϊκής αστακοκαραβίδας στην Ελλάδα.

Το πρόγραμμα χρηματοδοτήθηκε από την Ε. Ε. (FAIR CT98-4266)

GENETIC ANALYSIS AND MORPHOMETRY IN GREEK POPULATIONS OF THE EUROPEAN LOBSTER (*H. gammarus* L). IMPLICATIONS FOR STOCK MANAGEMENT

Katsares V., Triantafyllidis A., Apostolidis A.P., Kouvatsi A., Triantaphyllidis C.

Department of Genetics, Development and Molecular Biology
School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-54124
Thessaloniki, Macedonia, Greece, e-mail: triant@bio.auth.gr

The European clawed lobster (*Homarus gammarus*) is one of the most commercially important marine species. However, very little information is available for its genetic structure, and furthermore, the only morphometric analysis so far deals with UK populations. The genetic structure, combined with morphometric analyses are of fundamental interest for the better management of a species. In this study, seven Greek population samples have been examined by means of Randomly Amplified Polymorphic DNA – RAPD, as well as morphometric analyses. Three primers that had revealed polymorphism in the American lobster (*H. americanus*) have been used for the genetic analysis. Significant genetic differentiation has been observed between the Aegean and the Ionian samples. Furthermore, Northern Aegean population samples were found to be different from those of the Central Aegean. This is evident in the UPGMA tree constructed. Morphometric analyses comprised 8 characteristics. Some statistically significant differences have been found among the population samples from different geographic regions. These results are in accordance with those from the genetic analysis. Small population sizes have been observed, especially in the Ionian, mainly due to overfishing in the past. Similar phenomena seem to take place in the Northern Aegean nowadays. Greek native populations should be protected.

This study was supported by the E. C. (FAIR CT 98-4266)

ΚΥΤΤΑΡΟΣΚΕΛΕΤΟΣ ΚΑΙ ΜΟΡΦΟΓΕΝΕΣΗ ΣΤΑ ΦΑΙΟΦΥΚΗ

Κατσαρός Χ.

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Απο την εποχή των πρώτων ερευνών στο πεδίο της Φυτικής Βιολογίας, η μεγάλη ποικιλία μορφολογικών τύπων που απαντούν στα Φύκη τα έχει καταστήσει πολύτιμη πηγή προτύπων για μορφογενετικές μελέτες. Μεταξύ αυτών τα Φαιοφύκη συνιστούν μια ομάδα, με ιδιαίτερη θέση στην εξελικτική διαδικασία. Ο θαλλός τους εμφανίζει μεγάλη ποικιλία μορφών τα δε κύτταρά τους παρουσιάζουν ιδιαίτερα χαρακτηριστικά στη δομή, την οργάνωση του κυτταροσκελετού και την διαίρεση. Η μορφογένεση σε κυτταρικό επίπεδο περιλαμβάνει διαδικασίες, στις οποίες εμπλέκονται κυρίως ο κυτταροσκελετός και η έκταση του τοιχώματος. Τα βλαστητικά κύτταρα των Φαιοφυκών στερούνται περιφερειακού κυτταροσκελετού μικροσωληνίσκων (ΜΣ) και χαρακτηρίζονται από την παρουσία κεντροσωματίων, τα οποία λειτουργούν ως κέντρα οργάνωσης όλων των ΜΣ του κυττάρου. Μελέτες με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο και ανοσοφθορισμό σε διάφορους κυτταρικούς τύπους Φαιοφυκών έδειξαν ότι οι ΜΣ συνιστούν βασικό κυτταροσκελετικό στοιχείο, απαραίτητο για την κυτταρική μορφογένεση. Εκτός της συμμετοχής τους στη μίτωση και την κυτοκίνηση, συμμετέχουν στην έκφραση και διατήρηση της πολικότητας ειδικών κυτταρικών τύπων. Αποδιοργάνωση των ΜΣ προκαλεί ανάσχεση της κυτταρικής αύξησης, διόγκωση ή και κάμψη της κορυφής και πάχυνση του τοιχώματος της κορυφής. Παράλληλα επηρεάζει τη σωστή τοποθέτηση του πυρήνα. Χρώση της F-ακτίνης με rhodamine-phalloidin σε βλαστητικά κύτταρα διαφόρων ειδών Φαιοφυκών αποκάλυψε ένα πλούσιο δίκτυο περιπυ-ρηνικών, ενδοπλασμικών και περιφερειακών μικρονηματίων ακτίνης (ΜΝΑ). Αυτά συμμετέχουν στη μίτωση με την οργάνωση ατράκτου ακτίνης και στην κυτοκίνηση με την δημιουργία ενός δίσκου ακτίνης. Συμμετέχουν επίσης στην διατήρηση της πολικότητας των ακραίων κυττάρων, καθώς και στη δημιουργία πλαγίων κλάδων. Το περιφερειακό σύστημα ΜΝΑ παρουσιάζει προσανατολισμό παράλληλο με αυτόν των μικροϊνιδίων κυτταρίνης (ΜΚ) του κυτταρικού τοιχώματος και ως εκ τούτου σχετίζεται με την κυτταρική μορφογένεση. Η παρατήρηση αυτή επιβεβαιώθηκε με πειραματικό αποπολυμερισμό των ΜΝΑ, ο οποίος προκάλεσε διατάραξη του προσανατολισμού των νεοαποτιθεμένων ΜΚ.

CYTOSKELETON AND MORPHOGENESIS IN BROWN ALGAE

Katsaros C.

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

Since the time of the first research studies in the field of Plant Biology, the great variety of forms occurring in algae made them a precious source of model systems for morphogenetic studies. Among them, brown algae constitute a particular group, with a special position in the evolutionary process. They possess particular thallus organization and a great variety in forms from uniseriate, branched filaments, to large thalli with a remarkable "tissue" organization. The brown algal cell shows also particular characteristics in structure, cytoskeleton organization and division process. Morphogenesis on a cellular level includes processes in which cytoskeleton and cell wall expansion are mainly involved. Vegetative cells of brown algae lack a cortical microtubule (MT) cytoskeleton, and are characterized by centriole-bearing centrosomes, which function as microtubule organizing centers of all the cell MTs. Extensive electron microscope and immunofluorescence studies of MT organization in different types of brown algal cells have shown that they constitute a major cytoskeletal component, indispensable for cell morphogenesis. Apart from participating in mitosis and cytokinesis, they are involved in the expression and maintenance of polarity of particular cell types. Disruption of MTs after nocodazole treatment inhibits cell growth, causing bulging and/or bending of the apical cell, thickening of the tip cell wall, and affecting the nuclear positioning. F-actin staining using rhodamine-phalloidin in vegetative cells of different brown algae has shown that AFs constitute a rich network consisting of perinuclear, endo-plasmic and cortical AFs. They participate in mitosis by the organization of an F-actin spindle and in cytokinesis by an F-actin disc. They are also involved in the maintenance of polarity of apical cells, as well as in lateral branch formation. The cortical system of AFs was found related with the orientation of cellulose microfibrils (MFs), and therefore with cell wall morphogenesis. This is expressed by the coincidence in the orientation between cortical AFs and the depositing MFs. Treatment with cyto-chalasin B inhibits mitosis and cytokinesis, as well as tip growth of apical cells, and causes abnormal deposition of MFs.

ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΠΙΚΡΑΤΗΣΗ ΤΩΝ ΠΛΑΓΚΤΙΚΩΝ ΚΥΑΝΟΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΣΤΗ ΛΙΜΝΗ ΒΟΛΒΗ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΒΡΟΧΕΡΗΣ ΘΕΡΙΝΗΣ ΠΕΡΙΟΔΟΥ ΤΟΥ 2002

Κατσιάπη Μ., Γκέλης Σ., Μουστάκα Μ., Λαναράς Θ.*

Τομέας Βοτανικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τ.Θ 109, 541 24 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα, (e-mail: lanaras@pp-mail.bio.auth.gr)*

Ο ευτροφισμός στις λίμνες συχνά συνοδεύεται από το φαινόμενο της άνθισης του νερού ιδιαίτερα κατά τους θερινούς μήνες του έτους. Είναι ακόμη γνωστό ότι η καλοκαιρινή ξηρασία ευννοεί την επικράτηση των κυανοβακτηρίων στο φυτοπλαγκτό λιμνών της Μεσογείου. Δεδομένα που αφορούν στις γρήγορες μεταβολές στην επικράτηση των ειδών των πλαγκτικών κυανοβακτηρίων που μπορεί να συμμετέχουν στο σχηματισμό άνθισης του νερού, είναι λιγοστά στον Ελλαδικό χώρο. Οι μεταβολές της σύνθεσης των ειδών των κυανοβακτηρίων, του βιοόγκου τους και της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης *a* στο νερό, παρατηρήθηκαν σε εβδομαδιαία βάση στη λίμνη Βόλβη, μια εύτροφη λίμνη, από τον Ιούλιο μέχρι τον Σεπτέμβριο του 2002. Αναγνωρίστηκαν είκοσι ταξινομικές μονάδες κυανοβακτηρίων με πιο άφθονη το είδος *Planktolyngbya limnetica*. Οι μέγιστες τιμές της χλωροφύλλης *a* (16,4 μg L^{-1}) και του συνολικού βιοόγκου των κυανοβακτηρίων (11,2 mL L^{-1}) παρατηρήθηκαν στις αρχές του Σεπτεμβρίου και στα τέλη του Ιουλίου αντίστοιχα. Κατά την περίοδο μελέτης παρατηρήθηκαν δύο ομάδες κυανοβακτηρίων: 1) Η ομάδα των κυανοβακτηρίων *Microcystis* cf. *aeruginosa*, *Chroococcus limneticus*, *Anabaena aphanizomenoides*, *Anabaena perturbata* και *Aphanizomenon* sp., των οποίων ο βιοόγκος παρουσίασε σημαντικές διακυμάνσεις και 2) Η ομάδα των κυανοβακτηρίων *Limnothrix* sp., *Planktolyngbya limnetica* και *Cylindrospermopsis raciborskii*, των οποίων ο βιοόγκος κινήθηκε σε σταθερά επίπεδα κατά την περίοδο της έρευνας. Κατά τη διάρκεια του βροχερού καλοκαιριού του 2002, οκτώ είδη κυανοβακτηρίων βρέθηκαν να κυριαρχούν. Τρία από αυτά (*P. limnetica*, *A. perturbata* και *A. aphanizomenoides*) βρέθηκαν να κυριαρχούν και κατά το βροχερό καλοκαίρι του 1986, σε αντίθεση με το ξηρό καλοκαίρι του 1985 όταν το *Aphanizomenon flos-aquae* ήταν το μόνο κυρίαρχο είδος. Φαίνεται ότι η βροχόπτωση επηρεάζει την αύξηση και επικράτηση των κυανοβακτηρίων κατά την θερινή περίοδο του έτους στη λίμνη Βόλβη.

FLUCTUATIONS IN CYANOBACTERIAL SPECIES DOMINANCE IN LAKE VOLVI, GREECE, DURING THE WET WARM PERIOD OF THE YEAR 2002

Katsiapi M., Gkelis S., Moustaka M., Lanaras T.*

*Department of Botany, Aristotle University of Thessaloniki, P.O. Box 109, GR-541 24 Thessaloniki, Greece, (*e-mail: lanaras@pp-mail.bio.auth.gr)*

Increasing eutrophication in lakes is a major cause of water bloom formation especially during the warm period of the year. Summer drought is known to promote cyanobacterial growth in Mediterranean lakes. Little is known about rapid changes in phytoplankton species composition and biovolume levels which may lead to water bloom formation. Planktic cyanobacterial species composition, biovolume and chlorophyll *a* concentration were studied on a weekly basis in Lake Volvi, a eutrophic lake of Northern Greece, from July to September of 2002. Twenty cyanobacterial taxa were identified with *Planktolyngbya limnetica* the most abundant species. Chlorophyll *a* reached peak value (16.4 μg L^{-1}) early in September whereas peak value of cyanobacterial biovolume (11.2 mL L^{-1}) was observed in late July. Two groups of dominant species were identified; 1) *Microcystis* cf. *aeruginosa*, *Chroococcus limneticus*, *Anabaena aphanizomenoides, Anabaena perturbata* and *Aphanizomenon* sp. which exhibited rapid fluctuations on their biovolume and 2) *Limnothrix* sp., *Planktolyngbya limnetica* and *Cylindrospermopsis raciborskii* which had fairly constant biovolumes during the study period. During the wet summer of 2002 eight cyanobacterial species were found to dominate. Three of these (*P. limnetica, A. perturbata* and *A. aphanizomenoides*) were also dominant during the wet summer of 1986. In contrast during the dry summer of 1985 *Aphanizomenon flos-aquae* was the only dominant cyanobacterial species. This indicates that rainfall has a marked effect on cyanobacterial growth during the warm period of the year.

ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΟΜΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΔΙΑΛΥΤΩΝ ΑΝΟΣΟΤΡΟΠΟΠΟΙΗΤΩΝ ΕΚΚΡΙ-ΝΟΜΕΝΩΝ ΑΠΟ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ

[1]Κατσούλας Χ.Λ., [2]Τσιτσιλώνη Ο., [1]Βουτσάς Γ.Φ., [3]Σαμιωτάκη Μ., [2]Μαργωμένου Λ.Μ., [1]Μπαξεβάνης Κ.Ν., [3]Παναγιώτου Γ., [1]Παπαμιχαήλ Μ.

[1]Κέντρο Ανοσολογίας και Ανοσοθεραπείας του Καρκίνου, Νοσοκομείο «Αγ. Σάββας», [2]Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Πανεπιστήμιο Αθηνών και [3]Ινστιτούτο «Αλέξανδρος Φλέμιγκ», Αθήνα.

Ανθρώπινα λεμφοκύτταρα ενεργοποιημένα *in vitro* με αντι-CD3 εκκρί-νουν στο υπερκείμενο της καλλιέργειας παράγοντες που επάγουν την κυτταροτοξικότητα ετερόλογων λεμφοκυττάρων υγιών και ασθενών[1] και προάγουν τον πολλαπλασιασμό των NK-T κυττάρων[2]. Για να προσδιορι-στούν τα σημαντικότερα διαλυτά μόρια, έγινε πρωτεομική ανάλυση των υπερκειμένων αυτών. Λεμφοκύτταρα φυσιολογικών δοτών καλλιεργήθη-καν σε θρεπτικό υλικό χωρίς ορό (PFHM) με (ACD3S) και χωρίς (ACS) αντι-CD3. Τα δείγματα ACD3S με την μεγαλύτερη ενεργότητα (1lt) και τα αντίστοιχα ACS συμπυκνώθηκαν (x100) και αναλύθηκαν με ηλεκτρο-φόρηση δύο διαστάσεων. Τα πηκτώματα εμφανίστηκαν με χρώση νιτρικού αργύρου. Τα πρωτεϊνικά σημεία με την εντονότερη χρώση από το πλούσιο σε πρωτεΐνες ACD3S πρότυπο[3,4], τρυψινοποιήθηκαν και το πεπτιδικό τους αποτύπωμα αναλύθηκε χρησιμοποιώντας nano-HPLC συνδεδεμένο με ES-MS. Κάθε πεπτιδικό αποτύπωμα διερευνήθηκε έναντι γνωστών βάσεων δεδομένων. Ταυτοποιήθηκε σειρά πρωτεϊνών, που διαχωρίζονται σε τρεις κατηγορίες: (α) κυτταροκίνες με ανοσορυθμιστικά χαρακτηριστικά (GM-CSF, IL-2, IL-4, IFN-γ), (β) μεμβρανικές πρωτεΐνες που πιθανόν υπάρχουν σε διαλυτή μορφή (α-αλυσίδα του TCR, αννεξίνη I) και (γ) διάφορες πρωτεΐνες (IGFI, LEG7), των οποίων η συμμετοχή στην κυτταροτοξικότητα μελετάται. Ιδια δείγματα αναλύθη-καν με τη μέθοδο των πρωτεϊνικών συστοιχιών (DiscoverLight™ Pierce). Ανιχνεύθηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν 9 χημειοκίνες, οι MIP1α, MIP1β, MCP1, RANTES, I309, TARC, Eotaxin, MDC και IL-8.

[1] Baxevanis CN, et al., (1997) *Br J Cancer,* 76:1072.
[2] Gritzapis AD, et al. (2001) *3rd Balkan Congress of Immunology,* P135, Athens.
[3] Κατσούλας Χ, et al. (2002) *24ο Πανελλήνιο Συνέδριο ΕΒΕΕ*, Ερέτρια.
[4] Katsoulas HL, et al. (2001) *Europ Res Conference,* San Feliu de Guixols, Spain.

APPLICATION OF PROTEOMICS IN THE STUDY OF SOLUBLE IMMUNOMODULATORS SECRETED UPON LYMPHOCYTE ACTIVATION

[1]Katsoulas H.L., [2]Tsitsilonis O.E., [1]Voutsas J.F., [3]Samiotaki M., [2]Margomenou L., [1]Baxevanis C.N., [3]Panayotou G., [1]Papamichail M.

[1]Cancer Immunology & Immunotherapy Center, St. Savas Cancer Hospital, [2]Department of Animal and Human Physiology, University of Athens and [3]B.S.R.C. "Alexander Fleming", Athens.

Human lymphocytes stimulated *in vitro* with anti-CD3 monoclonal antibody secrete in the culture supernatant agents which contribute to the enhancement of cytotoxicity of allogeneic normal donor- and cancer patient–derived lymphocytes[1] and induce the expansion of NK-T cells[2]. To identify the important soluble molecules responsible for the observed effects, these supernatants were subjected to proteomic analysis. Normal donor-derived lymphocytes from several individuals were cultured in protein-free medium (PFHM) in the presence (ACD3S) or absence (ACS) of anti-CD3. Highly active ACD3S samples (1 lt) and the respective ACS samples were concentrated (x100) and separated by 2D electrophoresis. Gels were stained by silver staining. The most highly stained protein spots were selected from the complex ACD3S profile[3,4], trypsinized and their peptide fingerprints analyzed using nano-HPLC serially connected to ES-MS. Each spectrum was analyzed by on-line similarity matches in up-dated databases. Several proteins were identified and classified into three main categories: (a) cytokines with immuno-regulatory properties (GM-CSF, IL-2, IL-4, IFN-γ); (b) membrane-bound molecules, potentially present in soluble form (T-cell receptor alpha chain, annexin I); and (c) a variety of agents (IGF1, LEG7), whose pote-ntial involvement in inducing target lysis is currently under investigation. The same supernatants were analyzed using protein arrays (Pierce, DiscoverLight™): 9 chemokines were identified and quantified, MIP1a, MIP1β, MCP-1, RANTES, I309, TARC, Eotaxin, MDC and IL-8.

[1] Baxevanis CN, et al., (1997) *Br J Cancer,* 76:1072.
[2] Gritzapis AD, et al. (2001) *3rd Balkan Congress of Immunology,* P135, Athens.
[3] Katsoulas HL, et al. (2002) *24th Panhellenic Conference EEVE*, Eretria.
[4] Katsoulas HL, et al. (2001) *Europ Res Conference,* San Feliu de Guixols, Spain.

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΗΣ ΛΙΓΝΙΝΟΛΥΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΜΑΚΡΟΜΥΚΗΤΩΝ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ

Καψανάκη-Γκότση Ε., Ζ. Γκόνου-Ζάγκου & Γ. Μπαρδαμάσκος

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Οικολογίας & Ταξινομικής, Πανεπιστημιούπολη 157 84 Αθήνα

Οι μακρομύκητες των ελληνικών δασών αποτελούν ένα πολύτιμο βιολογικό υλικό που μπορεί να αξιοποιηθεί σε πλήθος βιοτεχνολογικών εφαρμογών. Ιδιαίτερα η χρήση στελεχών μακρομυκήτων με λιγνινολυτική ικανότητα στη βιοεξυγίανση εδαφών που έχουν επιβαρυνθεί με οργανικούς ρύπους, αποτελεί μια αποδοτική, αειφόρο και οικονομικά ελκυστική εναλλακτική μέθοδο. Είναι σημαντικό σε εφαρμογές σε τοπική κλίμακα, να χρησιμοποιούνται αυτόχθονα στελέχη μυκήτων ώστε να αποφεύγεται η εισαγωγή ξενικών ειδών τόσο σε φυσικά οικοσυστήματα όσο και σε οικοσυστήματα με ανθρωπογενείς επιδράσεις.

Στην παρούσα εργασία συλλέχθηκαν 49 δείγματα μακρομυκήτων από διάφορες τοποθεσίες κυρίως στις ορεινές περιοχές της Δίρφης, της Πάρνηθας και του Ταϋγετου, κατά τη διάρκεια του έτους 2001. Οι μακρομύκητες προσδιορίστηκαν και 22 στελέχη απομονώθηκαν σε καθαρή καλλιέργεια. Για κάθε στέλεχος μετρήθηκε ο ρυθμός ανάπτυξης σε τρία θρεπτικά μείγματα. Η συνθετική χρωστική ουσία Poly R-478 χρησιμοποιήθηκε ως δείκτης της λιγνινολυτικής ικανότητας. Αποχρωματισμός της χρωστικής παρατηρήθηκε σε 11 από τα 22 στελέχη που δοκιμάστηκαν. Τα πιο αποτελεσματικά στον αποχρωματισμό, ανήκουν σε είδη των γενών *Pleurotus, Pholiota* και *Hypholoma*. Ο αποχρωματισμός του Poly R-478 αποτελεί ένδειξη ότι τα στελέχη αυτά διαθέτουν λιγνινολυτικά ένζυμα (υπεροξειδάσες, λακκάση) και είναι πιθανώς κατάλληλα να χρησιμοποιηθούν για τη βιοαποικοδόμηση επικίνδυνων περιβαλλοντικών ρύπων.

Όλα τα στελέχη έχουν κατατεθεί στη Συλλογή Καλλιεργειών Μυκήτων ATHUM του Πανεπιστημίου Αθηνών.

SCREENING OF MACROMYCETES OF GREECE FOR LIGNINOLYTIC ACTIVITY

Kapsanaki-Gotsi E., Z. Gonou-Zagou & G. Bardamaskos

University of Athens, Department of Biology, Section Ecology & Systematics, Panepistimiopolis, GR-157 84 Athens, Greece

The macrofungi in the forests of Greece, constitute a valuable biological resource for biotechnological exploitation. Especially the use of strains of macromycetes for the bioremediation of soil contaminated with organopollutants, is a promising solution to the pollution problem as an efficient, sustainable and economically attractive alternative method. It is important for the optimal application of fungi in bioremediation processes in a regional scale, to use indigenous fungal strains in order to avoid the introduction of exotic species in natural or man-made ecosystems.

In this study, a total of 49 specimens of macromycetes have been collected from several sites mainly in the mountainous regions of Dirfys, Parnitha and Taygetos in Greece, during the year 2001. The macromycetes have been identified and 22 strains have been isolated in pure culture. The growth rate has been measured for each strain in three culture media. The synthetic dye Poly R-478 has been used as a ligninolytic indicator. Decolourization of the dye has been observed in 11 out of the 22 strains which have been tested. The most efficient degraders are species of the genera *Pleurotus, Pholiota,* and *Hypholoma*. The decolourization of the Poly R-478 is an indication that these strains are capable to produce lignin-modifying enzymes (peroxidases, laccase) and could be promising candidates for the biodegradation of hazardous environmental pollutants.

All the strains are deposited in the ATHUM Culture Collection of Fungi in the University of Athens.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΚΑΙ ΘΕΡΜΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΤΙΣ MAPKS ΤΟΥ *Mytilus galloprovincialis*

Κεφαλογιάννη Ε., Κωτσάκης Ε., Φερλέ Β., Γαϊτανάκη Κ. και Μπέης Ι.

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Ε.Κ.Π.Α.

Τα θαλάσσια ασπόνδυλα και ιδιαίτερα το κοινό μύδι, αποτελούν ιδανικά πειραματόζωα για τη μελέτη της επίδρασης του περιβαλλοντικού στρες στην ενδοκυτταρική μεταγωγή μηνυμάτων. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση βαρέων μετάλλων και θερμικού στρες στην ενεργοποίηση των MAPKs, στο μανδύα του θαλάσσιου ασπόνδυλου *Mytilus galloprovincialis*. Επίδραση με 1 μM $CuCl_2$ είχε ως αποτέλεσμα τη γρήγορη (από το 15° λεπτό), προοδευτική ενεργοποίηση της p38-MAPK, με μέγιστο κατά το 30° λεπτό, ενώ ακολούθησε μείωση της ενεργοποίησης της κινάσης. Το χρονικό πρότυπο ενεργοποίησης των κινασών της υποοικογένειας ERKs ήταν αντίστοιχο. Επίδραση με 50 μM $ZnCl_2$ οδήγησε σε γρήγορη και παρατεταμένη ενεργοποίηση της p38-MAPK (μέχρι και 2 ώρες). Οι ERKs επίσης ενεργοποιούνται μετά από επίδραση ψευδαργύρου. Η υποθερμία (4°C) είχε ως αποτέλεσμα τη σταδιακή (από το 5° ήδη λεπτό) ενεργοποίηση της p38-MAPK, με μέγιστο μετά από 30 λεπτά, ενώ οι ERKs φαίνεται να ενεργοποιούνται ασθενώς κάτω από τις συνθήκες αυτές. Αντίθετα, η υπερθερμία (30°C) οδήγησε σε λίγο καθυστερημένη, ενεργοποίηση της p38-MAPK (15° λεπτό), η οποία παρουσιάζει μέγιστο κατά το 30° λεπτό και διατηρείται ακόμη και μετά από δύο ώρες. Σε πειράματα ελέγχου της προσθετικής επίδρασης χαλκού και θερμικού στρες, βρέθηκε ότι μόνο στην περίπτωση της υπερθερμίας, η προσθήκη χαλκού οδήγησε σε αύξηση της ενεργοποίησης της p38-MAPK. Με βάση τα αποτελέσματα της μελέτης, συζητείται ο ρόλος των MAPKs στην πιθανή προστασία του οργανισμού αυτού σε καταστάσεις περιβαλλοντικού στρες.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από το Εμπειρίκειο Ίδρυμα Αθηνών και τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του ΕΚΠΑ

EFFECTS OF HEAVY METALS AND THERMAL STRESS ON THE MAPKs OF *Mytilus galloprovincialis*

Kefaloyianni E., Kotsakis E., Ferle V., Gaitanaki C. and I. Beis

Dept. of Animal and Human Physiology, School of Biology, University of Athens

Marine invertebrates, and especially the common mussel, represent ideal experimental models for studies of the environmental stress effects on the intracellular signal transduction. In the present study, the effects of various heavy metals and thermal stress on the activation of MAPKs in *M. galloprovincialis* mantle muscle were studied. 1 μM $CuCl_2$ induced a rapid activation of p38-MAPK with a maximal within 30 min and a progressive inactivation thereafter. The time course of ERKs under these conditions was parallel. On the contrary, 50 μM $ZnCl_2$, induced a rapid and prolonged activation (up to 2 hours) of the kinases. Hypothermia (4°C), induced the activation of p38-MAPK with a different time course. Maximal phosphorylation of the kinase was attained within 30 min of hypothermia, whereas ERKs were only slightly activated by this form of stress. On the other hand, hyperthermia (30°C) resulted in a delayed but sustained activation of p38-MAPK. In control experiments, hyperthermia, but not hypothermia, along with 1 μM $CuCl_2$ had additive effect on the activation of p38-MAPK. Based on the results of this study, the role of MAPKs on the possible protective mechanisms against various forms of environmental stress is discussed.

This work was supported by grants from the Special Research Account of Athens University and the Empeirikio Foundation of Athens

Η ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ GH, IGF-I ΚΑΙ PRL ΣΤΗΝ *IN VITRO* ΩΡΙΜΑΝΣΗ (IVM) ΩΑΡΙΩΝ ΕΠΙΜΥΩΝ

[1]Κιαπέκου Ε., [2]Μπερέτσος Π., [1]Μπλέτσα Ρ., [2]Κουσουλάκος Σ., [1]Λουτράδης Δ.

[1]Α΄ Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, ΓΝΑ "Αλεξάνδρα", Αθήνα. [2]Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Η ωρίμανση των ωαρίων είναι χρονοβόρα και σύνθετη διαδικασία η οποία δεν έχει διερευνηθεί και αναλυθεί πλήρως. Αν και τα τελευταία χρόνια έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος στον τομέα της *in vitro* ωρίμανσης (IVM) ωαρίων, εντούτοις οι γνώσεις μας είναι ακόμα ελλειπείς. Έχει όμως διαπιστωθεί ότι, αρκετοί από τους κλασικούς αυξητικούς παράγοντες επηρεάζουν τη διαδικασία της ωρίμανσης των ωαρίων. Σκοπός της μελέτης αυτής είναι να διερευνήσουμε την επίδραση της αυξητικής ορμόνης (GH), του ινσουλινοειδούς αυξητικού παράγοντα-Ι (IGF-I) και της προλακτίνης (PRL) στην IVM ωαρίων επίμυων, επειδή είναι γνωστή η συνεργασία αυτών των τριών παραγόντων στη ρύθμιση ποικίλων φυσιολογικών διεργασιών.

Τα ανώριμα ωάρια στο στάδιο του βλαστικού κυστιδίου (GV, germinal vesicle) τα οποία δεν περιβάλλονται από κοκκώδη κύτταρα ελήφθησαν από τις ωοθήκες θηλυκών επίμυων με παρακέντηση. Στη συνέχεια καλλιεργήθηκαν σε υλικό Ham's F-10 στο οποίο είχαν προστεθεί αυξητικοί παράγοντες σε διάφορες συγκεντρώσεις και συνδυασμούς, ενώ σε κάθε πείραμα υπήρχε μάρτυρας (ομάδα ελέγχου). Η παρατήρηση των ωαρίων διήρκεσε 72 ώρες, η δε εμφάνιση του πρώτου πολικού σωματίου χαρακτηρίζει την ολοκλήρωση της ωρίμανσης.

Το 44% ± 3% των GV ωαρίων στα δείγματα της ομάδας ελέγχου εμφάνισε πολικό σωμάτιο. Μετά την προσθήκη αυξητικών παραγόντων το ποσοστό αυτό αυξήθηκε σημαντικά. Τα υψηλότερα ποσοστά ωρίμανσης παρατηρήθηκαν με προσθήκη IGF-1, 10ng/ml + PRL 400ng/ml (72% ± 4%), IGF-1, 50ng/ml + PRL, 100ng/ml (81% ± 3%), GH, 0.2μg/ml + PRL 200ng/ml (77% ± 5%), PRL 500 ng/ml (73% ± 6%).

Από τη μελέτη αυτή διαπιστώνεται ότι, τα ποσοστά ωρίμανσης των ωαρίων με την προσθήκη αυξητικών παραγόντων είναι σημαντικά και δοσοεξαρτώμενα. Σε συγκεκριμένους μάλιστα συνδυασμούς ουσιών τα αποτελέσματα είναι θεαματικά. Η IVM μελλοντικά θα μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε ανθρώπινα ωάρια έτσι ώστε μια ομάδα επιλεγμένων ασθενών να μη λαμβάνει ωορρηκτικά φάρμακα.

THE STIMULATORY EFFECTS OF GH, IGF-1 AND PRL ON *IN VITRO* MATURATION OF OOCYTES IN MICE

[1]Kiapekou E., [2]Beretsos P., [1]Bletsa R., [2]Kousoulakos S., [1]Loutradis D.

[1]Division of Reproductive Medicine, First Department of Obstetrics and Gynecology, Athens University Medical School, Athens, Greece
[2]Department of Biology, University of Athens, Athens, Greece

Oocyte maturation is a long and complex process that has not been completely elucidated yet. To unravel *in vivo* maturation we exploit methods such as *in vitro* maturation (IVM), which usually result in poor maturation rates. Many hormones and growth factors are known to be involved in this process, although their exact effects and mechanisms of function on follicular growth and oocyte maturation are still unclear. In this study, we investigated the effects of three major factors [Growth Hormone (GH), Insulin-like Growth Factor Type I (IGF-1) and Prolactin (PRL)] on the IVM rate of mice oocytes, since these hormones work in concert to regulate various physiological processes.

Immature oocytes at the germinal vesicle (GV) stage of development and not surrounded by cumulus cells, were obtained from 2– to 8 – week-old female mice. The collected oocytes were cultured in Ham's F-10 medium. Growth factors were added (single or in combination and various concentrations), while plain medium cultures served control purposes. Oocyte development was assessed for 72 hours and maturation was considered completed after the appearance of the first polar body.

Approximately 44% ± 3% of GV mouse oocytes formed a polar body in control samples. The addition of growth factors results in significant increase of the maturation figures. The highest maturation rate was achieved after addition of: IGF-1 50 ng/ml + PRL 100 ng/ml (81% ± 3%), GH 0.2 μg/ml + PRL 200 ng/ml (77% ± 5%), IGF-1 10 ng/ml + PRL 400 ng/ml (72% ± 4%) and PRL 500 ng/ml (73% ± 6%).

The results obtained suggest that the maturation rate of mouse GV oocytes is influenced by the presence of certain growth factors (GH, IGF-1 and PRL) in a dose-dependent manner. In fact, certain concentrations and combinations of the growth factors induce rather significant increases in the oocyte maturation rate, compared to control. This preliminary study strongly supports the utilization of IVM in reproductive technology and opens a new way in this field with the exploitation of growth factors during oocyte maturation.

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΣΕ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΤΟΥ ΕΔΩΔΙΜΟΥ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΟΥ *Helix aspersa* ΠΟΥ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΖΟΥΝ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΗΣ ΕΝΤΑΣΗΣ ΣΠΕΡΜΑΤΙΚΟ ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΜΟ:ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Κοεμτζόπουλος Ε., Στάικου Α.

Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 541 24 Θεσσαλονίκη

Ο σπερματικός ανταγωνισμός θεωρείται ως μια συνιστώσα της φυλετικής επιλογής που μπορεί να δρά στα ερμαφρόδιτα ζώα. Σύμφωνα με τα θεωρητικά μοντέλα, σε πληθυσμούς ερμαφρόδιτων σαλιγκαριών, τα οποία εμφανίζουν χαμηλή κινητικότητα, αναμένεται ο σπερματικός ανταγωνισμός να είναι πιο έντονος όσο πιο μεγάλη είναι η πυκνότητα του πληθυσμού εφόσον τα ζώα σε πυκνότερους πληθυσμούς έχουν περισσότερες ευκαιρίες να βρούν σύντροφο και να ζευγαρώσουν. Θελήσαμε να ελέγξουμε την υπόθεση αυτή σε πληθυσμούς του εδώδιμου σαλιγκαριού Helix aspersa. Επιλέξαμε τρείς πληθυσμούς από την περιοχή Ναυπάκτου, και δύο πληθυσμούς από την περιοχή Ναυπλίου.

Τα ζώα συλλέχθηκαν στο τέλος καλοκαιριού, πριν την έναρξη της αναπαραγωγικής περιόδου, μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο όπου μαρκαρίστηκαν ατομικά και τοποθετήθηκαν σε γυάλινα κουτιά, στα οποία η υγρασία κρατήθηκε υψηλή (περίπου 90%), κάτω από φυσικές συνθήκες θερμοκρασίας και φωτισμού. Τα ζώα παρακολουθούνταν σε όλη τη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου και καταγράφονταν οι παράμετροι αναπαραγωγής τους: αριθμός ζευγαρωμάτων, διάρκεια ζευγαρώματος, χρονική διάρκεια μεταξύ διαδοχικών ζευγαρωμάτων, χρονική διάρκεια διαδοχικών φάσεων του κάθε ζευγαρώματος, αριθμός ωαποθέσεων, χρονική διάρκεια μεταξύ ζευγαρώματος και ωαπόθεσης, μέγεθος ωαποθέσεων, μέγεθος αυγών, εκκολαπτική επιτυχία, βιωσιμότητα στο χρονικό διάστημα του πρώτου σαρανταημέρου.

Η σύγκριση μεταξύ των δύο περιοχών, έδειξε ότι τα ζώα από τη περιοχή της Ναυπάκτου ζευγάρωναν περισσότερες φορές αλλά για μικρότερο χρονικό διάστημα από ότι τα ζώα από την περιοχή του Ναυπλίου. Σύγκριση των πληθυσμών της ίδιας περιοχής μεταξύ τους απεκάλυψε διαφορές που πιθανά μπορούν να αποδοθούν στην διαφορετική πυκνότητα τους.

REPRODUCTIVE PARAMETERS IN POPULATIONS OF THE EDIBLE LAND SNAIL *Helix aspersa*, WHICH FACE SPERM COMPETITION OF VARIABLE INTENSITY: PRELIMINARY RESULTS

Koemtzopoulos E., Staikou A.

Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 541 24 Thessaloniki

Sperm competition is considered as one of the processes that give rise to sexual selection in hermaphrodites. According to the theory, in hermaphroditic land snail populations, which are characterized by restricted mobility, sperm competition is expected to be more intense in populations of higher density, since in dense populations individuals have more chances to find a partner and mate. We tried to test this hypothesis in natural populations of the edible land snail Helix aspersa. We chose three populations from the area of Nafpactos in central Greece and two populations from the area of Nafplion, in Pelloponessos.

The animals were collected at the end of August, before the beginning of the reproductive period, and were transferred to the laboratory. They were marked individually and placed in glass boxes, in which humidity was maintained at high levels (approximately 90%), and under natural conditions of temperature and photoperiod. The animals were observed continuously during their reproductive period and the reproductive parameters recorded were: number of copulations, duration of copulations, time interval between copulations, duration of the different phases of copulations, number of clutches, clutch size, size of eggs, time interval between last copulation and oviposition, hatching success and survival of hatchlings within the first forty days.

A preliminary analysis of our results revealed a difference in number and duration of copulations between the two areas, that is, snails from Nafpaktos mated more frequently than snails from Nafplion but their copulations lasted less. Comparison of the reproductive parameters among the different populations of the same area revealed variations, which could be explained by the difference in population density.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΙΑΣ ΜΕΤΑΠΥΡΙΚΗΣ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΤΙΚΗΣ ΠΡΑΚΤΙΚΗΣ ΣΤΗ ΦΥΣΙΚΗ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ ΔΑΣΟΥΣ ΧΑΛΕΠΙΟΥ ΠΕΥΚΗΣ. Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΙΑΒΡΩΤΙΚΩΝ ΚΟΡΜΟΔΕΜΑΤΩΝ

Κολοκυθοπούλου Φ., *Αριανούτσου Μ.

*Τομέας Οικολογίας -Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 15784 Ιλίσια, * marianou@biol.uoa.gr*

Η φωτιά είναι ένας περιβαλλοντικός παράγοντας ενσωματωμένος στη λειτουργία των Μεσογειακών οικοσυστημάτων. Παρόλα αυτά στις περιπτώσεις όπου η συχνότητα της φωτιάς είναι μεγάλη, μπορεί να υπάρξουν και αρνητικές επιπτώσεις. Μιά από αυτές είναι η επιφανειακή απόπλυση και η συνεπακόλουθη διάβρωση των εδαφών. Η εφαρμογή των κορμοδεμάτων αποτελεί την κυριότερη αντιδιαβρωτική μεταπυρική πρακτική σε μια προσπάθεια περιορισμού των κινδύνων αυτών. Τα κορμοδέματα αποτελούνται από κορμούς των καμένων δένδρων, (συνήθως της ίδιας περιοχής που κάηκε), οι οποίοι τοποθετούνται σε εδάφη με μέτρια ή μεγάλη κλίση κατά την κατεύθυνση των ισοϋψών. Η πρακτική αυτή ασκείται κυρίως σε επικλινή εδάφη που βρίσκονται στην πορεία του νερού μιας λεκάνης απορροής ή κοντά σε οικισμούς. Παρόλη την προφανή αναγκαιότητα αυτής της μεταπυρικής πρακτικής, προκύπτει το ερώτημα για το αν αυτή επηρεάζει τη φυσική αναγέννηση, μέσω του σχηματισμού μικροενδιαιτήματος που προκύπτει από τη συσσώρευση φερτών υλικών στο πάνω μέρος του κορμού.

Για να ελέγξουμε το ερώτημα αυτό σχεδιάστηκε ένα πείραμα πεδίου στην περίπτωση μιας φυσικής πυρκαγιάς που συνέβη το καλοκαίρι του 2000 στην Πεντέλη. Επιλέχθηκαν πέντε θέσεις δειγματοληψίας εντός των περιοχών με ώριμο δάσος που κάηκε στη φωτιά του 2000. Στις θέσεις αυτές εγκαταστάθηκαν διατομές συνολικού μήκους 100 μέτρων κατά μήκος των κορμοδεμάτων. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια της αυξητικής περιόδου το έτους 2002. Κατά μήκος των διατομών και σε πλάτος μέχρι και 40cm εκατέρωθεν του κορμοδέματος, καταγράφηκε η παρουσία όλων των ειδών καθώς και οι πυκνότητες των *Pinus* και *Cistus*. Το είδος *Pinus halepensis* και οι εκπρόσωποι του γένους *Cistus* εμφανίζουν μεγαλύτερη πυκνότητα στο τμήμα της ζώνης κάτω από το κορμόδεμα. Τέλος, σε ότι αφορά στη σύνθεση των φυτικών πληθυσμών, οι παράγοντες που φαίνεται ότι είναι υπεύθυνοι για την ταξιθέτησή τους ως προς τις θέσεις δειγματοληψίας, είναι η απόσταση των θέσεων από το δασικό δρόμο καθώς και ο προσανατολισμός τους.

IMPACT OF POST-FIRE MANAGEMENT PRACTICES ON THE NATURAL REGENERATION OF *Pinus halepensis* FORESTS: THE CASE OF LOG DAMS

Kolokythopoulou F., *Arianoutsou M.

*Department of Ecology and Systematics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 15784, * marianou@biol.uoa.gr*

Fire is an environmental factor incorporated in the processes of Mediterranean ecosystems. However, fire can also have harmful effects. Among these, runoff and soil erosion are the most detrimental, especially when fire regime is too frequent and post-fire vegetation cover is too low. One of the most recently developed management practices aiming at the prevention of post-fire runoff and soil erosion is the construction of wooden dams (log dams). These dams are made of the burned tree trunks and they are established in sequence along the contour lines of the slope. Usually they are placed in slopes with high inclination, located in the route of a drainage network or neighboring with housing areas. Although the necessity of this practice seems obvious, the effects of its application on the post-fire regeneration process are still unknown.

The sediments of the soil transported by the torrential rains are trapped by the log dam on its upper part, thus creating a microhabitat different from that of the lower part. The working hypothesis is that this microhabitat may affect the patterns of post-fire regeneration. This hypothesis was tested on an area of Penteli Mountain burned by summer fire on the year 2000. Log dams were constructed over several slopes of the area in autumn of the same year. Five sites were selected for study, all presenting typical cases of such constructions. In these sites, transects of 100 m total length were established along the log dams. Plant taxa occurring in two zones of 40 cm width above and below the log were recorded; densities of *Pinus halepensis* and *Cistus* spp. populations were also measured during spring of 2002.

Pinus halepensis and *Cistus* spp. populations showed higher density in the zone above the log. No remarkable change was detected in the plant species composition between the two distinct microhabitats. It seems that from the environmental parameters examined, the position on the slope and the aspect are the most critical in defining the ordination of plant communities in the sites studied.

ΚΑΤΕΥΘΥΝΟΜΕΝΟΣ ΕΞΕΛΙΚΤΙΚΟΣ ΑΝΑΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΚΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΠΟΤΟΞΙΝΩΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ

Κοτζιά Γ., Αξαρλή Ε., Σφέτσας Χ., Γεωργιάδου Χ., Δαλακούρας Θ., Λάμπρου Ν.Ε.

Εργαστήριο Ενζυμικής Τεχνολογίας, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά οδός 75, 11855-Αθήνα

Το ένζυμο *L-ασπαραγινάση* από τα βακτήρια *E. chrysanthemi* και *E. coli* έχει αποδειχθεί πολύ αποτελεσματικό στις περισσότερες των περιπτώσεων λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας. Το ένζυμο απαλογονάση των αλκυλαλογονιδίων καταλύει την υδρολυτική απαλογόνωση ποικιλίας τοξικών αλκυλαλογονιδίων σε περιβαλλοντικά ακίνδυνες ενώσεις.

Πραγματοποιήθηκε κλωνοποίηση και ετερόλογη έκφραση των ενζύμων L-ασπαραγινάση από *E. chrysanthemi* and *E. carotovora*, και απαλογονάση των αλκυλαλογονιδίων από *B. japonicum* και *M. loti* σε ανασυνδυασμένα κύτταρα *E. coli*. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε σχεδιασμός και σύνθεση βιβλιοθήκης αμινοξικών-μιμητικών προσροφητών σε ακινητοποιημένη 2,4,6-τριχλωροτριαζίνη. Τα χρωματογραφικά αυτά υλικά εφαρμόστηκαν στην ανάπτυξη ταχείας διεργασίας καθαρισμού των ενζύμων με χρωματογραφία συγγένειας.

Μοριακός ανασχεδιασμός των ενζύμων πραγματοποιήθηκε εφαρμόζοντας ορθολογιστική και συνδυαστική προσέγγιση. Εφαρμόστηκε κατευθυνόμενη μεταλλαξογένεση και η μέθοδος 'DNA shuffling' χρησιμοποιώντας δομικές πληροφορίες από τη στερεοδιάταξη των ενζύμων που προέκυψαν με εφαρμογή βιοϋπολογιστικών προσεγγίσεων. Οι ανασχεδιασμένες μορφές της L-ασπαραγινάσης και απαλογονάσης με αυξημένη ενζυμική δραστικότητα, συγγένεια με το υπόστρωμα και σταθερότητα μπορούν να βρουν εφαρμογή, αντίστοιχα, στη θεραπεία της λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας και στην αποικοδόμηση τοξικών ενώσεων σε περιβαλλοντικά ακίνδυνες.

DIRECTED EVOLUTION AND REDESIGN THE SPECIFICITY OF THERAPEUTIC AND DETOXIFYING ENZYMES

Kotzia G., Axarli E., Sfetsas X., Georgiadou X., Dalakouras T., Labrou N.E.

Laboratory of Enzyme Technology, Department of Agricultural Biotechnology, Agricultural University of Athens, 75 Iera Odos, 11855-Athens, Greece

Microbial L-asparaginases are recognized as one of the basic drugs for the treatment of acute lymphoblastic leukemia. L-Asparaginase that comes from different biological sources exhibits different pharmacokinetic properties, and tendency to induce side-effects.

Haloalkane Dehalogenases are bacterial enzymes that catalyse hydrolytic dehalogenation of broad range of halogenated compounds. The interest initially centred around the importance of these enzymes for environmental detoxification studies.

Using recombinant DNA technology cloning and high-level expression of L-asparaginase, from *E. chrysanthemi* and *E. carotovora,* and haloalkane dehalogenase, from *B. japonicum* and *M. loti* in *E. coli* cells were achieved. Also, effective purification methods for the recombinant enzymes were developed based on affinity chromatography on synthetic biomimetic 2,4,6-triazine-based amino acid analogues.

On the basis of rapid *in vitro* evolution, novel forms of L-asparaginase and haloalkane dehalogenase with useful enzymatic, biological or pharmacological properties were created. This was realised by coupling rational sequential design, and 'DNA shuffling' with information derived from X-ray crystallography, molecular modelling and molecular dynamics simulations. The novel improved forms of L-asparaginase and haloalkane dehalogenase may be used for the development of improved antitumour pharmaceutical preparation and as a tool for bioremediation of organic pollutant, respectively.

Η ΠΡΩΤΕΪΝΗ BMP0 ΤΟΥ ΜΕΤΑΞΟΣΚΩΛΗΚΑ *Bombyx mori* ΠΡΟΣΔΕΝΕΤΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΣΤΟ ΡΙΒΟΣΩΜΙΚΟ ΜΙΣΧΟ ΤΟΥ ΖΥΜΟΜΥΚΗΤΑ *Saccharomyces cerevisiae*, ΑΠΟΥΣΙΑ ΤΩΝ ΟΞΙΝΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ YP1 ΚΑΙ YP2

Κουγιανού-Κουτσούκου Σ., Κολιαράκη Β.

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστημιόπολη, 157 01 Αθήνα

Το cDNA της πρωτεΐνης BmP0 του ριβοσωμικού μίσχου του μεταξοσώληκα *Bombyx mori* απομονώθηκε απο μια cDNA βιβλιοθήκη, ενώ τα cDNAs των υπόλοιπων πρωτεϊνών του μίσχου BmP1 και BmP2 κατασκευάσθηκαν με RT-PCR. Η πρωτεΐνη BmP0 εκφράσθηκε αρχικά σε κύτταρα *Escerichia coli*, και η ανασυνδυασμένη πρωτείνη είχε Μ.Β. περίπου 34 kDa, ελαφρώς μικρότερο από την YP0 πρωτείνη του *S. cerevisiae*. Στη συνέχεια, η πρωτεΐνη BmP0 εκφράσθηκε στο κατά συνθήκη μεταλλαγμένο στέλεχος D67dGP0 του ζυμομύκητα *S. cerevisiae*, του οποίου επι πλέον τα ριβοσώματα δεν διαθέτουν τα υπόλοιπα συστατικά του μίσχου, τις όξινες πρωτείνες YP1/YP2. Το μεταλλαγμένο στέλεχος κατόρθωσε να αναπτυχθεί σε περιοριστικές συνθήκες, υποδεικνύοντας ότι η BmP0 πρωτεΐνη μπορεί να προσδεθεί στα ριβοσώματα του ζυμομύκητα απουσία των YP1/YP2 πρωτεϊνών και να αποκαταστήσει την απουσία της ενδογενούς YP0 πρωτείνης. Η ικανότητα πρόσδεσης των συστατικών του ριβοσωμικού μίσχου στα ριβοσώματα του μεταξοσκώληκα *B.* mori μελετήθηκε επίσης με κατεργασία με υψηλή συγκέντρωση άλατος. Η πρωτείνη BmP0 παρέμεινε συνδεδεμένη στα ριβοσώματα, υποδηλώνοντας μια στενή σύνδεση με το rRNA, αντίθετα με τις όξινες πρωτείνες που απελευθερώνονταν εύκολα. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η πρωτείνη BmP0 δεν απαιτεί την παρουσία των όξινων πρωτεϊνών P1/P2 για την σύνδεσή της στο ριβόσωμα. Περαιτέρω ανάλυση των όξινων πρωτείνών BmP1 και BmP2 με ηλεκτροφόρηση ισοηλεκτρικής εστίασης παρουσία αμφολυτών, pH 2.5-5.0, έδειξε *pI* 4.0 (BmP2) and *pI* 3.0 (BmP1), ενώ κατεργασία με αλκαλική φωσφατάση απεκάλυψε ότι οι πρωτεΐνες BmP1 και BmP2 βρίσκονται φωσφορυλιωμένες στα ριβοσώματα.

Το πρόγραμμα αυτό χρηματοδοτήθηκε από τον ΕΛΚΕ της Επιτροπής Ερευνών του Πανεπιστημίου Αθηνών.

PROTEIN BMP0 FROM THE SILKWORM Bombyx mori CAN BE ASSEMBLED AND IS FUNCTIONAL IN THE Saccharomyces cerevisiae RIBOSOMAL STALK IN THE ABSENCE OF THE ACIDIC YP1 AND YP2 PROTEINS

Kouyanou-Koutsoukou S., Koliaraki V.

University of Athens, Department of Biology, Division of Genetics and Biotechnology, Panepistimiopolis, 15701 Athens, Greece.

The cDNA of the ribosomal stalk protein BmP0 of the silkworm *Bombyx mori* was isolated from a cDNA library, while the cDNAs of the other stalk components BmP1 and BmP2 were constructed by RT-PCR. The BmP0 protein was first expressed in *Escerichia coli* and the recombinant protein showed M.W. of approximately 34 kDa, slightly lower than that of YP0 protein of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. BmP0 was subsequently expressed in the conditional P0-null mutant *S.cerevisiae* D67dGP0, whose ribosomes also lack the other stalk components, proteins YP1/YP2. The transformed strain was able to grow under restrictive conditions, indicating that in the absence of the YP1/YP2 proteins BmP0 can bind to the yeast ribosomes and complement the lack of the endogenous YP0 protein. The binding capacity of the *B. mori* ribosomal stalk components to the ribosomal particle was also studied by means of high salt treatment of purified ribosomes. The BmP0 protein retained its binding to the ribosome, suggesting a stable association with the rRNA, in contrast to the acidic proteins BmP1 and BmP2, which were easily released. The results clearly indicate that, BmP0 does not require the presence of P1/P2 proteins in order to bind to the ribosome. Further study of the acidic BmP1 and BmP2 proteins by isoelectrophocusing in the presence of ampholytes 2.5-5.0 showed *pI* 4.0 (BmP2) and *pI* 3.0 (BmP1), while treatment with alkaline phosphatase revealed that both BmP1 and BmP2 are found phosphorylated on the ribosomal particles.

This work was supported by the Research Committee (ΕΛΚΕ) of the University of Athens.

ΜΟΝΤΕΛΟ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ ΣΤΟΝ ΜΕΤΑΦΟΡΕΑ ΠΟΥΡΙΝΩΝ UAPA ΧΩΡΙΣ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΑΣ

Κουκάκη Μ., Διαλλινάς Γ.

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, 15781 Αθήνα.

Η πρωτεΐνη UapA, υπεύθυνη για την πρόσληψη ουρικού οξέος και ξανθίνης στον *Aspergillus nidulans,* ανήκει στην οικογένεια μεταφορέων πουρινών–ασκορβικού (NAT). Με μια βιοχημική προσέγγισης, που μετατρέπει τις σταθερές ανταγωνιστικής αναστολής (k_i) διαφόρων βάσεων σε μεταβολή ελεύθερης ενέργειας (ΔG), εκτιμήσαμε τη συμμετοχή διαφόρων θέσεων του πουρινικού δακτυλίου σε εξειδικευμένες αλληλεπιδράσεις με το UapA. Προτείνουμε ότι οι πουρίνες δεσμεύονται σε συγκεκριμένα αμινοξέα του UapA μέσω τριών δεσμών υδρογόνου με τις θέσεις 2, 6 και 7 ή 8.Για να διερευνήσουμε περαιτέρω τη μοριακή φύση αυτών των αλληλεπιδράσεων, μελετήσαμε μεταλλαγμένα *uap*A στελέχη με τροποποιημένη εξειδίκευση ή συγγένεια πρόσδεσης υποστρώματος. Τα αποτελέσματά μας, σε συνδυασμό με *in silico* μοριακά πρότυπα, υποδεικνύουν ότι τα αμινοξικά κατάλοιπα Q449 και N450,που βρίσκονται σε μια β-στροφή αναρροϊκά του διαμεμβρανικού τμήματος 9 (TMS9), συμμετέχουν στη δέσμευση πουρινών. Συγκεκριμένα, το αμινοξύ Q449 αλληλεπιδρά με τη θέση 2 του πουρινικού δακτυλίου, ενώ το N450 πιθανώς αλληλεπιδρά με τη θέση 6. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι ενώ το F569, που βρίσκεται στο TMS12 του μεταφορέα στελέχους αγρίου τύπου, δεν φαίνεται να συμμετέχει σε αλληλεπιδράσεις με πουρίνες, συγκεκριμένες αντικαταστάσεις της αρωματικής Phe με πολικά ή μικρά υδρόφοβα αμινοξέα (Ser,Thr,Ala) ,οδηγούν σε μόρια UapA με τροποποιημένα χαρακτηριστικά μεταφοράς, πιθανώς μέσω μιας εύκαμπτης αλληλεπίδρασης με τη θέση 1. Αυτή η νέα αλληλεπίδραση μπορεί πλήρως ή μερικώς να καταστείλει τα αποτελέσματα που προκαλούνται από απώλεια ή τροποποίηση των αλληλεπιδράσεων του UapA με τη θέση 2 των πουρινών εξαιτίας διαφόρων αντικαταστάσεων στο Q449. Φαίνεται ότι η μοριακή «συνομιλία» μεταξύ συγκεκριμένων καταλοίπων στις θέσεις 449 και 569 του UapA μπορεί να οδηγήσει σε μόρια μεταφορέων με τροποποιημένες εξειδικεύσεις και νέα κινητικά χαρακτηριστικά. Αυτά τα αποτελέσματα θέτουν τη βάση για την ανάπτυξη ενός γενικού μοριακού προτύπου που θα περιγράφει τις σχέσεις δομής-λειτουργίας στο ενεργό κέντρο των NAT μεταφορέων. Ένα τέτοιο πρότυπο θα επιτρέψει τον ορθολογικό σχεδιασμό νέων μεταφορέων και την ανάπτυξη νέων φαρμάκων και μπορεί να αποδειχθεί πολύτιμο στην πρόβλεψη της λειτουργίας NAT ομολόγων που υπάρχουν στις βάσεις δεδομένων.

A MOLECULAR MODEL DESCRIBING THE INTERACTIONS OF A PURINE TRANSPORTER WITH DIFFERENT SUBSTRATES

Koukaki M., Diallinas G.

Faculty of Biology, Department of Botany, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 15781, Greece. E-mail: diallina@biol.uoa.gr

UapA catalyses the uptake of uric acid and xanthine in *A. nidulans* and is the prototype of the ubiquitous nucleobase-ascorbate transporter (NAT) family. Making use of a biochemical approach, which converts competitive inhibition constants (K_i) of several nucleobases into ΔG, we estimated the contribution of different positions in the purine ring in specific interactions with UapA. We propose that purines bind to specific amino acids of UapA via three hydrogen bonds involving interactions at positions 2, 6 and 7 or 8. To further investigate the molecular nature of these interactions we studied several UapA mutants including altered specificity or affinity mutants. Our results and *in silico* molecular modeling strongly suggest that residues Q449 and N450, located in a β-turn immediately upstream from transmembrane segment 9 (TMS9) are involved in purine binding. In particular, we showed that residue Q449 should interact with position 2 of the purine ring, while residue N450 could interact with position 6. Interestingly, while residue F569, which is located in TMS12 of the wild-type transporter, does not seem to be involved in interactions with purine substrates, specific substitutions of the aromatic Phe with polar or small hydrophobic residues (Ser, Thr, Ala) generates UapA molecules with novel transport characteristics, probably through a flexible interaction with position 1 of the purine ring. This novel interaction can fully or partially suppress the effects caused by the loss or the modification of interactions of UapA with position 2 of purines due to different substitutions in residue Q449. It seems that a molecular cross-talk between specific residues at positions 449 and 569 in UapA can lead to the generation of transporter molecules with altered specificities and kinetics. These results put the basis for the development of a general molecular model describing structure-function relationships in the active site of NAT transporters. This model allows the orthological genetic design of novel transporters or the development of novel drugs and should prove valuable in predicting the function of NAT homologues present in databases.

Η *IN SITU* ΥΒΡΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ΦΘΟΡΟΧΡΩΜΑΤΑ (FISH) ΩΣ ΕΡΓΑΛΕΙΟ ΜΕΛΕΤΗΣ ΤΗΣ ΣΧΕΣΗΣ ΧΗΜΙΚΗΣ ΔΟΜΗΣ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΟΜΟ-ΑΖΩΤΟΥΧΩΝ ΣΤΕΡΟΕΙΔΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΜΕ ΑΝΤΙΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Κουλουμέντα Α.[1], Στεφάνου Γ.[1], Δημόπουλος Ν.[1], Νικολαρόπουλος Σ.[2]

[1]Τμήμα Βιολογίας, [2]Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πατρών

Τροποποιημένα στεροειδή, (π.χ στεροειδείς λακτάμες), χρησιμο-ποιούνται ως μόρια-φορείς για τη μεταφορά των αλκυλιωτικών παρα-γόντων σε καρκινικούς όγκους. Η **ASE** είναι ένας ομο-αζα-στεροειδικός εστέρας του π-N,N-δις-(2-χλωροαιθυλο)-αμινο-φαινυλοξικού οξέος (**PHE**), και παρουσιάζει αντινεοπλασματική δράση σε πειραματικούς όγκους. Οι ενώσεις **EA-72** και **SOT-19** είναι νέες ενώσεις, ανάλογα της ASE, και συντέθηκαν με σκοπό να μελετηθεί ο ρόλος της διαμόρφωσης του στεροειδούς στην τελική έκφραση της αντινεοπλασματικής δράσης. Η βασική δομική διαφορά μεταξύ της ASE και αυτών είναι η εισαγωγή ενός συζυγιακού κετονικού συστήματος στο Β δακτύλιο του στεροει-δούς. Από προηγούμενες μελέτες έχει βρεθεί ότι η ASE αυξάνει τη συχνότητα χρωμοσωματικών ρηγμάτων και χρωμοσωματικής απώλειας. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η σύγκριση της γενετικής δράσης των παραπάνω ενώσεων αλλά και του PHE που αποτελεί το κοινό αλκυλιωτικό τμήμα αυτών. Ως βιολογικό σύστημα χρησιμοποιήθηκαν οι καλλιέργειες ανθρώπινων λεμφοκυττάρων. Εφαρμόσθηκε η μέθοδος της αναστολής της κυτταροκίνησης (**CBMN**) σε συνδυασμό με την *in situ* υβριδοποίηση με φθοροχρώματα (**FISH**) με κεντρομερικό **α-satellite** DNA ανιχνευτή. Μελετήθηκε η κυτταροτοξικότητα και η συχνότητα των μικροπυρήνων. Όλες οι χημικές ενώσεις προκαλούν αύξηση της κυτταροτοξικότητας και της συχνότητας των μικροπυρήνων που χαρα-κτηρίζονται από απουσία σήματος υβριδοποίησης, δηλαδή περιέχουν άκεντρα χρωμοσωματικά τμήματα λόγω επαγωγής χρωμοσωματικών ρηγμάτων. Επιπρόσθετα προκαλούν αύξηση της συχνότητας των μικροπυρήνων με σήμα υβριδοποίησης, οι οποίοι περιέχουν άθικτα χρωμοσώματα ως προϊόν χρωμοσωματικής απώλειας. Η ASE και το PHE εμφανίζουν ισχυρότερη γενετική δράση και ακολουθούν η EA-72 και η SOT-19. Φαίνεται λοιπόν ότι η εισαγωγή του συζυγιακού συστήματος στο Β στεροειδικό δακτύλιο των EA-72 και SOT-19 οδηγεί σε μειωμένη γενετική δράση.

FLUORESCENCE *IN SITU* HYBRIDIZATION (FISH) AS A TOOL TO STUDY STRUCTURE-GENETIC ACTIVITY RELATIONSHIP OF OMO-AZA-STEROIDAL DERIVA-TIVES WITH ANTINEOPLASMATIC ACTIVITY

Kouloumenta A.[1], **Stephanou G.**[1], **Demopoulos N.**[1], **Nikolaropoulos S.**[2]

[1]Department of Biology, [2]Department of Pharmacy,
University of Patras

Modified steroids such as steroidal lactams have been used as vehicles for the transfer of alkylating molecules to the tumor site. **ASE** is a homo-aza-steroidal ester of *p*-N,N-bis-(2-chloroethyl)amino phenyl acetic acid (**PHE**) and displays antineoplasmatic activity in experimental tumors. ASE, **EA-72** and **SOT-19** are chemical derivatives of ASE, which have been synthesized in order to investigate the effect of steroid configuration on antineoplasmatic activity. The main structural difference between ASE and the new esters is the insertion of a conjugate ketone in the B ring of the steroidal moiety. Recent studies showed that ASE is capable of inducing chromosome breakage and loss in human lymphocyte cultures *in vitro*. The purpose of this study is to compare the genetic activity of the new compounds as well as of PHE, which constitutes their basic alkylating moiety. The Cytokinesis Blocked Micronucleus assay (**CBMN**) was applied in human lymphocyte cultures in combination with fluorescence *in situ* hybridization (**FISH**), using a pancentromeric **a-satellite** DNA probe. Micronucleus frequency and lymphocyte rate proliferation were determined. All studied chemicals increased micronucleus frequencies and caused cell cycle delay. The majority of the induced micronuclei showed no hybridization signal, hence containing only acentric chromosome fragments due to chromosome breakage. In addition, all chemical compounds induced an increase in the frequency of micronuclei showing hybridization signal, which contained intact chromosomes as a consequence of chromosome loss due to chromosome delay. ASE and PHE are the most active compounds followed by EA-72 and SOT-19. It can be concluded that the insertion of the conjugate system in the steroid moiety of EA-72 and SOT-19 results in reduction of the genetic activity.

Bactrocera oleae: ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΙΑ

Κουνατίδης Η., Λυμπέρη Σ., Μαυραγάνη–Τσιπίδου Π.

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

Το έντομο *Bactrocera oleae*, ο κοινός δάκος της ελιάς, θεωρείται ως ένα από τα πλέον βλαβερά έντομα δεδομένου ότι προκαλεί καταστροφές στην ελαιοπαραγωγή με τεράστιες οικονομικές απώλειες, για τις ελαιοπαραγωγικές χώρες. Παρά το γεγονός ότι η καταπολέμηση του δάκου υπήρξε αντικείμενο προβληματισμού και έρευνας πολλών ερευνητών, ο έλεγχος του εντόμου αυτού περιορίζεται στη χρήση χημικών εντομοκτόνων. Η ανάπτυξη μεθόδων βιολογικού ελέγχου του δάκου, είναι επιτακτική. Η αποτελεσματικότητα, όμως, των μεθόδων αυτών εξαρτάται άμεσα από τη γνώση της βιολογίας και γενετικής του.

Στα πλαίσια μελέτης της γενετικής του δάκου πραγματοποιήθηκε:

- συλλογή ατόμων από φυσικό πληθυσμό από την περιοχή Σκιώνη Χαλκιδικής και δημιουργία εργαστηριακού στελέχους (στέλεχος «Χαλκιδική»), το οποίο έχει προσαρμοστεί στις συνθήκες τεχνητής καλλιέργειας στο εργαστήριό μας εδώ και έξι μήνες,
- συλλογή ατόμων από φυσικό πληθυσμό από την περιοχή Νέα Πλάγια Χαλκιδικής και δημιουργία υβριδικού πληθυσμού από διασταύρωση αρσενικών ατόμων από τα Ν. Πλάγια και θηλυκών από τον εργαστηριακό πληθυσμό «Αγία Τριάδα» (το στέλεχος αυτό προέρχεται από το Ερευνητικό Κέντρο «Δημόκριτος» και συντηρείται στο εργαστήριό μας για 15 χρόνια),
- έλεγχος των τριών πληθυσμών για ανεύρεση ατόμων με διαφορετικά μορφολογικά χαρακτηριστικά,
- εύρεση μεταλλάξεων που αφορούν στα φτερά, πόδια, χρώμα ματιών, αριθμό κηλίδων στην κοιλιά, στίγμα στον τεργίτη, και προσπάθεια δημιουργίας στελεχών με τους γενετικούς αυτούς δείκτες,
- καταγραφή συχνότητας των φαινοτύπων με διαφορετικό αριθμό κηλίδων στην κοιλιά στους τρεις πληθυσμούς,
- καταγραφή ποσοστών θνησιμότητας στα διάφορα αναπτυξιακά στάδια.

Bactrocera oleae: GENETIC VARIATION

Kounatidis I., Liberi S., Mavragani-Tsipidou P.

Departmment of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University of Thessaloniki

Bactrocera oleae is a major agricultural pest. It causes great economic losses in all of the olive-producing countries. Although there is considerable interest in biological control, such as sterile insect technique, pheromone traps, endotoxins etc., up to now, its control has been based on synthetic insecticides. The success of the biological control is based, mainly, on the knowledge of the biology and the genetics of this pest.

In the present study

- we collected flies from a natural population from the area Skioni-Chalkidiki and we constructed a new laboratory strain named ("Chalkidiki" strain).
- we collected flies from a natural population from the area Nea Plagia-Chalkidiki and we constructed a hybrid population mating males from N. Plagia with females from the standard laboratory strain "Aghia. Triada" (obtained from "Demokritos" Nuclear Research Center).
- we screened the three strains for morphological mutants and we tried to establish colonies with morphological markers

ΣΤΕΡΕΟΔΙΑΤΑΞΙΚΟΙ "ΔΙΑΚΟΠΤΕΣ" ΣΕ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΥΠΕΥΘΥΝΕΣ ΓΙΑ ΑΜΥΛΟΕΙΔΩΣΕΙΣ

Κουρμπέτη Μ.Α., Οικονομίδου Β.Α., Χαμόδρακας Σ.Ι.

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 01

Οι αμυλοειδώσεις είναι διαταραχές του μεταβολισμού ορισμένων πρωτεϊνών, οι οποίες ενώ φυσιολογικά είναι διαλυτές, αυτοσυγκροτούνται και σχηματίζουν δομές γνωστές ως αμυλοειδή ινίδια. Αυτά αποτίθενται είτε στον εξωκυττάριο ή στον ενδοκυττάριο χώρο και προκαλούν οργανικές βλάβες. Όλα τα αμυλοειδή αν και σχηματίζονται από διαφορετικές πρωτεΐνες, έχουν κοινά δομικά χαραχτηριστικά. Είναι πιθανό ότι αυτό οφείλεται σε δομικές μετατροπές που συμβαίνουν στις συγκεκριμένες πρωτεΐνες και οδηγούν σε "κακό" δίπλωμα (misfolding).

Η παραπάνω άποψη ενισχύεται από την παρατήρηση ότι στην παθολογική, αυτοσυγκροτημένη, αδιάλυτη πρωτεΐνη είναι έντονη η παρουσία μιας ειδικής μορφής β-πτυχωτών επιφανειών, της "cross-β" δομής ενώ στη φυσιολογική, διαλυτή μορφή της μπορούν να υπάρχουν όλοι οι πιθανοί τύποι δευτεροταγούς δομής (α-έλικες, β-πτυχωτές επιφάνειες, β-στροφές κ.λ.π.). Σε ορισμένες περιπτώσεις, είναι εμφανές ότι οι δομικές μετατροπές συμβαίνουν με μετάπτωση α-ελίκων σε β-πτυχωτές επιφάνειες. Τέτοιοι στερεοδιαταξικοί "διακόπτες" πιθανώτατα είναι σημαντικοί στην έναρξη της διαδικασίας σχηματισμού αμυλοειδών ινιδίων.

Προκειμένου να εντοπίσουμε πιθανές περιοχές που λειτουργούν ως στερεοδιαταξικοί "διακόπτες", μελετήσαμε δεκαπέντε πρωτεΐνες, οι οποίες είναι υπεύθυνες για το σχηματισμό αμυλοειδών ινιδίων *in vivo*. Κάθε μια από αυτές συνδέεται με μια συγκεκριμένη αμυλοείδωση. Για τη μελέτη, χρησιμοποιήσαμε ένα πακέτο πρόγνωσης δευτεροταγούς δομής, γνωστό ως SecStr, που αναπτύχθηκε στο εργαστήριο μας, με το οποίο ανιχνεύσαμε πεπτίδια που παρουσιάζουν ταυτόχρονη πρόγνωση και για α-έλικες και για β-πτυχωτές επιφάνειες. Πιθανολογούμε ότι αυτά τα πεπτίδια, στις πρωτεΐνες τις συνδεδεμένες με αμυλοειδώσεις, μπορούν να λειτουργούν ως στερεοδιαταξικοί "διακόπτες".

Παρατηρήθηκε ότι πολλοί από αυτούς εντοπίζονται μέσα στις περιοχές που πολυμερίζονται και σχηματίζουν τα ινίδια και ότι χαρακτηρίζονται από την έντονη παρουσία υδρόφοβων αμινοξικών καταλοίπων.

CONFORMATIONAL "SWITCHES" IN PROTEINS RESPONSIBLE FOR AMYLOIDOSES

Kourbeti M.A., Iconomidou V.A., Hamodrakas S.J.

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 157 01

Amyloidoses are disorders of protein metabolism in which normally soluble proteins self-assemble into structures known as amyloid fibrils. These are deposited in either the extracellular or the intracellular space causing organ damage. All amyloid fibrils, formed by different proteins, exhibit the same structural properties. Apparently, this is due to structural conversions, occuring in the proteins responsible, which lead to misfolding. This is reinforced by the observation that, the pathologic, self-assembled, insoluble proteins are rich in a particular type of β-sheet conformation, the "cross-β" structure, whereas, the soluble, native proteins may be rich in all possible types of secondary structure (α-helix, β-sheet, β-turns etc). In some cases, it is obvious that structural conversions are due to transitions from α-helices to β-sheets. Such conformational "switches" seem to be important at the onset of fibril formation.

In order to identify such conformational "switches", we studied fifteen proteins responsible for the formation of amyloid fibrils *in vivo*. Each of them is associated with a specific amyloidosis. For this purpose, we used SecStr, a web tool developed in our lab, by which we located peptides showing a simultaneous prediction for both α-helix and β-pleated sheet. It is supposed that these peptides may act as "switches".

It was observed that most of them are located into certain regions responsible for polymerism and fibril formation and that they are characterized by the extensive presence of hydrophobic residues.

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΤΕΡΟΖΥΓΩΤΙΑΣ ΚΑΙ ΜΟΡΦΕΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΩΝ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΜΕΤΑΞΥ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΗΣ ΜΥΓΑΣ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΟΥ (*Ceratitis capitata)*

Κούρτη Α.

Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, 11855, Αθήνα, Τηλ: 210-5294615, e-mail: akourti@aua.gr

Μελετήθηκε η αλλοζυμική ποικιλομορφία για 25 γονίδια, σε 15 φυσικούς πληθυσμούς του εντόμου *Ceratitis capitata* (μύγα της Μεσογείου), προερχόμενους από διαφορετικές χώρες. Η μελέτη της γενετικής ποικιλομορφίας σε φυσικούς πληθυσμούς της μύγας της Μεσογείου, αποσκοπούσε στην ταυτοποίηση διαφορετικών ομάδων πολυμορφικών γονιδίων, στις οποίες η μορφή ανάπτυξης της ποικιλομορφίας, θα αναδείκνυε διαφορετικές επιλεκτικές δυνάμεις. Τα ευρήματα αυτής της έρευνας είναι τα ακόλουθα: **1.** Οι Αφρικάνικοι πληθυσμοί έχουν μέση ετεροζυγωτία 17.8%, ενώ οι εισαχθέντες 5.7%. **2.** Ένας μέσος πληθυσμός είναι πολυμορφικός για το 22.3% των γονιδίων του και ένα μέσο άτομο είναι ετεροζυγωτό για το 8.7% των γονιδίων του. **3.** Η μεταξύ των πληθυσμών ετεροζυγωτία (**H_S**) διαχωρίζεται σε δύο ομάδες. Η πρώτη έχει **H_S** που κυμαίνεται από 0 έως 20% και η δεύτερη 35 έως 43%. Αυτή η απότομη μεταβολή μεταξύ των δύο ομάδων, παρέχει ενδείξεις σχετικές με την επιλογή κάποιων γονιδίων. **4.** Οι μεταξύ των γονιδίων **F_{ST}** τιμές έχουν ένα εύρος από 40.7% (*Pep 3*) έως 0 (*Adh*). Η διαφορά αυτή οφείλεται κατά ένα μέρος στην τυχαία γενετική παρέκκλιση (drift), όπως επίσης και σε κάποιο είδος επιλογής, το οποίο επηρεάζει κάποια ιδιαίτερα γονίδια. **5.** Η συνολική ετεροζυγωτία (**H_T**) μπορεί να διαχωριστεί σε δύο ομάδες, με ένα κενό μεταξύ 20% και 40%. Αυτή η κατανομή μπορεί να επιλέγει γονίδια που βρίσκονται κάτω από καθαρίζουσα (purifying) επιλογή (μικρό **H_T**) και εξισορροπούσα επιλογή (μεγάλο **H_T**). Συμπερασματικά, οι γενετικές αλλαγές που παρατηρούμε είναι αποτέλεσμα διαφόρων εξελικτικών δυνάμεων, που έχουν συνεισφέρει κατά τη διάρκεια αποικισμού της μύγας της Μεσογείου. Εκτός από την επίδραση της εξελικτικής στενωπού (bottleneck), και η φυσική επιλογή έπαιξε σημαντικό ρόλο στις παρατηρούμενες διαφορές στη μορφή ανάπτυξης της ποικιλομορφίας, που εμφανίζονται σε διαφορετικές ομάδες γονιδίων, φυσικών πληθυσμών της μύγας της Μεσογείου.

ESTIMATES OF HETEROZYGOSITY AND PATTERNS OF GEOGRAPHIC DIFFERENTIATION IN NATURAL POPULATIONS OF THE MEDFLY (*Ceratitis capitata*)

Kourti A.

Agricultural University of Athens, Department of Agricultural Biotechnology, Iera Odos 75, 11855, Athens, Greece

I have studied allozyme variation at 25 gene loci in fifteen populations of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (medfly) originating from different countries. The study of genetic variation in natural populations of medfly was undertaken to identify different groups of polymorphic loci whose variation patterns might suggest different kinds of selection forces. The findings of this study are as follows: (1) The African populations have mean heterozygosity 17.8% and the introduced 5.7%. (2) An average population is polymorphic for 22.3% of the gene loci and an average individual is heterozygous for 8.7% of its gene loci. (3) The within population heterozygosity ($\mathbf{H_S}$) is divided into two groups. The first had an $\mathbf{H_S}$ varying from 0 to 20% and the second from 35 to 43%. This abrupt transition between the two groups provides initial clues about selection on at least some loci. (4) The $\mathbf{F_{ST}}$ (fixation index) values have a wide range among loci from 40.7% (*Pep*$_3$) to 0 (*Adh*). The differentiation could be partly due to drift and partly by some sort of selection that affects particular genes. (5) Total heterozygosity ($\mathbf{H_T}$) could be separated into two groups with a gap between 20% and 40%. This distribution can sort out loci under purifying selection (low $\mathbf{H_T}$) and balancing selection (high $\mathbf{H_T}$). In conclusion, different evolutionary forces could have contributed to genetic changes during colonization by the medfly. I addition to the bottleneck effect, natural selection may have played an important role in the observed differences in the patterns of variation seen for different groups of loci in natural populations of *C. capitata*.

ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΜΙΚΡΟΔΟΡΥΦΟΡΙΚΩΝ ΤΟΠΩΝ ΣΕ ΠΛΗΘΥ-ΣΜΟΥΣ ΤΟΥ ΔΙΘΥΡΟΥ *Mytilus galloprovincialis* ΣΤΟ ΘΕΡΜΑΪΚΟ ΚΟΛΠΟ

[1]Κουρτίδης Α., [1]Παντζαρτζή Χ., [1]Δροσοπούλου Ε., [2]Χιντήρογλου Χ., [1]Σκούρας Ζ.Γ.

[1]Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, [2]Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54 124 Θεσσαλονίκη

Το εδώδιμο δίθυρο *Mytilus galloprovincialis* αποτελεί ένα διαδεδομένο και οικονομικά σημαντικό είδος μυδιού στη Μεσόγειο Θάλασσα. Ωστόσο, δεν υπάρχουν πολλά δεδομένα γι' αυτό σε μοριακό επίπεδο, ειδικά σε ότι αφορά στους πληθυσμούς της Ανατολικής Μεσογείου. Παράλληλα, τόσο η ταξονόμησή του όσο και η ταυτοποίηση των πληθυσμών του παρουσιάζει προβλήματα. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η χρήση μικροδορυφορικών τόπων στην ταυτοποίηση πληθυσμών του είδους στο Θερμαϊκό κόλπο. Οι μικροδορυφορικοί τόποι περιλαμβάνουν διαδοχικές επαναλήψεις μιας αλληλουχίας 1-6 νουκλεοτιδίων και έχει αποδειχθεί ότι αποτελούν εξαιρετικά πολυμορφικούς δείκτες. Αρχικά κατασκευάστηκε μερική γονιδιωματική βιβλιοθήκη του *M. galloprovincialis*, από την οποία απομονώθηκε ένας μεγάλος αριθμός κλώνων. Υποκλωνοποίηση και ανάλυση μερικών από αυτούς οδήγησε στην αναγνώριση τεσσάρων μικροδορυφορικών τόπων, για τους οποίους σχεδιάστηκαν εκκινητές για την αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR). Τόσο οι μικροδορυφορικοί αυτοί τόποι όσο και τέσσερις ακόμη, που έχουν χαρακτηρισθεί από ένα πληθυσμό της Ισπανίας, ενισχύθηκαν σε ατόμα διαφορετικών πληθυσμών του Θερμαϊκού κόλπου, ώστε να εκτιμηθεί ο βαθμός πολυμορφισμού τους και η δυνατότητα χρήσης τους σε πληθυσμιακές αναλύσεις. Η περαιτέρω εφαρμογή των πιο πολυμορφικών από αυτούς και σε άλλους πληθυσμούς, θα μπορούσε να αποτελέσει ένα σημαντικό εργαλείο στη γενετική ταυτοποίησή τους.

APPLICATION OF MICROSATELLITE LOCI ON THE *Mytilus galloprovincialis* BIVALVE POPULATIONS IN THERMAIKOS GULF

[1]Kourtidis A., [1]Pantzartzi C., [1]Drosopoulou E., [2]Chintiroglou C., [1]Scouras Z.G.

[1]Department of Genetics, Development and Molecular Biology, [2]Department of Zoology, School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University, Thessaloniki 54124

The comestible bivalve Mytilus galloprovincialis is a widespread and economically important mussel species in the Mediterranean Sea. However, little is known about this species at the molecular level, especially for the populations of Eastern Mediterranean. Furthermore, there are still questions regarding its taxonomical status and its population discrimination. The aim of the present study is the application of microsatellite loci in molecular identification of Mytilus galloprovincialis populations in Thermaikos gulf. Microsatellite loci include tandem repeats of 1-6 bases and are thought to be exceptionally polymorphic markers. A partial genomic library of M. galloprovincialis was constructed and a large number of clones were isolated. After subcloning and sequence analysis, four microsatellite loci were identified and specific primers for the polymerase chain reaction (PCR) were designed. These loci, together with four additional microsatellite loci isolated from a Spanish population, were amplified in several individuals from different populations of Thermaikos gulf, in order to estimate their degree of polymorphism and their suitability for population studies. Application of the most polymorphic microsattelite loci to several Mytilus populations could be an important tool for their genetic identification and discrimination.

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΤΟΓΡΑΦΗΣΗ *HSP70* ΑΚΟΛΟΥΘΙΩΝ ΤΟΥ *Mytilus galloprovincialis*

Κουρτίδης Α., Χατζή Β., Δροσοπούλου Ε., Σκούρας Ζ.Γ.

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

Παρά το γεγονός ότι το *Mytilus galloprovincialis* αποτελεί ένα διαδεδομένο και οικονομικά σημαντικό είδος μυδιού στη Μεσόγειο Θάλασσα, δεν υπάρχουν πολλά δεδομένα γι' αυτό σε μοριακό επίπεδο, ειδικά σε ό,τι αφορά στους πληθυσμούς της Ανατολικής Μεσογείου. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η ανίχνευση και ανάλυση λειτουργικά σημαντικών γονιδίων του είδους, όπως τα μέλη της γονιδιακής οικογένειας Hsp70. Η οικογένεια αυτή περιλαμβάνει θερμοεπαγόμενα γονίδια τα οποία παίζουν σημαντικό ρόλο στην κυτταρική απόκριση σε ποικίλα περιβαλλοντικά ερεθίσματα. Αρχικά κατασκευάστηκε ολική γονιδιωματική βιβλιοθήκη του *M. galloprovincialis,* χρησιμοποιώντας βακτηριοφάγο λ ως φορέα κλωνοποίησης. Η βιβλιοθήκη σαρώθηκε με ανιχνευτή τμήμα μιας *hsp70* ακολουθίας του *M. galloprovincialis,* η οποία ενισχύθηκε από γονιδιωματικό DNA με την αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR). Έπειτα από δύο κύκλους σάρωσης απομονώθηκαν εννέα κλώνοι, οι οποίοι χαρτογραφήθηκαν μετά από απλές και διπλές πέψεις με τις ενδονουκλεάσες περιορισμού *Sal*I, *Xho*I, *Eco*RI, *Hind*III και υβριδισμούς κατά Southern. Από τη χαρτογράφηση φαίνεται ότι οι απομονωμένοι κλώνοι προέρχονται από επτά διαφορετικές γονιδιωματικές περιοχές, ενώ με βάση το πρότυπο υβριδισμού θα μπορούσαν να διακριθούν σε δύο ομάδες. Οι παρατηρήσεις αυτές υποδηλώνουν την παρουσία διαφορετικών αντιγράφων ή και διαφορετικών μελών της οικογένειας Hsp70 μεταξύ των απομονωμένων κλώνων. Η ανάλυση συνεχίζεται με υποκλωνοποίηση των περιοχών αυτών και με ανάλυση της πρωτοταγούς ακολουθίας τους με σκοπό τη διευκρίνηση των παραπάνω ερωτημάτων.

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF *HSP70* SEQUENCES OF *Mytilus galloprovincialis*

Kourtidis A., Hatzis V., Drosopoulou E., Scouras Z.G.

Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University, 54 124 Thessaloniki

Mytilus galloprovincialis is the most common mussel species in the Mediterranean Sea. In spite of its great economical importance, little is known about the species at the molecular level, especially for the Eastern Mediterranean populations. The aim of this study is to analyze important functional genes of the species such as the *hsp70* gene family. The family includes heat-shock related genes which are of great importance to all species, as they are responsible for the cellular response to a number of environmental stimuli. In order to isolate members of the *hsp70* gene family of *M. galloprovincialis,* a genomic library was constructed in bacteriophage λ cloning vector. Two screening rounds were performed using as probe a part of an *hsp70* sequence of *M. galloprovincialis*, generated by PCR. Nine clones were isolated and mapped by single and double digestions with the restriction endonucleases *Sal*I, *Xho*I, *Eco*RI, *Hind*III and Southern hybridizations. The restriction pattern suggests that the isolated clones emanate from seven different genomic regions, while based on the hybridization profiles they can be divided in two groups. The above observation implies the presence of different copies or even different members of the *hsp70* gene family among the isolated clones. Subcloning and sequence analysis of the isolated *hsp70* sequences is expected to clarify the genomic organization of the family in *M. galloprovincialis*.

ΤΟ ΑΚΡΟ ΤΩΝ ΣΠΟΝΔΥΛΟΖΩΩΝ: ΕΝΑ ΜΟΝΤΕΛΟ ΠΡΟΣ ΑΠΟΚΑΛΥΨΗ ΤΩΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ

Κουσουλάκος Σ.

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ

Διάφορα όργανα χρησιμοποιούνται ως πειραματικά μοντέλα για τη διαλεύκανση της κυτταρικής και της μοριακής φύσης της εμβρυϊκής ανάπτυξης και μορφογένεσης. Μεταξύ αυτών εξέχουσα θέση κατέχουν τα άκρα. Αυτά πρωτοεμφανίζονται στα πλευρά του ζώου ως μικρές μεσεγχυματικές μάζες που καλύπτονται από ένα μονόστιβο, εκτοδερμικό επιθήλιο. Η ταυτότητα, η θέση και ο αριθμός των άκρων έχει ήδη καθορισθεί αρκετά ενωρίτερα με τη συνεργασία ρετινοϊκού οξέος και *Hox* γονιδίων *(Tbx5* για τα οπίσθια, και *Pitxl* και *Tbx4* για τα πρόσθια). Ο μεσόνεφρος, υπό την επήρρεια αυτών των μεταγραφικών παραγόντων εκλύει FGF8, ο οποίος με τη σειρά του επάγει τη σύνθεση FGF10 από το πλευρικό μεσόδερμα, οπότε «αρχίζει» ο εξωτερικός σχηματισμός των άκρων. Η ανάπτυξη των άκρων πραγματοποιείται κατά μήκος τριών αξόνων (εγγύς – μακράν = ώμος - άκρη δακτύλων, προσθιοπίσθιος = «αντίχειρας» - μικρό δάκτυλο, ραχαιοκοιλιακός= ράχη χεριού-παλάμη). Στον καθορισμό αυτών των αξόνων λαμβάνουν μέρος διάφοροι παράγοντες, όπως είναι οι FGFs, η SHH και ο WNT7a, αντίστοιχα.

Οι παραπάνω αναφερθέντες παράγοντες συνθέτονται σε συγκεκριμένες θέσεις του βλαστήματος του άκρου οι οποίες χαρτακτηρίζονται ως κορυφαίο εκτοδερμικό έπαρμα (AER), ζώνη πολωτικής ενεργότητας (ZPA) και ραχιαίο εκτόδερμα, αντίστοιχα. Συνεχείς αλληλεπιδράσεις και αλληλεπαγωγές μεταξύ αυτών των σηματοδοτικών κέντρων και αρκετών (περισσότερων από 100) ακόμη παραγόντων επιτυγχάνουν τη δημιουργία του άκρου μέσα σε λίγες ημέρες.

Λόγω της πληθώρας των παραγόντων που συμμετέχουν στη δημιουργία του άκρου, σε συνδυασμό με το γεγονός ότι ο καθορισμός του άκρου γίνεται σε πολύ πρώιμα στάδια της κύησης (πριν ακόμη η κύηση γίνει αντιληπτή) παρατηρούνται πολλά περιστατικά συγγενών ανωμαλιών, γεγονός που καθιστά τη μελέτη της ανάπτυξης του άκρου έναν επιστημονικό κλάδο υψίστης κλινικής σημασίας.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτείται από τα προγράμματα 70/3/6345 της ΓΓΕΤ και 70/4/5709 του ΕΛΚΕ

VERTEBRATE LIMB MORPHOGENESIS: EPITHELIAL-MESENCHYMAL INTERACTIONS AND *HOX* GENES

Koussoulakos S.

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

The cellular and the molecular nature of embryonic growth and morphogenesis are studied in various organs. Among those organs the limb has been preferentially exploited as a model system to elucidate general patterning mechanisms since it displays all the main features of development, – growth, differentiation and morphogenesis – it is amenable to experimentation without affecting organismic survival and it is endowed with considerable regulative properties. At the appropriate times during the embryonic period the limb territories are first determined at the appropriate positions along the cephalocaudal axis of the body and soon the limb buds grow out from the flanks as mesenchymal cell masses covered by simple ectoderm. The migrating dorsal blastopore lip cells of amphibians and the node cells of amniotes release RA and influence committed cells, which then express the appropriate *Hox* genes at the appropriate times and places. The position, the number and the identity of the limbs along the cephalocaudal axis of an organism depend on the expression of specific *Hox* genes: *Tbx5* for the forelimbs and *Pitxl* and *Tbx4* for the hindlimbs. Cells of the mesonephros affected by these transcription factors release FGF8, which induces production of FGF10 by lateral plate mesodermal cells, initiating thus limb formation. Limb morphogenesis occurs along three axes, which become gradually fixed, first the AP axis, then the DV and finally the PD axis, along which the bulk of limb growth occurs. Growth of the limb in amniotes depends on the formation of the AER – a pseudostratified epithelial thickening on top of the limb bud - which, by secreting many members of the FGF family, chemoattracts lateral plate and somitic mesodermal cells, keeps these cells in the progress zone proliferating and prevents their differentiation for an appropriate time period. Mutual interactions between mesoderm and ectoderm are important in the growth process and signaling regions have been identified, such as the AER, the ZPA and the dorsal limb ectoderm. Several molecules, such as FGFs, BMPs, SHH, RA and many others have been found to play leading roles in various, relevant to morphogenesis biological processes. For example, experiments indicate that FGF10 determines limb location, and that the action of SHH, WNT7a and FGF4/8 is required for patterning along the AP, DV and PD axes, respectively. Besides its intrinsic merit as a model for unraveling mechanisms of development, the limb displays considerable clinical interest since, defects of limb development are the most common single category of congenital abnormalities.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙ-BMP4 ΣΤΗΝ ΟΔΟΝΤΟΓΝΑΘΟ-ΠΡΟΣΩΠΙΚΗ ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ

Κουσουλάκου Δ., Μαργαρίτης Λ.Χ., Κουσουλάκος Σ.

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ

Υπό τον όρο «οστεομορφογενετικός παράγων» (BMP, bone morphogenetic protein) αντιλαμβανόμαστε μια ομάδα με περισσότερα από 15 πρωτεϊνικά μέλη που ανήκουν στην οικογένεια του TGFβ (transforming growth factor β, αυξητικός παράγων μετασχηματισμού). Οι BMPs διαδραματίζουν ποικίλους ρόλους κυρίως σε διάφορα στάδια της εμβρυϊκής ανάπτυξης, αλλά και στο ώριμο άτομο. Οι ρόλοι αυτοί είναι τόσο σημαντικοί ώστε, απογονιδιακά ζώα (knock-out) για οποιοδήποτε μέλος να μην μπορούν να επιβιώσουν.

Μελέτες σε αμφίβια έχουν δείξει ότι, η φυσιολογική αναστολή της δράσης των κατάλληλων BMPs από τους κατάλληλους αναστολείς τους (noggin, chordin) κατά τα αρχικά εμβρυϊκά στάδια είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη του κεφαλιού και συστατικών του. Έτσι, αποφασίσαμε να διερευνήσουμε περίπτωση χορήγησης εξωγενούς αναστολέα στα θηλαστικά. Εστιάσαμε την προσοχή μας στη μορφογένεση του σπλαχνοκρανίου, αλλά και στους οδοντινοβλάστες, επειδή είναι καλά τεκμηριωμένο ότι πολλοί BMPs επάγουν διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών κυττάρων του οδοντικού πολφού προς οδοντινοβλάστες, *in vitro*. Συνεπώς μελέτες προς διερεύνηση αυτών των σχέσεων ίσως αποδειχθούν ωφέλιμες στη θεραπεία προς αναγέννηση του πολφού, *in vivo*.

Θηλυκά ποντίκια σε εγκυμοσύνη 6.5 ή 8.5 ημερών ενέθηκαν με μονοκλωνικό αντι-BMP4 αντίσωμα. Τα νεογέννητα ζώα υποβλήθηκαν σε (α) μακροσκοπική παρατήρηση, (β) διαφανοποίηση και (γ) ιστολογική και ανοσοϊστοχημική μελέτη. Η μακροσκοπική εξέταση δεν αποκαλύπτει εξωτερικές διαφορές μεταξύ μαρτύρων και πειραματικών ζώων (α). Σε αντίθεση, τα διαφανοποιημένα κρανία δείχνουν σημαντικές ανωμαλίες στον σχηματισμό και στην οστεοποίηση των σκελετικών στοιχείων (β). Επίσης, ιστολογική χρώση Domagk αναδεικνύει διαφορές στο πρότυπο χονδρογένεσης των γνάθων και στη διαφοροποίηση των οδοντινοβλαστών, ενώ ανοσοϊστοχημική χρώση με AEC επιβεβαιώνει την κατασταλτική επίδραση του αντισώματος (γ).

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτείται από τα προγράμματα 70/3/6345 της ΓΓΕΤ και 70/4/5709 του ΕΛΚΕ

EFFECTS OF ANTI-BMP4 IN THE OROFACIAL FORMATION

Koussoulakou D., Margaritis L.H., Koussoulakos S.

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens

The BMPs are members of the TGF-β family of growth factors, originally identified by their bone-inducing activities. Their widespread expression suggests many roles other than in osteogenesis. Three examples are sufficient to highlight their significance: (a) Their inhibition is needed for head formation; (b) BMPs stimulate the differentiation of dental pulp mesenchymal cells into odontoblast-like cells, and are investigated as agents for vital pulp therapy; (c) Retinoic acid and BMP4 together induce the p27 protein leading to Retinoblastoma activation and ultimately apoptosis.

The purpose of the present work was to elucidate the effect of a monoclonal antibody against BMP4 on mouse head morphogenesis and odontoblast differentiation. To achieve our goal, female mice during gestational day 6.5 and 8.5 were injected with anti-BMP4. The results were evaluated on the newborns by: (a) macroscopical examination, (b) double staining for bone and cartilage and clearing, and (c) histology and histoimmunochemistry.

Treated newborns do not differ externally from their control counterparts (a). On the contrary, double-stained and cleared skulls exhibit considerable abnormalities in the pattern of osteogenesis of skeletal elements (b). Domagk istological staining reveals deviations in the chondrogenetic process of the mandible, as well as retardation in the process of odontoblast maturation. AEC immunohistochemical staining reveals the inhibitory effect of the antibody (c).

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΙΣΤΟΝΗΣ Η1ο ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΚΕΤΥΛΙΩΣΗΣ ΤΗΣ ΙΣΤΟΝΗΣ Η4 ΚΑΤΑ ΤΗ ΓΗΡΑΝΣΗ ΚΑΙ ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΤΩΝ Τ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Κυπραίου Α.Π., Σουρλίγκα Θ.Γ., Σέκερη-Παταργιά Κ.Ε.

Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. ' ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ', Ινστιτούτο Βιολογίας

Η τριχοστατίνη Α (TSA), ειδικός αναστολέας των αποακετυλασών των ιστονών, επάγει την πρώιμη in vitro κυτταρική γήρανση και / ή την απόπτωση ανάλογα με τη φύση του υπό μελέτη κυτταρικού συστήματος. Την υπό της TSA προκαλούμενη ακετυλίωση– υπερακετυλίωση των ιστονών των νουκλεοσομάτων ακολουθεί επαγωγή της έκφρασης ορισμένων γονιδίων μεταξύ των οποίων και της ιστόνης Η1ο του συνδέτου, η οποία συσσωρεύεται κατά την τερματική διαφοροποίηση. Προηγούμενες μελέτες που έγιναν στο εργαστήριό μας έδειξαν για πρώτη φορά σε σύστημα Τ λεμφοκυττάρων περιφερικού αίματος ανθρώπου ότι η TSA επάγει την απόπτωση με την ταυτόχρονη επαγωγή της Η1ο και την υπερακετυλίωση της ιστόνης Η4. Τα Τ-λεμφοκύτταρα είναι ιδανικά για την μελέτη της Η1ο καθώς κάτω απο φυσιολογικές συνθήκες δεν εκφράζουν αυτή την ιστόνη. Στην παρούσα εργασία απομονώθηκαν λεμφοκύτταρα από δότες διαφόρων ηλικιών προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση της ηλικίας στο βαθμό επαγωγής της απόπτωσης και της έκφρασης της Η1ο καθώς και της υπερακετυλίωσης της ιστόνης Η4 μετά από επίδραση TSA. Οι βιοχημικές μελέτες πραγματοποιούνται μετά την ενεργοποίηση των λεμφοκυττάρων που φυσιολογικά βρίσκονται στη Go φάση του κυτταρικού κύκλου, με κατάλληλο μιτογόνο παράγοντα και την παραμονή τους στην καλλιέργεια για 72h οπότε είναι πλέον στην S φάση του κυτταρικού κύκλου. Όπως αποδεικνύεται από τα μέχρι στιγμής πειραματικά δεδομένα με την αυξανόμενη ηλικία μειώνεται η ολική σύνθεση των ιστονών και το φαινόμενο εντείνεται παρουσία TSA. Επιπλέον σε μεγάλες ηλικίες η δράση της TSA προκαλεί τη συσσώρευση τετρα-ακετυλιωμένης ιστόνης Η4 ενώ παρατηρείται μείωση της μη ακετυλιωμένης ιστόνης Η4 καθώς επίσης και την επαγωγή της ιστόνης Η1ο. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός πως η επαγωγή της ιστόνης Η1ο φαίνεται να αυξάνεται με την ηλικία του δότη. Τα αποτελέσματα δείχνουν πως η απόκριση των Τ λεμφοκυττάρων στην TSA είναι συνάρτηση της ηλικίας.

THE ROLE OF HISTONE H1o AND HISTONE H4 ACETYLATION DURING SENESCENCE AND APOPTOSIS OF T LYMPHOCYTES

Kypreou A.P., Sourlingas T.G., Sekeri- Pataryas K.E.

E.K.E.F.E. DEMOKRITOS, Institute of Biology

Trichostatin A (TSA), a very specific histone deacetylase inhibitor, in vitro induces a senescent like state and/or apoptosis depending on the experimental system used. Acetylation and hyperacetylation induced by TSA are related to the inductive expression of various genes including that of the linker histone variant H1o which accumulates during the process of terminal differentiation. Results from previous studies in our lab showed for the first time that in human peripheral blood T lymphocytes TSA induces the expression of H1o, H4 hyperacetylation and the concomitant induction of apoptosis. T lymphocytes are an ideal system to study H1o since under normal circumstances they do not express this linker histone variant. In this study, human T lymphocytes were isolated from donors of different ages in order to investigate the degree of apoptosis, induction of H1o and acetylation as a function of increasing age of the donor. Analysis was conducted 72 hours after the mitogenic stimulation of lymphocytes in culture, which under normal circumstances are in Go phase. At this time, cells are in the S phase of the cell cycle. Results obtained thus far show a decrease in total histone synthesis with increasing donor age. After treatment with TSA this decrease is more pronounced. Furthermore treatment with TSA induces tetracetylation of histone H4, the simultaneous diminution of the non-acetylated form of histone H4 and histone H1o induction. Interestingly, induction of H1o appears to increase with increasing donor age. Our results show that the response of T lymphocytes to TSA is a function of increasing donor age.

ΑΠΟΚΩΔΙΚΟΠΟΙΩΝΤΑΣ ΤΟΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟ ΚΩΔΙΚΑ ΤΩΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ

Κουτρούμπας Γ., Αγαλιώτη Θ., Μερίκα Μ., Λομβαρδάς Σ., Θάνος Δ.

Ινστιτούτο μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Ερευνητικό Κέντρο Βιοϊατρικών Επιστημών «Αλ. Φλέμιγκ», Βάρη-Αθήνα

Το ενισχυόσωμα της IFNβ (ιντερφερόνης-β) ενεργοποιεί τη μεταγραφή οικοδομώντας την κατά σειρά πρόσδεση τροποποιητικών παραγόντων της χρωματίνης και γενικών μεταγραφικών παραγόντων, που επάγουν τη μετατόπιση του νουκλεοσώματος που καλύπτει την κεντρική περιοχή του υποκινητή σε μια νέα θέση προς το 3' άκρο. Εδώ δείχνουμε ότι η μετατόπιση του νουκλεοσώματος στην καθοδική αυτή θέση, δημιουργώντας έτσι έναν ελέυθερο υποκινητή πριν τη συναρμολόγιση του ενισχυοσώματος, έχει ως αποτέλεσμα βασικές αλλαγές στο χρονικό πρότυπο και στην εξειδίκευση του σήματος στη μεταγραφική απόκριση. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι, η ταυτότητα ενός προγράμματος έκφρασης γονιδίου επιτυγχάνεται και διατηρείται με τη δυναμική αλληλεπίδραση μεταξύ συγκεκριμένων ενισχυοσωμάτων και συγκεκριμένων δομών της τοπικής χρωματίνης.

Επίσης αναφέρουμε και τα αποτελέσματα πειραμάτων που σχεδιάστηκαν για να διερευνηθεί η υπόθεση του ιστονικού κώδικα. Βρήκαμε ότι μόνο μία υποομάδα λυσινών στις ιστόνες H3 και H4 ακετυλιώνεται *in vivo* από τη δραστικότητα ακετυλοτρανσφεράσης του GCN5 συμπλόκου, κατά τη διάρκεια της ενεργοποίησης του γονιδίου της IFNβ. Ανακατασκευή ανασυνδιασμένων νουκλεοσωμάτων που φέρουν μεταλλάξεις στα συγκεκριμένα κατάλοιπα λυσίνης, αποκάλυψε το μηχανισμό της ενεργοποίησης του γονιδίου, μέσω μιας σταδιακής ερμηνείας του ιστονικού κώδικα, διαμέσου της κατα σειρά πρόσδεσης μεταγραφικών συμπλόκων που περιέχουν περιοχές πρόσδεσης σε ακετυλιωμένες λυσίνες (bromodomains). Ακετυλίωση της λυσίνης 8 στην ιστόνη 4 διευκολύνει την πρόσδεση του συμπλόκου SWI/SNF, ενώ ακετυλίωση των λυσινών 9 και 14 στην ιστόνη 3 είναι κρίσιμη για την πρόσδεση του TFIID. Έτσι η πληροφορία που περιέχεται στην αλληλουχία του DNA του ενισχυτή μεταφέρεται στα αμινοτελικά άκρα των ιστονών με τη δημιουργία νέων επιφανειών πρόσδεσης που απαιτούνται για την πρόσδεση επιπρόσθετων μεταγραφικών συμπλόκων.

DECIPHERING THE TRANSCRIPTIONAL CODE OF HUMAN GENES

Koutroumbas G., Agalioti Th., Merika M., Lomvardas S., Thanos D.

Institute of Molecular Biology and Genetics, Biomedical Sciences Research Center "Al. Fleming", Vari-Athens.

The IFN-b 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. Here, we show that delivery of this nucleosome to the same downstream position to create an accessible IFN-b 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. 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. 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-b 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.

ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΗΣ ΑΝΤΛΙΑΣ ΑΝΤΑΛΛΑΓΗΣ Na^+-H^+ ΕΠΑΓΟΥΝ ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΣΕ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

[1]Κωνσταντινίδης Δ., [1]Καλογιάννη Μ., [2]Κολιάκος Γ.

[1]Εργ. Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Α.Π.Θ., Θεσ/νίκη 54124. [2]Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Α.Π.Θ. , Θεσ/νίκη 54124

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η ικανότητα πρόκλησης απόπτωσης συγκεκριμένων συγκεντρώσεων αμιλοριδίου (1mM) και του τροποποιημένου αναλόγου του EIPA (20nM), που είναι αναστολείς της αντλίας ανταλλαγής Na^+-H^+ (NHE1), σε δύο τύπους καρκινικών κυττάρων. Εξετάστηκε η μεταβολή του ενδοκυτταρικού pH (pHi) σε i) καρκινικά λεμφοκύτταρα ανθρώπου που απομονώθηκαν από αίμα και μυελό των οστών ασθενών με χρόνια λεμφοβλαστική λευχαιμία και ii) κύτταρα Hep-2 (καρκίνου του λάρυγγα) από κυτταροκαλλιέργειες, έπειτα από την επώασή τους με αμιλορίδιο για 1h, 3h και 5h. Παρατηρήθηκε ότι το αμιλορίδιο προκάλεσε αξιοσημείωτη πτώση του pHi και στους δύο τύπους καρκινικών κυττάρων έναντι καρκινικών χωρίς την επίδραση αμιλοριδίου. Παράλληλα, βρέθηκε ότι η επίδραση με αμιλορίδιο δεν προκάλεσε σημαντική μεταβολή στο pHi λεμφοκυττάρων από υγιείς δότες. Επιπλέον, και οι δύο τύποι καρκινικών κυττάρων επωάστηκαν με EIPA για 1h, 3h και 5h και κατόπιν μετρήθηκε η μεταβολή της αποπτωτικής δραστηριότητας με τη μέθοδο της annexin-V (φθορίζουσα ουσία). Στη συνέχεια, μέρος αυτών των κυττάρων επιστρώθηκε σε αντικειμενοφόρες πλάκες. Μετρήσεις με φθορισμόμετρο και παρακολούθηση σε μικροσκόπιο φθορισμού έδειξαν ότι το EIPA αύξησε το ποσοστό των καρκινικών κυττάρων που βρισκόταν στη φάση της απόπτωσης. Ακόμα, παρατηρήθηκε αυξημένη ενεργοποίηση της πρωτεΐνης caspase-3 (δείκτης απόπτωσης) των καρκινικών κυττάρων έπειτα από επώαση 5h με αμιλορίδιο. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι το αμιλορίδιο και το EIPA, μέσω της επίδρασής τους στην αντλία NHE1, επάγουν απόπτωση σε καρκινικά κύτταρα, αλλά όχι σε υγιή κύτταρα.

INHIBITORS OF THE Na^+-H^+ EXCHANGER INDUCE APOPTOSIS IN HUMAN CANCER CELLS

[1]Konstandinidis D., [1]Kaloyianni M., [2]Koliakos G.

[1]Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki 54124. [2]Laboratory of Biological Chemistry, School of Medicine, Aristotle University of Thessaloniki 54124

In the present study, the effect of certain concentrations of amiloride (1mM) and its modified analog EIPA (20nM), which are inhibitors of the Na^+-H^+ exchanger (NHE1), on the induction of apoptosis in two different types of cancer cells was examined. Changes in intracellular pH (pHi) in i) human lymphocytes isolated from the blood and bone marrow of patients with chronic lymphoblastic leukemia and ii) Hep-2 cells (cancer cells of the larynx) obtained from cell cultures, after incubation with amiloride for 1h, 3h and 5h were studied. A considerable drop in the pHi was observed in cancer cells incubated with amiloride compared to cancer cells in the absence of amiloride. Furthermore, amiloride did not seem to have any effect on the pHi of healthy lymphocytes. In addition, both types of cancer cells were incubated with EIPA for 1h, 3h and 5h and the change in the rate of apoptosis was measured using annexin-V (fluorescent substance). A portion of these cells was layered on observation plates. Fluorometric measurements and observations made with a fluorescence microscope showed that EIPA caused a rise in the percentage of cancer cells undergoing apoptosis. It was also found that incubation with amiloride for 5h resulted in the activation of the protein caspase-3 (an apoptosis indicator) in cancer cells. On the basis of these results, it is suggested that amiloride and EIPA, through their direct effect on the Na^+-H^+ exchanger, can induce apoptosis in cancer cells but not in healthy cells.

ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΑΛΓΟΡΙΘΜΟΙ ΚΑΙ ΕΞΕΛΙΞΗ ΣΕ ΝΚ ΤΟΠΙΑ ΑΡΜΟΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

Λαγκουβάρδος Η., Μπουγιούκος Κ., Σαλίχος Λ., [2]Σούρδη Α.

Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας Γ.Π.Α, [2]Πανεπιστήμιο του Leeds

Χρησιμοποιήσαμε γενετικούς αλγόριθμους τους οποίους δοκιμάσαμε σε τοπία ΝΚ αρμοστικότητας. Φαίνεται πως ο χρόνος που απαιτείται για μία εξελικτική πορεία μέσω ενός προσαρμοστικού τοπίου συσχετίζεται με την εσωτερική πολυπλοκότητα και τους περιορισμούς του συστήματος (οργανισμού). Ο συνολικός χρόνος βρίσκεται σε συσχέτιση με τον αριθμό των γόνων και τις επιστατικές σχέσεις μεταξύ τους. Γνωρίζοντας αυτούς τους αριθμούς μπορούμε στο περίπου να προβλέψουμε τον χρόνο για το επόμενο εξελικτικό βήμα ενός συγκεκριμένου συστήματος από το τοπικό μέγιστο στο επόμενο προσαμοστικότερο σημείο και τον χρόνο που απαιτείται για την διαδικασία να φτάσει στο συνολικό μέγιστο. Γνωρίζοντας τα εξελικτικά βήματα μπορούμε στο περίπου να υπολογίσουμε την τιμή του Κ. Με άλλα λόγια, γνωρίζοντας τον χρόνο που έχει περάσει στην ιστορία ενός εξελικτικού συστήματος ή την μορφή του προσαρμοστικού τοπίου μπορούμε να εκτιμήσουμε την εσωτερική συσχέτιση και τις επιστατικές συσχετίσεις στο σύστημα. Όσο πιο χρονοβόρα είναι η διαδικασία μεταξύ δυο εξελικτικών βημάτων τόσο μεγαλύτεροι οι περιορισμοί του συστήματος.

GENETIC ALGORITHMS AND EVOLUTION IN NK LANDSCAPE

Lagouvardos I., Bouyioukos C., Salichos L., [2]Sourdi A.

Department of Agricultural Biotechnology A.U.A., [2]University of Leeds

We are testing genetic algorithms which have been run on several NK landscapes. It seems like the time needed for an adaptive walk over a landscape is associate with the internal complexity and constraints of a given system (organism). The overall time is correlated with the number of genes and the epistatic relations between them. Knowing these numbers we can roughly predict the time for the next evolutionary step of a certain system from a local optima to the next fitter optimal and the approximate time needed for the procedure to reach the global optima. Knowing the evolutionary steps we can estimate the value of K, so by knowing the time passed in a systems evolutionary history or the shape of the fitness landscape the internal correlation and epistatic relations in that system could be calculated. The more time consuming is the process between two evolutionary steps, the more is the fixation and the constraints of the system.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΦΥΛΟΚΑΘΟΡΙΣΜΟΥ ΣΤΟ ΕΝΤΟΜΟ *Bactrocera oleae*

Λαγός Δ., Σαββίδου Ε., Κομητοπούλου Κ.

Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ

Οι τελευταίες μέθοδοι βιολογικού ελέγχου εντόμων οικονομικού ενδιαφέροντος, βασίζονται στην χρήση συστημάτων φυλοειδικής επιλογής με τη χρήση φυλοειδικών-φυλοκαθοριστικών γονιδίων, τα οποία δρουν είτε ως γονίδια αναφοράς, ή ως ρυθμιστές των εισαγόμενων γονιδίων ενδιαφέροντος. Για το σκοπό αυτό μελετήθηκαν τα γονίδια *dsx* (doublesex), *Sxl* (Sex-lethal) και *tra-2* (transformer-2) του φυλοκαθοριστικού καταρράκτη γονιδίων στο έντομο *B. oleae*. Και τα τρία γονίδια απομονώθηκαν με RT-PCR, χρησιμοποιώντας ως εναρκτήρια μόρια, ολιγονουκλεοτίδια που προέκυψαν από τις πιο συντηρημένες περιοχές των ομόλογων γονιδίων άλλων εντόμων κυρίως στις Δροσοφιλίδες. Γενωμικοί και cDNA κλώνοι απομονώθηκαν από μία γενωμική και δύο cDNA (ενήλικων αρσενικών-θηλυκών ατόμων) βιβλιοθήκες αντίστοιχα.

Ανάλυση της πρωτοταγούς δομής των cDNA κλώνων του *BoSxl*, καθώς επίσης και ανάλυση της έκφρασης του γονιδίου με RT-PCR και υβριδισμούς κατά Northern, επιβεβαίωσε την ύπαρξη ενός όμοιου μετάγραφου μήκους 2.3 kb σε ενήλικα αρσενικά και θηλυκά άτομα. Το γονίδιο παρουσιάζει μεγάλο βαθμό ομοιότητας με το *C. capitata Sxl*, έχοντας χάσει το φυλοκαθοριστικό του ρόλο του. Το γονίδιο *Bodsx* καταλαμβάνει μία χρωμοσωμική περιοχή 55 kb, με 6 εξώνια-5 εσώνια, και παράγει διαφορετικά φυλοειδικά μετάγραφα κατά το πρότυπο της *D. melanogaster*. Οι cDNA κλώνοι που μελετήθηκαν εμφανίζουν μεγάλη ομολογία με τα αντίστοιχα μετάγραφα των οργανισμών *C.capitata* και *B.tryoni*.

Το γονίδιο *Botra-2* που θεωρείται ο ρυθμιστής ματίσματος του *Bodsx,* καταλαμβάνει μία χρωμοσωμική περιοχή 4.3 kb και οργανώνεται σε 8 εξώνια – 7 εσώνια. Ανάλυση των cDNA κλώνων, ανέδειξε ένα μετάγραφο 1.6 kb το οποίο εκφράζεται και στα δύο φύλα. Το προβλεπόμενο πολυπεπτίδιο αποτελείται από 251 αμινοξέα και περιέχει την περιοχή πρόσδεσης σε RNA (RRM-RNA Recognition Motif) με δύο εκατέρωθεν περιοχές πλούσιες σε σερίνη-αργινίνη (SR regions) περιοχές, όπως και στην *D.melanogaster*. Ανάλυση της έκφρασης του γονιδίου με RT-PCR ανέδειξε δύο επιπλέον αρρενοειδικά μετάγραφα. Απομόνωση και ανάλυση ενός cDNA κλώνου έδειξε ότι αντιστοιχεί σε ένα από τα δύο αυτά μετάγραφα. Η προβλεπόμενη αμινοξική αλληλουχία του έδειξε ότι κωδικοποιεί μια ισομορφή της TRA-2[251], με διαφορετικό αμινοτελικό άκρο, η οποία είναι πιθανό να συμμετέχει σε ένα μηχανισμό αυτορύθμισης του γονιδίου *tra-2* που είναι γνωστός στις Δροσοφιλίδες.

Η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Παν. Αθηνών και τη Γ.Γ.Ε.Τ.

SEX-DETERMINING GENES IN THE INSECT *Bactrocera oleae*

Lagos D., Savvidou E., Komitopoulou K.

Division of Genetics and Biotechnology, Department of Biology, University of Athens

The most recent ways of insect biological control are based on the existence of a sex-specific selection system in combination with the use of sex-specific genes or sex-specific promoters, which act as reporter genes or regulators of the inserted gene of interest.

We are studying the genes *dsx* (doublesex), *sxl* (sex-lethal) and *tra-2* (transformer-2) of the sex-determining cascade, in the insect *B.oleae*. The three of them were isolated by RT-PCR, using primers from the most conserved regions of their homologues in Drosophilidae. Genomic and cDNA clones were obtained from a genomic and separate female and male adult cDNA libraries, respectively.

Bodsx gene expands in a chromosomal region of 55kb with 6 exons-5 introns, producing different sex-specific mRNAs according to the *Drosophila* model. The studied cDNA clones are highly conserved to their homologues of *C.capitata* and *B.tryoni*.

Analysis of the *BoSxl* cDNA clones and their expression patterns using RT-PCR and Northern blots, confirmed the presence of the same transcript 2.3kb in both female and male adult flies. The gene shares a high degree of similarity with its medfly homologue and, as in medfly, it has lost its regulatory role as sex-determining gene.

Tra-2, the conditional splicing regulator of *doublesex*, holds a region of 4.3kb in *B.oleae*, organized in 8 exons - 7 introns. Analysis of the cDNA clones revealed a transcript of 1.6kb expressed equally in both sexes. The predicted polypeptide chain consisting of 251 amino acids, has an RNA Recognition Motif and two flanking serine-arginine regions, also present in the Drosophilidae TRA2 isoforms. RT-PCR analysis showed additional transcripts (present in very low levels in females). One of those "male-specific" transcripts was isolated and found to code for an isoform of the $BoTRA2^{251}$, with different amino-terminal end. This isoform probably participates in an autoregulation mechanism, known to function in Drosophilidae.

This work was supported by the University of Athens and the Greek General Secretariat of Research and Technology

ΚΑΤΕΥΘΥΝΟΜΕΝΟΣ-ΑΠΟ-ΤΗ-ΔΟΜΗ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΦΑΡΜΑΚΩΝ. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ

Λεωνίδας Δ.Δ.

Ινστιτούτο Βιολογικών Ερευνών & Βιοτεχνολογίας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, Λεωφ. Βασ. Κωνσταντίνου 48, 116 35, Αθήνα, ddl@eie.gr

Ο κατευθυνόμενος-από-τη-δομή σχεδιασμός εξειδικευμένων ενώσεων έναντι πρωτεϊνών-στόχων φαρμακολογικού ενδιαφέροντος, αποτελεί ένα από τα πλέον σύγχρονα μέσα σχεδιασμού φαρμάκων τα τελευταία χρόνια. Βασική προϋπόθεση για το σχεδιασμό, είναι η κατανόηση της μοριακής αναγνώρισης των μικρών μορίων από τις πρωτεΐνες-στόχους. Η τρισδιάστατη κρυσταλλική δομή συμπλόκων της πρωτεΐνης με μικρά μόρια προσδέτες και η ανάλυση των δομικών χαρακτηριστικών σύνδεσης, προσφέρουν το υπόβαθρο για το σχεδιασμό και την ανάπτυξη ειδικών, ισχυρών προσδετών του μακρομοριακού στόχου. Υπολογιστικές μέθοδοι σε συνδυασμό με προγράμματα γραφικών χρησιμοποιούνται αρχικά, για την ανάπτυξη και βελτίωση μιας πρόδρομης ένωσης. Επίσης, χρησιμοποιούνται τα δομικά χαρακτηριστικά του κέντρου σύνδεσης για τον εικονικό διαχωρισμό εξειδικευμένων ενώσεων από μεγάλες βιβλιοθήκες ή για το de novo σχεδιασμό προσδετών. Στη συνέχεια απαιτείται ο προσδιορισμός της τρισδιάστα-της δομής συμπλόκων πρωτεΐνης-προσδέτη για την πειραματική επιβεβαίωση των θεωρητικών υπολογισμών και την περαιτέρω ανάπτυξη των εν δυνάμει φαρμάκων. Στο συνέδριο θα παρουσιασθούν οι τελευταίες πειραματικές και θεωρητικές προσεγγίσεις στον κατευθυνόμενο-από-τη-δομή σχεδιασμό φαρμάκων μέσα από την παρουσίαση ερευνητικών αποτελεσμάτων, στο σχεδιασμό ισχυρών αναστολέων (Ι) της δράσης της φωσφορυλάσης του γλυκογόνου (στόχου για την ανάπτυξη υπογλυκαιμικών και αντιδιαβητικών φαρμάκων για την θεραπεία του διαβήτη τύπου 2) και (ΙΙ) της ριβονουκλεολυτικής δράσης πρωτεϊνών της οικογένειας της πανκρεατικής ριβονουκλεάσης Α (στόχοι για την ανάπτυξη αντιαγγειογενετικών, αντιφλεγμονωδών και ογκοκατασταλτικών φαρμάκων).

STRUCTURE-AIDED DRUG DESIGN. EXPERIMENTAL AND COMPUTATIONAL APPROACHES

Leonidas D.D.

Institute of Biological Research & Biotechnology, The National Hellenic Research Foundation, 48, Vas. Constantinou Ave. 116 35 Athens, ddl@eie.gr

Structure-aided design of specific molecules against protein-targets of pharmacological importance has emerged during the recent years as an important tool for drug design. A prerequisite for the design is an understanding of the principles that govern molecular recognition in protein-ligand complexes. The three-dimensional crystal structure of protein-ligand complexes offers a wealth of information on the binding mode and conformation of the ligand. Computational methods supplemented by molecular graphics use this information for the initial development and optimization of a lead compound. The features of the protein binding-pocket are also used for virtual screening of large compound libraries or to design ligands de novo. Theoretical results should be confirmed experimentally by the determination of the crystal structure of the target-protein in complex with the most potent of the compounds, which will also provide the scaffold for further optimization of the ligands. In the meeting, presenting our latest results of the structure-aided design of potent inhibitors specific for (I) glycogen phosphorylase (macromolecular target for the development of hypoglycaemic drugs for type 2 diabetes therapy) and (II) members of the pancreatic riobonuclease A superfamily (macromolecular targets for the development of antiangiogenetic, anti-inflammatory and tumor suppressor drugs), we will describe recent experimental and computational approaches in the structure-aided drug design process.

ΥΨΗΛΗΣ ΕΥΚΡΙΝΕΙΑΣ ΚΡΥΣΤΑΛΛΙΚΕΣ ΔΟΜΕΣ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΤΗΣ RNASE A ΜΕ ΑΔΕΝΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΟΥΡΙΔΙΝΙΛΙΚΑ ΦΩΣΦΟ-ΝΟΥ-ΚΛΕΟΤΙΔΙΑ. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΟΝ ΚΑΤΕΥΘΥΝΟΜΕΝΟ-ΑΠΟ-ΤΗ-ΔΟΜΗ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟ ΦΑΡΜΑΚΩΝ

[1]Λεωνίδας Δ.Δ., [2]Χρυσίνα Ε.Δ., [2]Κοσμοπούλου Μ.Ν., [1,2]Οικονομάκος Ν.Γ.

[1]Ινστ. Βιολογικών Ερευνών & Βιοτεχνολογίας. [2]Ινστ. Οργανικής και Φαρμακευτικής Χημείας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, Βασιλέως Κων/νου 48, 116 35 Αθήνα

Οι κρυσταλλικές δομές συμπλόκων της πανκρεατικής ριβονουκλεά-σης Α (RNase A) με 3',5'-ADP, 2',5'-ADP, 5'-ADP, U-2'-p και U-3'-p προσδιορίστηκαν σε υψηλή ευκρίνεια. Οι δομές απεκάλυψαν πως κά-θε αναστολέας συνδέεται διαφορετικά στο ενεργό κέντρο της RNase A τοποθετώντας μία φωσφορική ομάδα στο υποκέντρο P_1. Ο πλέον ισχυρός αναστολέας, η 5'-ADP (K_i=1.2 μM), βρίσκεται στην syn διαμόρφωση (σε αντίθεση με τις 3',5'-ADP και 2',5'-ADP που βρίσκονται στην διαμόρφωση anti) ενώ η β- αντί της α-φωσφορικής ομάδας συνδέεται στο P_1. Η 3',5'-ADP συνδέεται με την 5'-φωσφορική ομάδα στο P_1 και την αδενοσίνη στο υποκέντρο B_2. Η 2',5'-ADP συνδέεται με δύο διαφορετικούς τρόπους στο κάθε ένα από τα δύο μόρια RNase A στην ασύμμετρη μονάδα έχοντας την 3' ή την 5' φωσφορική ομάδα στο υποκέντρο P_1 και την αδενοσίνη σε δύο ξεχωριστές θέσεις στο B_2. Οι δύο ουριδινιλικοί αναστολείς συνδέονται παρόμοια στο καταλυτικό κέντρο έχοντας την ουριδίνη στο υποκέντρο B_1 αλλά διαφορετικές φωσφορικές ομάδες στο P_1 (2' vs 3') και σαν συνέπεια εμφανίζουν σημαντικές διαφορές στις σταθερές αναστολής τους. Συγκριτική δομική ανάλυση συμπλόκων της ηωσινοφιλικής νευροτοξίνης, της ηωσινοφιλικής κατιονικής πρωτεΐνης και της αγγειογενίνης με αυτά τα σύμπλοκα της RNase A προσφέρει πολύτιμες πληροφορίες για τον κατευθυνόμενο-από-τη-δομή σχεδιασμό ισχυρών ριβονουκλεολυτικών αναστολέων, ειδικών για κάθε RNase που θα μπορούσαν να αποτελέσουν εν δυνάμει αντιφλεγμονώδη και ογκοκατά-σταλτικά φάρμακα.

HIGH-RESOLUTION CRYSTAL STRUCTURES OF RIBONUCLEASE A IN COMPLEX WITH ADENYLIC AND URUDILIC PHOSPHO-NUCLEOTIDES. IMPLICATIONS FOR STRUCTURE-AIDED DRUG DESIGN ON RIBONUCLEASES

[1]Leonidas D.D., [2]Chrysina E.D., [2]Kosmopoulou M.N., [1,2]Oikonomakos N.G.

[1]Inst. of Biological Research & Biotechnology. [2]Inst. of Organic and Pharmaceutical Chemistry, National Hellenic Research Foundation, 48, Vas. Constantinou Ave. 116 35 Athens, Greece

The crystal structures of bovine pancreatic ribonuclease A (RNase A) in complex with 3',5'-ADP, 2',5'-ADP, 5'-ADP, U-2'-p and U-3'-p have been determined at high resolution. The structures reveal that each inhibitor binds differently in the RNase A active site by anchoring a phosphate group in subsite P_1. The most potent inhibitor of all five, 5'-ADP (K_i=1.2 μM), adopts a syn conformation (in contrast to 3',5'-ADP and 2',5'-ADP which adopt the anti conformation) and it is the β- rather than the a-phosphate group that binds to P_1. 3',5'-ADP binds with the 5'-phosphate group in P_1 and the adenosine in the B_2 pocket. Two different binding modes are observed in the two RNase A molecules of the asymmetric unit for 2',5'-ADP. This inhibitor binds with either the 3' or the 5' phosphate groups in subsite P_1 and in each case, the adenosine binds in two different positions within the B_2 subsite. The two uridilyl inhibitors bind similarly to the active site with the uridine moiety in the B_1 binding subsite but the placement of a different phosphate group in P_1 (2' vs 3') has significant implications on their potency against RNase A. Comparative structural analysis of the RNase A, eosinophil derived neurotoxin (EDN), eosinophil cationic protein (ECP) and human angiogenin (Ang) complexes with these and other phosphonucleotide inhibitors, provides a wealth of information for structure-based design of potent ribonucleolytic inhibitors specific for each RNase homologue. These ribonucleolytic inhibitors could be developed to therapeutic agents to control the biological activities of RNase homologues, EDN, ECP and human angiogenin that play key role in human pathologies.

ΕΝΑ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΟ ΕΡΓΑΛΕΙΟ ΣΤΟΝ ΠΑΓΚΟΣΜΙΟ ΙΣΤΟ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΛΟΓΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΚΟΛΟΥΘΙΩΝ ΑΠΟ ΕΝΑ ΔΕΔΟΜΕΝΟ ΣΥΝΟΛΟ, ΜΕ ΟΜΟΙΟΤΗΤΑ/ΟΜΟΛΟΓΙΑ ΚΑΤΩ ΑΠΟ ΕΝΑ ΕΠΙΠΕΔΟ ΚΑΘΟΡΙΖΟΜΕΝΟ ΑΠΟ ΤΟ ΧΡΗΣΤΗ

Λιακόπουλος Θ.Δ., Μπάγκος Π.Γ., Αλεξόπουλος Ι.Κ., Χαμόδρακας Σ.Ι.

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 01

Τα αντιπροσωπευτικά σύνολα δεδομένων έχουν αποφασιστική σημασία στην ανάλυση βιολογικών ακολουθιών. Χρησιμοποιούνται μεταξύ άλλων στην ανάπτυξη νέων αλγορίθμων πρόγνωσης, στον έλεγχο της αξιοπιστίας υπαρχόντων αλγορίθμων και στην εξαγωγή στατιστικών συμπερασμάτων βάσει της αμινοξικής ή νουκλεοτιδικής σύστασης. Υπάρχει η απαίτηση τα σύνολα δεδομένων αυτά να μην περιλαμβάνουν ακολουθίες περισσότερο όμοιες από ένα προκαθορισμένο επίπεδο. Έχουμε αναπτύξει μια εφαρμογή στον παγκόσμιο ιστό (WWW) η οποία χρησιμοποιεί ως είσοδο ένα αρχικό σύνολο N ακολουθιών και παράγει ένα σύνολο το οποίο ικανοποιεί ένα καθορισμένο από το χρήστη όριο ομοιότητας. Αρχικά, ο αλγόριθμος εκτελεί όλες τις στοιχίσεις BLAST κατά ζεύγη των ακολουθιών του αρχικού συνόλου και δημιουργεί έναν NxN πίνακα αποστάσεων, όπως αυτές καθορίζονται από τα επί τοις % ποσοστά ομοιότητας Κατά το επόμενο βήμα, ο αλγόριθμος απορρίπτει την ακολουθία με τις περισσότερες γειτονικές, έτσι ώστε αυτή να μην προσμετρηθεί ως γειτονική καμίας άλλης ακολουθίας κατά τα επόμενα βήματα. Στη συνέχεια επανακαθορίζεται ο αριθμός των γειτονικών της κάθε ακολουθίας και επαναλαμβάνεται το προηγούμενο βήμα μέχρις ότου, οι εναπομείνασες πρωτεΐνες να μην έχουν γειτονικές. Ο χρήστης έχει τη δυνατότητα να καθορίσει το όριο ομοιότητας και το ελάχιστο μήκος κάλυψης των στοιχίσεων. Ακολουθίες με ομοιότητα κάτω του ορίου ή με στοίχιση μικρότερης κάλυψης από το ελάχιστο μήκος δε θεωρούνται γειτονικές. Η εφαρμογή είναι διαθέσιμη στον ιστότοπο

http://biophysics.biol.uoa.gr/NON-RED

A WEB TOOL TO SELECT BIOLOGICAL SEQUENCES FROM A GIVEN SET, WITH SIMILARITY/HOMOLOGY LESS THAN A USER-DEFINED LEVEL

Liakopoulos Th.D., Bagos P.G., Alexopoulos I.K., Hamodrakas S.J.

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 157 01

Representative data sets are crucial in biological sequence analysis. Their applications include the development of new predictive algorithms, testing the performance of existing methods and drawing statistical inferences based on the aminoacid or base composition. A data set used for such purposes is usually required to satisfy a predetermined redundancy level, meaning that it should not include two sequences with similarity/homology higher than a predetermined value. We have created a web-based application that takes as input a set of N sequences and outputs a set of sequences of user-determined redundancy. Initially, the algorithm runs an all-against-all BLAST alignment on the input data set and creates an NxN matrix of pairwise distances defined by the similarity percentages. In the next step, the algorithm removes the sequence with the largest number of neighbors, causing that sequence not to be counted as a neighbor of any other sequence during the next iterations. It then reassesses the number of neighbors of each sequence and repeats the previous step until the sequences left over have no more neighbors. The user can specify the similarity (%) threshold and the minimum coverage length of the alignments. Sequences with a similarity below the threshold or a smaller coverage than the minimum length are not considered to be neighbors. A web server running the application freely is located at

http://biophysics.biol.uoa.gr/NON-RED

ΑΥΤΟΜΕΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΥΔΡΑΡΓΥΡΟΥ ΣΤΟΥΣ ΝΕΦΡΟΥΣ ΤΟΥ ΒΑΤΡΑΧΟΥ *Rana ridibunda*

Λουμπουρδής Ν.

Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης. ΤΚ 54124, Θεσσαλονίκη

Ερευνήθηκε με τη μέθοδο της αυτομεταλλογραφίας η απόθεση υδραργύρου στους νεφρούς του βατράχου *Rana ridibunda*. Η αυτομεταλλογραφία είναι μια νέα τεχνική, η οποία αν εφαρμοσθεί κατάλληλα, μπορεί ιστοχημικά να αποκαλύψει ορισμένα μέταλλα στους ιστούς, όπως ο άργυρος, ο ψευδάργυρος, ο υδράργυρος, ο χρυσός και το βισμούθιο. Οι βάτραχοι εκτέθηκαν σε 1 ppm υδραργύρου (ως $HgCl_2$) επί 6 ημέρες. Ο κύριος όγκος των κόκκων υδραργύρου εντοπίσθηκε στα άπω εσπειραμένα νεφρικά σωληνάρια. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι όλα αυτά τα σωληνάρια δεν χρωματίζονται με την ίδια ένταση, πράγμα που δείχνει ότι όλα τα σωληνάρια δεν αποταμιεύουν την ίδια ποσότητα υδραργύρου. Μάλιστα παρατηρούνται τρεις διαβαθμίσεις της έντασης, πολύ μικρή, μέτρια και πολύ μεγάλη. Αυτή η συμπεριφορά των σωληναρίων μας παραπέμπει στη συμπεριφορά των αντίστοιχων σωληναρίων των θηλαστικών, τα οποία διαχωρίζονται σε S_1,S_2 και S_3, τα οποία δέχονται διαφορετικές ποσότητες υδραργύρου. Τα άλλα τμήματα των νεφρών, ιδίως τα εγγύς εσπειραμένα σωληνάρια, παρουσιάζουν πολύ λίγους κόκκους. Παρατηρήθηκε, ως συνέπεια της έκθεσης στον υδράργυρο, διεύρυνση των αιμοφόρων αγγείων των νεφρών. Παρατηρήθηκαν επίσης ιστολογικά τμήματα των νεφρικών σωληναρίων που δεν έχουν περιγραφεί.

AYTOMETALLOGRAPHIC STUDY OF MERCURY DEPOSITION IN THE KIDNEYS OF THE FROG *Rana ridibunda*

Loumbourdis N.

Department of Zoology, School of Biology, University of Thessaloniki. TK 54124, Thessaloniki

The deposition of mercury in the kidneys of frog *Rana ridibunda* with the method of autometallography was investigated. Aytometallography is a new technique, which, if applied suitably, can reveal histochemically certain metals in the tissues, such as silver, zinc, mercury, gold and bismuth. The frogs were exposed in 1 ppm mercury (as $HgCl_2$) for 6 days. The main volume of grains of mercury was located in proximal convoluted tubules. Of interest is all these tubes are not colored with the same intensity, which shows that that all the tubules do not save up the same quantity of mercury. The study showed that there are three graduations of intensity, very low, medium and very high. This behavior of tubules corresponds to the behavior mammalian tubules, which are separated in S1, S2 and S3 segments, and accept different quantities of mercury. The other parts of kidneys, especially the proximal convoluted tubules, present a lot few grains. There was observed, as result of exposure to mercury, enlargement of blood vessels of kidneys. There were also observed histological parts of kidney tubules, which have not been described yet.

ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗ ΒΙΟΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗ ΠΕΤΡΕΛΑΪΚΩΝ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝ-ΘΡΑΚΩΝ ΣΕ ΕΝΔΟΓΕΝΕΙΣ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΟΥΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΕΠΙΒΑΡΥΜΕΝΩΝ ΕΔΑΦΙΚΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Λυμπεροπούλου Δ.Σ., Ρεντινιώτη Α.Α., Μεϊντάνης Χ.Κ., Χάλκου Κ.Ι., Καραγκούνη Α.Δ.

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 157 81, Αθήνα

Τα πετρελαϊκά απόβλητα και μια σειρά άλλων προϊόντων που έχουν ως βάση το πετρέλαιο αποτελούν σοβαρή εστία ρύπανσης του περιβάλλοντος, αφού περιέχουν υψηλού μοριακού βάρους υδρογονάνθρακες, καθώς και αρωματικά συστατικά που ελάχιστα αποικοδομούνται στη φύση. Η δυνατότητα χρήσης μικροοργανισμών με βιοαποικοδομητική δραστηριότητα έναντι πετρελαϊκών υδρογονανθράκων για την εξυγίανση επιβαρυμένων περιοχών είναι αποδεδειγμένη, ενώ οι περισσότερες από τις μικροβιακές μεταβολικές οδούς, που σχετίζονται με τον καταβολισμό πετρελαϊκών υδρογονανθράκων έχουν ευρύτατα μελετηθεί.

Στην παρούσα εργασία έγινε προσπάθεια καταγραφής του ενδογενούς βακτηριακού πληθυσμού μιας περιοχής που δέχεται εναποθέσεις πετρελαϊκών αποβλήτων. Για το σκοπό αυτό επιλέχτηκαν τρία 'landfarms' με διαφορετικούς χρόνους τελευταίας εναπόθεσης. Η διάκριση των βακτηριακών στελεχών που απομονώθηκαν έγινε με βάση τα διαφορετικά πρότυπα που προέκυψαν με αντίδραση BOX PCR. Στη συνέχεια έγινε έλεγχος για την παρουσία γονιδίων που κωδικοποιούν ένζυμα «κλειδιά» του καταβολισμού αρωματικών και αλειφατικών υδρογονανθράκων σε όλα τα απομονωθέντα στελέχη με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης και DNA υβριδισμό και με χρήση γνωστών και εξαιρετικά συντηρημένων αλληλουχιών των γονιδίων καταβολισμού που εντοπίζονται στο γένος *Pseudomonas*. Σε αυτήν την εργασία συζητείται η εξάπλωση των γονιδίων αυτών στα απομονωθέντα θετικά και αρνητικά βακτηριακά στελέχη.

OCCURRENCE OF PETROLEUM BIODEGRADATION GENES IN INDIGENOUS BACTERIAL POPULATION FROM CONTAMINATED SOIL SAMPLES

Lymperopoulou D.S., Redinioti A.A., Meintanis C.K., Chalkou K.I., Karagouni A.D.

Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, Athens, 15781

Petroleum residues and a number of petroleum-based products pose an environmental problem, because of their content in high molecular mass hydrocarbons and in aromatic constituents, which are poorly degradable in nature. It's well established that biodegradative microorganisms can be used for the bioremediation of polluted sites, while most of the hydrocarbon metabolic pathways have been intensively studied.

In this work, we aimed to analyse the indigenous bacterial population from an oil-residual contaminated soil. To achieve that, three landfarms with different deposition periods were selected for bacteria isolation. The differentiation of the isolated bacterial strains was studied by analysis of their genomic fingerprints in a BOX-PCR reaction. All the isolated bacterial strains were tested for the presence of genes encoding for key enzymes of both aromatic and aliphatic hydrocarbon degradation pathways. The detection was performed by polymerase chain reaction and DNA hybridization by using highly conserved sequences of biodegradation-related genes in *Pseudomonas* sp. as primers. In this work, we studied the distribution of these genes in both Gram$^+$ and Gram$^-$ isolated bacterial strains.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΑΚΤΙΝΟ-ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΕΔΑΦΟΥΣ ΠΡΟΕΡΧΟΜΕΝΑ ΑΠΟ ΡΙΖΟΣΦΑΙΡΑ ΕΛΙΑΣ ΚΑΙ ΧΑΡΟΥΠΙΑΣ

Μαγκούτα Σ., Μεϊντάνης Χ., Κατσίφας Ε., Καραγκούνη Α.Δ.

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 15781, Αθήνα

Η ελιά (*Olea europe*) και η χαρουπιά (*Ceratonia siliqua*) αποτελούν δύο από τα ευρέως διαδεδομένα φυτά του ελλαδικού χώρου. Σκοπός της ερευνητικής μας προσπάθειας ήταν η μελέτη των κοινωνιών των ακτινοβακτηρίων σε δείγματα εδάφους από τη ριζόσφαιρα των δύο φυτών. Όπως είναι γνωστό η ομάδα των ακτινοβακτηρίων περιλαμβάνει περισσότερα από 100 γένη Gram-θετικών βακτηρίων που παρουσιάζουν ακανόνιστα βακκιλοειδούς μορφής κύτταρα ή μυκηλιακές μορφές με ή χωρίς διακλαδώσεις. Συναντώνται σε μια ποικιλία οικοσυστημάτων με σημαντικότερο εκείνο του εδάφους, όπου είναι ιδιαίτερα άφθονοι κυρίως στα επιφανειακά στρώματα. Αποτελούν ενδιαφέρουσα ομάδα μικροοργανισμών λόγω της ικανότητας παραγωγής ενώσεων με μεγάλο οικονομικό ενδιαφέρον όπως είναι αντιβιοτικά, εξωκυτταρικά ένζυμα, αναστολείς ενζύμων κ.α. Από τα δύο εδαφικά δείγματα απομονώθηκαν συνολικά 230 στελέχη Gram-θετικών βακτηρίων. Τα στελέχη αυτά ελέγχθηκαν χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) με ειδικούς υποκινητές για την ομάδα των ακτινοβακτηρίων. Βρέθηκε ότι τα 180 ανήκουν στα ακτινοβακτήρια. Από αυτά τα 125 ήταν στελέχη του γένους *Streptomyces* τα οποία ταυτοποιήθηκαν με βάση βιοχημικά, φυσιολογικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά σύμφωνα με τη μέθοδο των Williams και συνεργατών (1984). Και στα δύο δείγματα εδάφους επικρατέστερες ταξινομικές ομάδες ήταν οι *Streptomyces rochei, S. griseus* και *S. collinus*.

COMMUNITY ANALYSIS OF THE ACTINOBACTERIA POPULATION IN SOIL SAMPLES FROM *Olea europea* AND *Ceratonia siliqua*

Magkouta S., Meintanis C., Katsifas E.A., Karagouni A.D.

Section of Botany, Department of Biology, University of Athens,15781, Athens

Olive tree (*Olea europea*) and carob tree (*Ceratonia siliqua*) are two of the most common species of Greece. Our aim was to study the diversity of actinobacteria communities in soil samples from the rhizosphere of the two plants. Actinobacteria consist of more than 100 genera of Gram-positive bacteria that form branching hyphae or bacilli-like cells. Actinobacteria strains are widespread in natural environments e.g. land, see, river, atmosphere etc, but soil is the most popular habitat where they play an important role in decomposition processes and their populations are extremely high in comparison with other bacterial taxa. They produce a broad range of different metabolites such as antibiotics, extracellular enzymes, enzyme inhibitors etc., being therefore financially important. A total of 230 Gram-positive bacteria have been isolated from the two soil samples. The extracted DNA was amplified using PCR analysis with primers specific for actinobacteria. 180 actinobacteria were found, 125 of which belong to the *Streptomyces* genus. *Streptomyces* strains were identified using morphological, biochemical and physiological characteristics according to Williams *et al*. *Streptomyces rochei*, *S. griseus* and *S. collinus* were the most common cluster groups among isolated actinobacteria strains in both soil samples.

ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΧΑΡΤΗΣ ΤΟΥ ΚΥΠΑΡΙΣΣΙΟΥ (*Cupressus sempervirens* L.) ΒΑΣΙΣΜΕΝΟΣ ΣΕ RAPD, SCAR ΚΑΙ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ

[1,2]Manescu, C., [1,3]Maios C., [1,4]Hamamouch N., [1,5]Harfouche A., [6]Ντούλης Α., [7*]Αραβανόπουλος Φ.Α.

*[1]Εργαστήριο Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Γεωπονίας Μεσογειακό Αγρο-νομικό Ινστιτούτο Χανίων, [2]Παρούσα Δ/ση: Faculty of Horticulture, Dendrology and Landscape, University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, [3]Παρούσα Δ/ση: Department of Plant Science, McGill University, [4]Παρούσα Δ/ση: Department of Plant Pathology, Physiology and Weed Science, Virginia Polytechnic Institute and State University, [5]Παρούσα Διεύθυνση: Department of Biology, University of Viterbo, [6]Παρούσα Δ/ση: Ινστιτούτο Λαχανοκομίας και Αμπέλου, ΕΘΙΑΓΕ, Ηράκλειο, [7]Εργαστήριο Δασικής Γενετικής και Βελτίωσης Δασικών Ειδών, Τμήμα Δασολογίας και Φυσικού Περιβάλλοντος, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Ηλεκτρ. Ταχ.: aravanop@for.auth.gr, *Presenting author*

Παρουσιάζεται ο πρώτος μοριακός γενετικός χάρτης για την οικογένεια *Cupressaceace* στο αειθαλές κυπαρίσσι (*Cupressus sempervirens* L), ένα από τα σημαντικότερα παραμεσογειακά κωνοφόρα και από τα πλέον ανθεκτικά σε περιβαλλοντικές καταπονήσεις. Εφαρμόστηκε η μεθοδολογία της ψευδοκριτικής διασταύρωσης με χρήση μοριακών (δείκτες τυχαία ενισχυμένου πολυμορφικού DNA–RAPD, δείκτες επισημανσμένων περιχών αλληλουχημένων άκρων–SCAR) και μορφολογικών (μορφή κόμης) δεικτών. Διερευνήθηκαν για σύνδεση 449 γονιδιακές θέσεις σε 57 άτομα (γονείς και F_1 γενεά). Από ένα σύνολο 326 πολυμορφικών γονιδιακών θέσεων, 188 παρουσίασαν σταθερότητα στην έκφραση και μενδελική κληρονομισιμότητα και 57 (30%) συμπεριλήφθησαν σε 11 ομάδες σύνδεσης για τιμές κατωφλίου LOD≥3,00 και θ≤0,25. Ακόμη 17 θέσεις προστέθηκαν στις ομάδες σύνδεσης κατόπιν μείωσης της αυστηρότητας των τιμών κατωφλίου (LOD=2,00, θ=0,40). Χρησιμοποιήθηκαν τα λογισμικά MAPMAKER και JOINMAP και χαρτογραφήθηκαν συνολικά 305 cM (χαρτογραφική συνάρτηση Kosambi). Τα μεγέθη των ομάδων σύνδεσης κυμαινόταν από 5.5 έως 55.7 cM. Εκτιμήθηκε ότι το μήκος του γονιδιώματος είναι 1535 cM και το μέγεθος γονιδιώματος 19.34 x 10^9 bp. Ο γενετικός χάρτης του κυπαρισσιού αποτελεί ένα πρώτο βήμα εφαρμογών μοριακής βελτίωσης (επισήμανση QTL, εφαρμογή MAS) και γονιδιωματικής.

Η έρευνα υποστηρίχθηκε μερικώς από το ερευνητικό πρόγραμμα FAIR-CT96-1341

A MOLECULAR LINKAGE MAP OF *Cupressus sempervirens* L.) BASED ON RAPD, SCAR AND MORPHOLOGICAL MARKERS

[1,2]Manescu, C., [1,3]Maios C., [1,4]Hamamouch N., [1,5]Harfouche A., [6]Doulis A., [7*]Aravanopoulos F.A.

*[1]Laboratory of Biotechnology, Department of Horticulture, Mediter-ranean Agronomic Institute of Chania, Greece; [2]Present address: Faculty of Horticulture, Dendrology and Landscape, University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, [3]Present address: Department of Plant Science, McGill University, [4]Present address: Department of Plant Pathology, Physiology and Weed Science, Virginia Polytechnic Institute and State University, [5]Παρούσα Διεύθυνση: Department of Biology, University of Viterbo, [6]Present address: Institute of Legumes and Viticulture, NAGREF, Heraklion, [7]Laboratory of Forest Genetics and Tree Breeding, Department of Forestry and Natural Environment, Aristotle University of Thessaloniki, Greece, e-mail: aravanop@for.auth.gr *Presenting author*

A molecular linkage map is presented for the first time in the *Cupressaceae* family, in particular in the common cypress (*Cupressus sempervirens* L), a low-elevation Mediterranean conifer notable for its stress tolerance. The "pseudo-testcross" mapping strategy was followed by using RAPD, SCAR and morphological markers. In total, 449 loci resulting from the amplification of 57 samples of DNA, representing parents and F_1 progeny, were screened for polymorphism and linkage. From a total of 326 polymorphic loci, 188 presented Mendelian inheritance and 57 (30%) were assembled into 11 linkage groups at LOD≥3.00 and $\theta \leq 0.25$. An additional 17 markers were included in the linkage groups after relaxing the mapping thresholds (LOD=2.00, θ=0.40). The MAPMAKER and JOINMAP software packages were employed and in total 305 cM were mapped (Kosambi mapping function). Linkage groups ranged in size from 5.5 to 55.7 cM. Genome length was estimated at 1535 cM and genome size at 19.34 x 10^9 bp. The cypress genetic map represents a first step in the application of molecular breeding (determination of QTLs, application of MAS) and genomics approaches.

This research was partially supported by the research project FAIR-CT96-1341

ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΦΥΛΛΩΝ ΧΑΡΟΥΠΙΑΣ (*Ceratonia siliqua* L.) ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΑΡΙΝΗ ΚΑΙ ΦΘΙΝΟΠΩΡΙΝΗ ΑΥΞΗΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟ

Μαντζίκου Ε., Ριζοπούλου Σ.

Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 15781

Ένα από τα πιο μελετημένα φυτά του Μεσογειακού οικοσυστήματος (κυρίως για την "αξία" του καρπού της) η *Ceratonia siliqua* (χαρουπιά) Caesalpiniaceae, παρατηρήθηκε πως παρουσιάζει δύο αυξητικές περιόδους, ήτοι κατά την άνοιξη και το φθινόπωρο (Rhizopoulou et al. 1991; Meletiou-Christou et al. 1994). Η ανάπτυξη των φύλλων μελετήθηκε σε αυτοφυή δένδρα, στο αισθητικό δάσος τους Καισαριανής, για τρία διαδοχικά χρόνια. Η μελέτη αναφέρεται σε μετρήσεις νωπού και ξηρού βάρους, στο υδατικό περιεχόμενο και στο τάχος αύξησης των αναπτυσσόμενων φύλλων συγκριτικά με τα πλήρως ανεπτυγμένα (παλαιά) φύλλα, κατά τις δύο αυξητικές περιόδους. Ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι μετρήσεις του περιεχομένου σε χλωροφύλλη, απ' όπου προκύπτουν ενδείξεις για τη φωτοσυνθετική δραστηριότητα των αναπτυσσόμενων φύλλων. Αρχικά, παρατηρήθηκε σταδιακή αύξηση και κατόπιν ελάττωση του περιεχομένου σε ολική χλωροφύλλη (α+β), ενώ το περιεχόμενο σε χλωροφύλλη-α είναι μεγαλύτερο από το περιεχόμενο σε χλωροφύλλη-β. Κατά την ανάπτυξη των φύλλων, βρέθηκε ότι το περιεχόμενο σε άνθρακα σταδιακά αυξάνεται, ενώ το περιεχόμενο σε άζωτο σταδιακά μειώνεται. Τέλος, υπολογίστηκε ο λόγος C/N.

Βιβλιογραφία

Rhizopoulou S, Meletiou-Christou MS, Diamantoglou S. 1991. Water relations for sun and shade leaves of four Mediterranean evergreen sclerophylls. Journal of Experimental Botany 42: 627-635.

Meletiou-Christou MS, Rhizopoulou S, Diamantoglou S. 1994. Comparative study of nitrogen and storage substances in sun and shade leaves of four Mediterranean evergreen sclerophylls. Environmental and Experimental Botany 34: 129-140.

Η ερευνητική εργασία επιχορηγήθηκε από κοινό ερευνητικό πρόγραμμα της Ελλάδας με τη Γερμανία, ΓΓΕΤ-DAAD (70/3/3867).

A COMPARATIVE STUDY OF LEAF DEVELOPMENT OF CAROB TREE (*Ceratonia siliqua* L.), DURING THE SPRING AND AUTUMN GROWTH PERIOD

Mantzikou E., Rhizopoulou S.

Section of Botany, Department of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 15781

Ceratonia siliqua (carob tree) Caesalpiniaceae grows in Mediterranean Basin; the species has been extensively studied mainly due to the "value" of its beans. The main growth period of the species is during spring. However, a secondary growth period has been observed (Rhizopoulou et al. 1991; Meletiou-Christou et al. 1994) during autumn. The area of leaves developed during autumn is smaller (5 fold) than those expanded during spring. Thus, autumn primary productivity is restricted and it is not considered as such by many investigators. Restrictions and/or parameters involved in this secondary growing period are unknown. Nevertheless, new, expanding leaves are produced. In young expanding leaves, from a stand of tress of *Ceratonia siliqua* in Kessariani hill, the area, weight, water content, chlorophyll, carbon and nitrogen content have been investigated, during spring and autumn, for a three-year period. These results were compared with results from fully expanded leaves of the species, throughout the year.

References

Rhizopoulou S, Meletiou-Christou MS, Diamantoglou S. 1991. Water relations for sun and shade leaves of four mediterranean evergreen sclerophylls. Journal of Experimental Botany 42: 627-635.

Meletiou-Christou MS, Rhizopoulou S, Diamantoglou S. 1994. Comparative study of nitrogen and storage substances in sun and shade leaves of four mediterranean evergreen sclerophylls. Environmental and Experimental Botany 34: 129-140.

This work was supported by a Joint research project, between Greece and Germany (70/3/3867).

Η ΑΡΧΗ ΤΗΣ «ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΗΣ ΙΣΤΟΡΙΑΣ»

Μαργαρίτης Λ.Χ.

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 15784

Η επιστημονική επανάσταση που θεωρείται ότι κάλυψε τη χρονική περίοδο από το 1450 μέχρι το 1750 στη Δυτική Ευρώπη ήταν σχεδόν παράλληλη με την περίοδο της **Αναγέννησης** και συνδέεται με μεγάλα ονόματα **Στοχαστών, Φιλοσόφων, Καλλιτεχνών, Ποιητών, Μαθηματικών, Αστρονόμων και Εφευρετών**. Ιδιαίτερα κατά τον 16ο αιώνα παρατηρείται στις περισσότερες Δυτικοευρωπαϊκές χώρες μια κινητικότητα φιλοσοφικής και επιστημονικής αναζήτησης με τη δημιουργία «Ακαδημιών Τεχνών και Επιστημών», όπως π.χ. η «Ακαδημία Πλάτωνος» στη Φλωρεντία, η «Βασιλική Εταιρεία» στο Λονδίνο κ.ά. Παράλληλα παρατηρείται ανάπτυξη της μουσικής με τη συμμετοχή ακόμα και διάσημων Αστρονόμων όπως του **Johannes Kepler** (***1571-1630***) ο οποίος προώθησε την ιδέα της συσχέτισης της αρμονικής κίνησης των πλανητών με τη μουσική. Ακόμα και ο Καρτέσιος (**Rene Descartes**, ***1596-1650***) εισήγαγε τη μαθηματική διάσταση στη μουσική. Μέσα στο κλίμα αυτό της δημιουργίας νέων ιδεών, νέων ανακαλύψεων, φιλοσοφικών αναζητήσεων, καλλιτεχνικών δημιουργημάτων αλλά και προώθησης των θετικών επιστημών με κυρίαρχες, τα Μαθηματικά τη Φυσική και την Αστρονομία, διαμορφώθηκαν όπως φαίνεται, οι κατάλληλες συνθήκες που ώθησαν ορισμένους ερευνητές (με επιστημονική παιδεία ή ερασιτέχνες) να ασχοληθούν με τον βιολογικό μικρόκοσμο. Θα μπορούσε κανείς να ισχυριστεί πως επρόκειτο για «**ιστορική αναγκαιότητα**».

Η ιστορία της μικροσκοπίας αρχίζει ουσιαστικά στο **τέλος του 16ου αιώνα** με επίκεντρο την Ολλανδία, την Αγγλία και τη Γερμανία και επεκτείνεται στη συνέχεια στη Γαλλία και στην Ιταλία και συνδέεται με ονόματα όπως των **Hans** και **Zacharias Janssen**, **Hans Lippershey**, **Robert Hooke** και **Antonie van Leeuwenhoek**. Έμμεσα εμπλεκόμενοι όμως φαίνεται πως ήταν και οι διάσημοι επιστήμονες ή φιλόσοφοι **Isaac Newton** (Αγγλία), **Christiaan Huygens** (Ολλανδία), **Galileo Gallilei** (Ιταλία), **Baruch Spinoza** (Ολλανδία) και άλλοι. Αν και δεν είναι απόλυτα εξακριβωμένη η χρονιά της πρώτης εμφάνισης μικροσκοπίου σε σκίτσο ή σε κατασκευή, εν τούτοις η πατρότητα της εφεύρεσης αυτής που υπήρξε σταθμός στην επιστήμη της Βιολογίας αλλά και στην ιστορία της ανθρωπότητας γενικότερα αποδίδεται στους Ολλανδούς **Janssen** (πατέρα και γιο) και **Lippershey**, ενώ στη συνέχεια οι **Hooke** και **Leeuwenhoek** χάραξαν την πορεία της μικροσκόπησης ανακαλύπτοντας τις βασικές μονάδες της ζωής, τα κύτταρα και τους άλλους σχηματισμούς της ζωντανής ύλης που μέχρι τότε ήταν αόρατοι με γυμνό οφθαλμό.

Στην Ολλανδία ο **Zacharias Jansen** (***1580-1638***) κατασκευαστής ματογυαλιών φέρεται να ήταν ο πρώτος που συναρμολόγησε μικροσκόπιο. Επειδή όμως η εφεύρεση τοποθετείται χρονολογικά στην περίοδο ***1590-1595*** (όταν ο Zacharias Jansen ήταν μόλις 10-15 χρονών) πιστεύεται ότι κυρίαρχη συμβολή στην κατασκευή του πρώτου μικροσκοπίου, είχε ο πατέρας του, **Hans Janssen**, επίσης κατασκευαστής οπτικών. Το μικροσκόπιο αυτό ήταν «σύνθετο», δηλαδή είχε δύο φακούς, έναν αμφίκυρτο προς την πλευρά του οφθαλμού και έναν επιπεδόκυρτο στην άλλη άκρη του σωλήνα. Οι μεγεθύνσεις που επιτύγχανε ήταν από **3 έως 10 φορές**. Δεν υπάρχει όμως καμιά αναφορά για τη χρησιμοποίηση του πρώτου αυτού μικροσκοπίου στην παρατήρηση βιολογικών δειγμάτων, ούτε και είναι σίγουρο αν έχει διασωθεί κάποιο αυθεντικό κομμάτι. Επίσης υπάρχουν κείμενα τα οποία αναφέρουν πως ο **Cornelis Drebbel** (***1572-1633***), εφευρέτης στην αυλή του βασιλιά Ιάκωβου Ι στην Αγγλία έφτιαξε σκίτσο περιγράφοντας το ***1625*** ένα σωλήνα μικροσκοπίου με δύο φακούς. Πιθανολογείται πως ο Drebbel είχε ήδη πληροφορηθεί για την εφεύρεση των Janssen. Την ίδια χρονική περίοδο, ο **Hans Lippershey** (***1570-1619***) διατηρώντας επίσης «κατάστημα» οπτικών πολύ κοντά στους Janssen, θεωρείται ότι κατασκεύασε το πρώτο **τηλεσκόπιο** τοποθετώντας δύο διορθωτικούς φακούς όρασης σε ένα σωλήνα.

Ο χρόνος μηδέν, όμως στην αξιοποίηση του μικροσκοπίου για την παρατήρηση των λεπτομερειών της ζωντανής ύλης αρχίζει μάλλον με τον **Antonie van Leeuwenhoek** (***1632-1723***), Ολλανδό έμπορο και επιθεωρητή ποιότητας υφασμάτων, χωρίς ουσιαστική επιστημονική παιδεία. Ο Leeuwenhoek αφιέρωσε όλο τον ελεύθερο χρόνο του από την ηλικία των 20 χρόνων μέχρι το θάνατο του (στα 91 του χρόνια) κατασκευάζοντας ο ίδιος και λειαίνοντας γυαλί για να φτιάξει μικρούς **αμφίκυρτους φακούς**, ώστε να πετύχει όσο γίνεται καλύτερη εικόνα. Λέγεται ότι την ιδέα της κατασκευής αυτής συνέλαβε όταν, για να εξετάσει τη λεπτή υφή υφασμάτων χρησιμοποιούσε μεγεθυντικό φακό χειρός (είναι γνωστό άλλωστε ότι οι διορθωτικοί φακοί οράσεως είχαν αρχίσει να κατασκευάζονται τουλάχιστον από τον 13ο αιώνα μ.Χ.). Από τα εκατοντάδες μικροσκόπια που κατασκεύασε και τα οποία χάριζε σε φίλους, δυστυχώς έχει διασωθεί μόνον ένα το οποίο βρίσκεται στο Μουσείο της Ουτρέχτης και μπορεί να μεγεθύνει μέχρι 300 φορές έχοντας **διακριτικό όριο 1 μm**. Με το ιδιόρρυθμο αυτό, **επίπεδο** «**μονόφακο**» **μικροσκόπιο**, πραγματοποίησε χιλιάδες παρατηρήσεις του μικρόκοσμου, σχεδιάζοντας με εκπληκτική ακρίβεια όσα έβλεπε, φτάνοντας να ανακαλύψει ακόμα και **πυρήνες κυττάρων** που τους ανέφερε ως «φυσαλίδες». Οι φακοί που έφτιαχνε με εξαιρετική υπομονή είχαν μέγεθος μόλις 1-2 mm και έφταναν σε **μεγέθυνση 300 φορές** και σε αντίθεση με τα σύνθετα μικροσκόπια (δηλαδή αποτελούμενα από δύο φακούς και περισσότερους), δεν είχαν καθόλου χρωματική και σφαιρική εκτροπή – ανωμαλίες των φακών που διορθώθηκαν αργότερα μετά από ανάπτυξη της

σχετικής θεωρίας. Πιστεύεται ότι ο Leeuwenhoek είχε επίσης κατασκευάσει **σύνθετο μικροσκόπιο** αλλά δεν πρόλαβε να το αξιοποιήσει με παρατηρήσεις ή ίσως η εικόνα που έβλεπε να μην ήταν ικανοποιητική. Ο Leeuwenhoek κάποια στιγμή, το **1673** ήλθε σε επαφή με αλληλογραφία με την επιστημονική Εταιρεία Royal Society του Λονδίνου (που είχε ιδρυθεί το 1660) στέλνοντας επιστολή με την περιγραφή της εφεύρεσής του και μερικά σκίτσα μικροοργανισμών. Η απάντηση που πήρε ήταν στην αρχή ειρωνική, αλλά στη συνέχεια υπήρξε ενδιαφέρον χάρη στην παρέμβαση του Άγγλου Φυσικού **Robert Hooke** (1635-1703), μέλος και αργότερα Γραμματέα της Εταιρίας. Έτσι ο Leeuwenhoek έγινε αποδεκτός από την Royal Society που τον ανακήρυξε μέλος της το ***1680***. Ο ίδιος δημοσίευσε εκεί **375 άρθρα** με περιγραφές οργανισμών και λεπτομερειών, χωρίς όμως ποτέ να δώσει σε κανέναν λεπτομέρειες περί της κατασκευής των φακών, της προετοιμασίας των δειγμάτων, των συνθηκών παρατήρησης – του φωτισμού και άλλων παραμέτρων. Δεν είναι συνεπώς τυχαίο πως κανείς άλλος οπτικός ή επιστήμων στην Ολλανδία δεν ασχολήθηκε με παρόμοιες δραστηριότητες κατά την υπερπεντηκονταετή περίοδο που ο Leeuwenhoek ανακοίνωνε τις παρατηρήσεις του περιγράφοντας με σκίτσα διάφορα είδη μικροοργανισμών, σπερματοζωάρια, ερυθρά αιμοσφαίρια, κ.λ.π. Άλλωστε το διακριτικό όριο του ενός μικρομέτρου του επέτρεπε να παρατηρήσει ακόμα και βακτήρια, κάτι το οποίο όλοι οι άλλοι σύγχρονοί του όπως ο **Hooke**, δεν είχαν τη δυνατότητα αφού τα μικροσκόπιά τους έφταναν σε μεγέθυνση μέχρι 20 φορές και διακριτικό όριο περίπου 10 μικρόμετρα (δηλαδή όση είναι σχεδόν η διάμετρος των ερυθρών αιμοσφαιρίων). Ο Leeuwenhoek αλληλογραφούσε πολύ συχνά με τον Hooke και οι δύο άνδρες αντάλλασσαν πληροφορίες. Σημαντικό ρόλο στην όλη δραστηριότητα του Leeuwenhoek έπαιξε ο φίλος του και συνομήλικός του, φιλόσοφος **Benedict (Baruch) Spinoza** (1632-1677), ο οποίος επίσης κατασκεύαζε φακούς, διαδικασία που ήταν το Α και το Ω στην πρώτη τότε προσπάθεια παρατήρησης του μικρόκοσμου αλλά και των πλανητών (με την παράλληλη κατασκευή του πρώτου τηλεσκοπίου από άλλους εφευρέτες της εποχής). Θα μπορούσε συνεπώς ο **Leeuwenhoek** να θεωρηθεί ως ο **ιδρυτής της Μικροβιολογίας και της Κυτταρικής Βιολογίας.**

Στην απέναντι πλευρά της γηραιάς ηπείρου, στην Αγγλία ο **Robert Hooke** (***1635-1703***) μόλις τρία χρόνια νεώτερος από τον Leeuwenhoek, έχοντας πτυχίο και Masters Φυσικής από το Πανεπιστήμιο της Οξφόρδης, επίσης ασχολήθηκε ενεργά με κατασκευή μικροσκοπίων και την παρατήρηση της ζωντανής ύλης. Ο Hooke βέβαια ήταν πολυπράγμων, εφευρέτης πολλών συσκευών (υγρόμετρου, διαθλασίμετρου, κατοπτρικού τηλεσκόπιου κ.λπ.), υπήρξε βοηθός του **Robert Boyle** (1627-1691) (γνωστού από τη διατύπωση των νόμων των αερίων) και διατηρούσε επαφή με τον **Newton** και άλλους μεγάλους ερευνητές της εποχής του. Λέγεται μάλιστα ότι πολλές από τις ιδέες και μελέτες του Hooke τις προώθησαν άλλοι επιστήμονες όπως π.χ.

οι μελέτες του για τη βαρύτητα που αξιοποιήθηκαν από τον Newton. Παράλληλα με την ανάπτυξη και κατασκευή του σύνθετου μικροσκοπίου, επινόησε φωτιστικό σύστημα καθώς και το διάφραγμα της ίριδας. Ο Hooke έγινε μέλος της Royal Society το 1963 και Γραμματέας της επιστημονικής αυτής Εταιρείας από το 1667 μέχρι το 1693, δηλαδή την περίοδο ακριβώς που χρειάστηκε να επιβεβαιωθούν και να ανακοινωθούν οι παρατηρήσεις του **Leeuwenhoek** μέσω της δικής του παρέμβασης. Το 1665 έγινε καθηγητής Γεωμετρίας στο Κολέγιο Gresham, όπου οργάνωσε δικούς του εργαστηριακούς χώρους για τη διεξαγωγή των πειραμάτων του. Η συμβολή του Hooke στη μικροσκοπία αλλά και στη Βιολογία γενικότερα, είναι ανεκτίμητη αφού πρώτος έδωσε την ονομασία «**cells**» αναφερόμενος στους άδειους χώρους που διαγράφουν τα (νεκρά) κυτταρικά τοιχώματα φελλού. Από τις σημαντικές παρατηρήσεις που έκανε μέσω του μικροσκοπίου του θα πρέπει να αναφερθούν και εκείνες των απολιθωμάτων τα οποία συσχέτισε με εξαφάνιση και **εξέλιξη των ειδών**, δύο αιώνες πριν την εποχή του Δαρβίνου Το ***1665*** δημοσίευσε μέσω της Royal Society το έργο του «**Micrographia**», έναν άτλαντα - μνημειώδες έργο για την εποχή του, όπου περιγράφει με κάθε λεπτομέρεια διάφορους οργανισμούς. Στο ίδιο έργο αναφέρεται και στους κρατήρες της Σελήνης ως μέρος των σημαντικών αστρονομικών παρατηρήσεων που πραγματοποιούσε με τη βοήθεια του κατοπτρικού τηλεσκοπίου που είχε κατασκευάσει. Το δικό του σύνθετο μικροσκόπιο με **τρεις φακούς** είχε δυνατότητα μικρών μόνο μεγεθύνσεων λόγω χρωματικής και σφαιρικής εκτροπής των φακών και δεν του επέτρεπε αξιόπιστες παρατηρήσεις σε μεγεθύνσεις που επετύγχανε το μικροσκόπιο του Leeuwenhoek το οποίο έλεγε πως το θεωρούσε πολύ άβολο στη χρήση. Άλλωστε η θεωρία για τη βελτίωση των φακών διατυπώθηκε 200 χρόνια (!) αργότερα από τον **Karl Friederieh Gauss** (1777-1855) και η διόρθωση των σφαλμάτων των φακών έγινε πρακτικά την περίοδο 1870-1880 από τον **Ernst Abbe** (1840-1905) στη Γερμανία σε συνεργασία με τον **Carl Zeiss** (1816-1888).

Κατά τον 17ο αιώνα υπήρξαν και άλλοι κατασκευαστές ή σχεδιαστές μικροσκοπίων, όπως π.χ. ο Ολλανδός Ιατρός **Jan Swammerdam** (1637-1680) με μονόφακο μικροσκόπιο τελικής μεγέθυνσης 150Χ, ο Ιταλός **Marcello Malpighi** (1628-1694) με σύνθετο μικροσκόπιο το οποίο και χρησιμοποίησε σε μελέτες ιστολογίας και εμβρυολογίας. Επίσης, πολλοί κατασκευαστές φακών οράσεως σε διάφορες χώρες (Ολλανδία, Αγγλία, Γαλλία, Ιταλία) εξελίχθηκαν σε κατασκευαστές μικροσκοπίων παράγοντας όργανα υψηλής αισθητικής αλλά και με συνεχή βελτίωση της ποιότητας των φακών τους μέχρι σήμερα.

Αφιερώνεται στη μνήμη του Γεωργίου Πανταζή, που μου έδειξε το δρόμο της μικροσκοπίας και με μύησε στο μαγευτικό κυτταρικό μικρόκοσμο.

ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΗ ΕΛΛΕΙΠΤΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ ΣΕ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΜΕ α-ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ

Μαργέτης Π.Ι., Παπασιδέρη Ι.Σ., Μαργαρίτης Λ.Χ.

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη Τ.Κ. 157 84 Ζωγράφου

Μελετήθηκε οικογένεια ασιατικής καταγωγής, στην οποία διαγνώσθηκε κληρονομική ελλειπτοκυττάρωση σε συνδυασμό με α-μεσογειακή αναιμία. Ο πατέρας εμφανίζει αιματολογικά τυπική εικόνα κληρονομικής ελλειπτοκυττάρωσης και η μητέρα ήπια υποχρωμία. Ο γιος έχει έντονη αναιμία και εικόνα βαριάς δυσερυθροποιητικής αναιμίας. Στα δείγματα που συλλέχθηκαν από τα μέλη της οικογένειας πραγματοποιήθηκε βιοσύνθεση αιμοσφαιρίνης, απομόνωση και χαρακτηρισμός των πρωτεϊνών της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης με αποδιατακτική επίπεδη ηλεκτροφόρηση κατά Laemmli και Fairbanks, ουδέτερη ηλεκτροφόρηση για τον υπολογισμό του λόγου διμερών προς τετραμερή σπεκτρίνης και πρωτεολυτική πέψη (υπό ελεγχόμενες συνθήκες) της σπεκτρίνης, ενώ έγινε έλεγχος των γλυκοφορινών με χρώση κατά PAS. Τα ηλεκτροφορητικά πρότυπα μελετήθηκαν μετά από ψηφιοποίηση και ανάλυση εικόνας των πηκτωμάτων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο πατέρας εμφανίζει στο αίμα του άφθονα ελλειπτοκύτταρα με έγκλειστα, ο λόγος των σφαιρινών (β/α) είναι 1,34 και το πρότυπο των ερυθροκυτταρικών του πρωτεϊνών είναι ελλειπτοκυτταρικό. Η εικόνα των ερυθροκυττάρων της μητέρας είναι φυσιολογική αλλά ο λόγος β/α των σφαιρινών 1,10 αντιστοιχεί σε ήπια α-μεσογειακή αναιμία. Στο παιδί παρατηρούνται σχεδόν όλοι οι τύποι ανώμαλων ερυθροκυττάρων (ελλειπτο-, μικρο-, ανισοποικιλλοκύτταρα) με παρουσία εγκλείστων, ενώ ο λόγος της βιοσύνθεσης είναι 1,35. Το πρότυπο των ερυθροκυτταρικών πρωτεϊνών έχει στοιχεία ελλειπτοκυττάρωσης με α-μεσογειακή αναιμία. Ο συνδυασμός των δύο αυτών πιθανών μεταλλάξεων της κληρονομικής ελλειπτοκυττάρωσης και της α-Μεσογειακής Αναιμίας φαίνεται ότι επιβαρύνει την κλινική και αιματολογική εικόνα του παιδιού.

Το ερευνητικό έργο χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας Πανεπιστημίου Αθηνών ΕΛΚΕ: 70/4/5719, 2002 στην Ι. Σ. Π.

HEREDITARY ELLIPTOCYTOSIS IN COMBINATION WITH ALPHA THALASSAEMIA

Margetis P.I., Papassideri I.S., Margaritis L.H.

University of Athens, Department of Biology, Division of Cell Biology & Biophysics, Panepistimiopolis 157 84 Zografou

A family of Asian origin, diagnosed with hereditary elliptocytosis in combination with alpha thalassaemia, has been studied at hematological and biochemical level. The father exhibited a hematological phenotype of typical hereditary elliptocytosis, while the mother was mildly hypochromic. Their son was severely anaemic exhibiting symptoms of severe dyserythropoietic anaemia. In vitro biosynthesis of haemoglobin was done in blood samples taken from the members of the whole family, in addition to biochemical analysis and quantitative characterization of the erythrocyte membrane proteins, using SDS–PAGE and non denaturing gel electrophoresis (for the estimation of the ratio of spectrin dimers to tetramers), tryptic digestion of spectrin (under controlled conditions) and PAS-staining for the characterization of the membrane glycophorins. The electrophoretic profiles were quantitatively analyzed with digitalization and image analysis procedures. The father's blood smear was especially enriched in inclusion bodies containing elliptocytes. The globin chains biosynthetic ratio β/a was 1.34. The erythrocytic membrane proteins electrophoretic pattern was typical of a hereditary elliptocytosis carrier. The mother's blood smear was normal despite the fact that the globin chains biosynthetic ratio β/a was 1.10, typical of an alpha thalassaemia trait-carrier. In child's blood smear all types of abnormally shaped red cells have been observed, such as ellipto-, micro- and anisopoikilocytes, full of inclusion bodies. The globin chains biosynthetic ratio β/a was 1.35. The electrophoretic pattern of the red blood cell membrane proteins was characterized by a combination of hereditary elliptocytosis and alpha thalassaemia findings. The association of alpha thalassaemia with hereditary elliptocytosis probably aggravates the child's clinical and haematological phenotype.

Supported by the Special Account for Research Grants of Athens University, SARG: 70/4/5719, 2002 to I. S. P.

ΔΙΕΓΕΡΣΗ ΤΩΝ α_1-ΑΔΡΕΝΕΡΓΙΚΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΣΕ ΚΑΡΔΙΟ-ΜΥΟΚΥΤΤΑΡΑ ΕΝΗΛΙΚΟΥ ΑΡΟΥΡΑΙΟΥ ΕΠΑΓΕΙ ΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟ-ΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ CREB ΜΕΣΩ ΠΟΛΛΑΠΛΩΝ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΩΝ ΟΔΩΝ

Μάρκου Θωμαΐς και Αντιγόνη Λάζου

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη

Είναι γνωστό, ότι οι αγωνιστές των συζευγμένων με G πρωτεΐνες υποδοχέων (GPCRs) αποτελούν ισχυρούς ενεργοποιητές των MAP κινασών στα καρδιακά μυοκύτταρα. Πρόσφατα ταυτοποιήθηκε μια νέα πρωτεΐνη-στόχος των MAPKs, η MSK (Mitogen and Stress activated Kinase). Στα καρδιακά μυοκύτταρα, οι αγωνιστές των GPCRs ενεργοποιούν την MSK, γεγονός που απαιτεί τη συνδυασμένη δράση των ERKs και της p38 MAPK. Αν και ο βιολογικός ρόλος της MSK δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως, ένα από τα πιθανά υποστρώματα της θεωρείται ο μεταγραφικός παράγοντας CREB (cAMP Responsive Element Binding protein). Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της ενεργοποίησης του CREB από τη φαινυλεφρίνη, αγωνιστή των α_1-αδρενεργικών υποδοχέων, σε απομονωμένα καρδιακά μυοκύτταρα ενήλικου αρουραίου. Με τη χρήση ειδικών αντισωμάτων διαπιστώθηκε ότι η φαινυλεφρίνη επάγει τη φωσφορυλίωση του CREB με τη μέγιστη τιμή να εντοπίζεται στα 10-15 λεπτά διέγερσης. Προκειμένου να διευκρινιστεί ο τύπος των υποδοχέων που συμμετέχει στη φωσφορυλίωση του CREB, χρησιμοποιήθηκε πραζοσίνη, καθώς και προπρανολόλη, αναστολείς των α_1- και β-αδρενεργικών υποδοχέων, αντίστοιχα. Διαπιστώθηκε ότι η φωσφορυλίωση του CREB από τη φαινυλεφρίνη εξαρτάται και από τους δυο υποτύπους αδρενεργικών υποδοχέων. Τα μονοπάτια που συμμετέχουν στην ενεργοποίηση του CREB διερευνήθηκαν με τη χρήση των αναστολέων των MAPKs, SB203580 και PD98059, καθώς και με τους GF109203X, Ro318220 και RpcAMP, που αναστέλλουν τις PKC, MSK και PKA, αντίστοιχα. Οι συγκεκριμένοι αναστολείς αναιρούν τη φωσφορυλίωση του CREB από τη φαινυλεφρίνη, ενώ η ρύθμιση του ενδοκυτταρικού ασβεστίου με το χηλικό παράγοντα, BAPTA δε φαίνεται να επηρεάζει τη φωσφορυλίωση του CREB. Σύμφωνα με τα παραπάνω, η φαινυλεφρίνη επάγει τη φωσφορυλίωση του CREB μέσω πολλαπλών σηματοδοτικών μονοπατιών που περιλαμβάνουν τις MAPKs, PKC, MSK και PKA. Επιπλέον, με την εφαρμογή της μεθόδου EMSA (electrical mobility shift assay), διαφαίνεται ότι η φαινυλεφρίνη δρα ενισχύοντας τη σύνδεση του CREB στο DNA. Ωστόσο, κρίνεται απαραίτητη η διεξαγωγή επιπλέον πειραμάτων για την επιβεβαίωση των παραπάνω αποτελεσμάτων.

a_1-ADRENERGIC STIMULATION ACTIVATES CREB THROUGH MULTIPLE SIGNALING PATHWAYS IN ADULT RAT CARDIAC MYOCYTES

Markou Thomais and Antigone Lazou

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

G-protein-coupled receptors agonists are powerful stimulators of the MAPK cascades in cardiac myocytes. Mitogen- and stress activated protein kinase (MSK) is a new MAPK target protein. In adult rat cardiac myocytes, MSK is activated by GPCR agonists, through both ERKs and p38 MAPK. Although the physiological role of MSK is not known, several studies have suggested the transcriptional factor CREB (cAMP Responsive Element Binding protein) as a possible substrate for MSK. The aim of the present study was to elucidate the signal transduction pathways leading to activation of CREB in response to a GPCR agonist, such as phenylephrine (PE), in adult rat cardiac myocytes. Using an antibody against CREB phosphorylated at Ser133 we observed increased phosphorylation by PE and maximal levels were attained at 10-15 min after exposure to agonist. PE-induced phosphorylation of CREB was suppressed by the a_1-adrenergic specific antagonist prazosin. Similar results were obtained when propranolol, a β-adrenergic specific antagonist, was used. These data suggest that both adrenergic subtypes are required for CREB phosphorylation in response to PE. In order to investigate the pathways that contribute to the phosphorylation of CREB, we used the MAPKs inhibitors SB203580 and PD98059, as well as Ro318220, GF109203X and RpcAMP, inhibitors of MSK, PKC and PKA, respectively. Phosphorylation of CREB was suppressed when the cardiac myocytes were incubated with PE in the presence of these inhibitors. To examine whether calcium dependent-pathways are involved, BAPTA was used to chelate intracellular Ca^{2+}. Pretreatment with the Ca^{2+} chelator did not block PE-induced CREB phosphorylation. In summary our results demonstrate that in adult rat cardiac myocytes phenylephrine may activate multiple signaling pathways involving MAPKs, MSK, PKC and PKA, all of which contribute to the phosphorylation of CREB. In addition EMSAs (electrical mobility shift assays) were performed in order to investigate the DNA binding activity of CREB. The results from these experiments suggest that PE induces binding of the transcription factor to the promoter, although further investigation is required.

ΑΛΛΑΓΗ ΣΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ HAP5C (HEME ACTIVATED PROTEIN) ΣΕ ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΦΥΤΑ *Arabidopsis thaliana* ΠΡΟΚΑΛΕΙ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΣΤΟ ΟΖΟΝ

[1,3]Matias L., [2]Hawker V., [2]Πατεράκη Ε., [3]Gherraby W., [1]Μερκουρόπουλος Γ., [3]Μακρής Α., [4]Χατζόπουλος Π., [2]Barnes J., [1*]Κανελλής Α.

[1]Ομάδα Βιοτεχνολογίας Φαρμακευτικών Φυτών, Εργαστήριο Φαρμακογνωσίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 541 24 Θεσσαλονίκη. [2]Air Pollution Laboratory, Department of Agricultural and Environmental Science, Ridley Building, The University, Newcastle upon Tyne, NE1 7RU, UK. [3]Μεσο-γειακό Αγρονομικό Ινστιτούτο Χανίων, Τ.Θ. 85, 731 00 Χανιά, [4]Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, 11855 Αθήνα. Corr. author, e-mail: kanellis@pharm.auth.gr

Για την καλύτερη κατανόηση του μεταβολισμού σε συνθήκες υποξίας, έχουμε απομονώσει ένα μεταγραφικό παράγοντα από *Arabidopsis thaliana* χρησιμοποιώντας γενετική σάρωση σε *S. cerevisiae*, που εμφανίζει αυξημένη νηματοειδή ανάπτυξη, φαινότυπο που ενέχει αντιδράσεις σε συνθήκες καταπονήσεων. Το γονίδιο αυτό είναι 65% ταυτόσημο σε επίπεδο αμινοξέων με το γονίδιο HAP5 του σακχαρομύκητα (*S. cerevisiae)*. Ο παράγοντας αυτός είναι μεταγραφικός ενεργοποιητής μιτοχονδριακών γονιδίων της αναπνοής που κωδικοποιούνται στον πυρήνα και επίσης ενεργοποιεί τη βιοσύνθεση της αίμης. Το εύρημα αυτό μας οδήγησε στην παραγωγή διαγονιδιακών φυτών *Nicotiana tabaccum* (καπνού) και *Arabidopsis thaliana,* στα οποία το γονίδιο αυτό υπερ-εκφράζεται ή καταστέλλεται με "antisense technology", αντίστοιχα. Τα διαγονιδιακά φυτά καπνού παρουσίασαν μειωμένη παραγωγή σπόρου και παραμορφωμένα άνθη, ενώ μερικά έδειξαν μειωμένη ανάπτυξη. Ένα ποσοστό ομοζυγωτών διαγονιδιακών φυτών *Arabidopsis thaliana* που υπέρ-εκφράζουν το *HAP5c* παρουσιάζουν μειωμένη αντοχή και ανάπτυξη σε έκθεση στο όζον.

OVER-EXPRESSION OF HEME ACTIVATED PROTEIN HAP5C GENE IN TRANSGENIC *Arabidopsis thaliana* PLANTS CONFERS SENSITIVITY TO OZONE

[1,3]Matias L., [2]Hawker V., [2]Pateraki I., [1,3]Gherraby W., [1]Merkouro-poulos G., [3]Makris A., [4]Hatzopoulos P., [2]Barnes J., [1*]Kanellis A.K.

[1]Group of Biotechnology of Pharmaceutical Plants, Lab of Pharmacognocy, Dept. of Pharmaceutical Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, 541 24 Thessaloniki, Greece. [2]Air Pollution Laboratory, Department of Agricultural and Environmental Science, Ridley Building, The University, Newcastle upon Tyne, NE1 7RU, UK.[3]Mediterranean Agronomic Institute of Chania, P.O. Box 85, 731 00 Chania, Greece. [4]Dept. of Agricultural Biotechnology, Agricultural University of Athens, Iera Odos 75, 118 55 Athens, Greece
**Corresponding author, e-mail: kanellis@pharm.auth.gr*

To better understand the regulation of respiratory metabolism during hypoxia, we have isolated a gene, *HAP5c* (Heme Activated Protein), from *Arabidopsis thaliana* that shows 65% amino acid identity with the yeast HAP5, one of the subunits of CCAAT-binding factor. This binding factor is a transcriptional activator of nucleus encoded-mitochondrial genes, and genes involved in heme biosynthesis. Transgenic *Arabidopsis thaliana* and tobacco plants bearing an antisense to HAP5c and a sense HAP5c, respectively, have been produced which showed altered growth and flower structure. In addition, a number of homozygous *Arabidopsis* transgenic plants over-expressing *HAP5c* showed sensitivity to ozone. The significance of these findings is discussed in relation to the regulation of antioxidant genes by HAP5c.

ΑΝΤΙΠΑΡΑΘΕΣΗ ΡΑΧΑΙΩΝ ΚΑΙ ΚΟΙΛΙΑΚΩΝ ΤΟΠΙΚΩΝ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΑΚΡΟΥ ΤΟΥ ΑΝΟΥΡΟΥ *Rana temporaria*. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΡΕΤΙΝΟΪΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

Μαυρόγιαννου Ε., Μουκούλη Μ., Κουσουλάκου Δ., Κωσταρίδης Π., Κουσουλάκος Σ.

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ

Κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη το άκρο δημιουργείται κατά μήκος τριών αξόνων ασυμμετρίας (εγγύς-μακράν, προσθιοπίσθιος, ραχαιοκοιλιακός). Τα κύτταρα που ευρίσκονται σε αυτές τις θέσεις είναι εφοδιασμένα με τοπικές πληροφορίες, συνεργάζονται αρμονικά ως ένα αυτοδιαφοροποιούμενο, ισοδύναμο, σύστημα και δημιουργούν ένα και μόνο φυσιολογικό άκρο. Μεταβολή αυτών των πληροφοριών (π.χ. με επίδραση ρετινοϊκού οξέος) ή αλληλεπιδράσεις κυττάρων με διαφορετικές τοπικές πληροφορίες έχουν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία υπεράριθμων άκρων. Η μελέτη της ταυτότητας, του αριθμού και της θέσης των υπεράριθμων άκρων ύστερα από συγκεκριμένες χειρουργικές επεμβάσεις παρέχει σημαντικές ενδείξεις σχετικές με τους μηχανισμούς μορφογένεσης.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν τα υπεράριθμα άκρα που δημιουργούνται όταν στο αναπτυσσόμενο βλάστημα του άκρου ραχιαία κύτταρα έρχονται σε επαφή με κοιλιακά. Αυτό επιτυγχάνεται με αποκοπή των βλαστημάτων των οπισθίων άκρων, περιστροφή τους κατά 180° και επανατοποθέτησή τους στο ετερόπλευρο άκρο. Δημιουργήθηκαν αρκετοί τύποι υπεράριθμων άκρων οι οποίοι μελετήθηκαν **(α)** μακροσκοπικά και **(β)** ύστερα από διπλή χρώση οστίτη ιστού και χόνδρου.

Τα κυριότερα αποτελέσματα συνοψίζονται ως εξής:

(i) Αποκοπή βλαστήματος, επανατοποθέτηση = φυσιολογικό άκρο

(ii) Αποκοπή βλαστήματος, επανατοποθέτηση, βιταμίνη Α = διπλοοπίσθια, κατοπτρικά συμμετρικά άκρα, πρόσθια άκρα υποπλασμένα.

(iii) Αποκοπή βλαστήματος, ραχαιοκοιλιακή αναστροφή=πολλαπλά, υπεράριθμα άκρα και τριγωνικές «δοκίδες» οστίτη ιστού.

(iv) Αποκοπή βλαστήματος, ραχαιοκοιλιακή αναστροφή, βιταμίνη Α=ενώ ο τύπος των υπεράριθμων άκρων δεν διαφέρει από το **(ii)** και **(iii)**, φαίνεται ότι η παρουσία της βιταμίνης Α καθυστερεί την οστεοποίηση των χόνδρινων σκελετικών στοιχείων.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτείται από τα προγράμματα 70/3/6345 της ΓΓΕΤ και 70/4/5709 του ΕΛΚΕ

DORSAL-VENTRAL AXIAL MISALIGNMENT DURING LIMB DEVELOPMENT OF *Rana temporaria*. THE ROLE OF RETINOIC ACID

Mavroyiannou E., Moukouli M., Koussoulakou D., Kostaridis P., Koussoulakos S.

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, Natinal & Kapodistrian University of Athens

The cells forming the vertebrate limb differentiate and shape the appendage along the three cardinal axes of asymmetry, namely proximal-distal, anterior-posterior, and dorsal-ventral. According to the concept of positional information cells are aware of their position in terms of reference coordinates: all cells using the same coordinates will constitute a field and a disturbed field must re-establish its boundary values in order to regulate. When dorsal and ventral cells from limb buds are juxtaposed the results are dramatic and strange: the produced limb usually contains supernumerary structures often with two or three sets of digits. In the late 1970s it was shown that retinoic acid is able to respecify the positional memory of the limb bud cells more proximal, more posterior and more dorsal positional values.

The present study deals with supernumerary structures induced after inverting the dorsoventral axes between stump and graft. Such inversions can be achieved by bilateral hind limb bud amputation, rotation of the buds by 180°, and placement upon the contralateral limb. Some tadpoles were treated by vitamin A palmitate. Several types of supenumerary limbs were produced and studied **(a)** by macroscopical observation and camera lucida drawings, and **(b)** by double staining and clearing.

The main results are summarized as followes:

(i) Bud amputation, replacement = normal limb

(ii) Bud amputation, replacement + vitamin A = double dorsal, mirror-image symmetrical limbs, hypomorphic forelimbs.

(iii) Bud amputation, dorsoventral inversion = multiple, supernumararies and triangle «spikes» of osseous tissue.

(iv) Bud amputation, dorsoventral inversion + vitamin A = whereas the type of supernumerary limbs do not differ from those of **(ii)** and **(iii)**, it seems that vitamin A redards ossification of the cartilaginous skeletal elements.

ΤΑ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ *ARTEMIA* ΤΟΥ Μ. ΕΜΒΟΛΟΥ (ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ) ΣΕ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

Μαυροματίδης Β., Μπαξεβάνης Α.Δ., Αμπατζόπουλος Θ.Ι.

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

Στην εργασία αυτή μελετήθηκαν δώδεκα αναπαραγωγικά χαρακτηριστικά ατόμων *Artemia* του τετραπλοειδούς παρθενογενετικού πληθυσμού του Μεγάλου Εμβόλου Θεσσαλονίκης σε εργαστηριακές καλλιέργειες. Ναύπλιοι σταδίου III αναπτύχθηκαν σε δυο κυλινδροκω-νικούς σωλήνες μέχρι το στάδιο της αναπαραγωγικής ωριμότητας. Στο στάδιο αυτό ελήφθησαν τυχαία 12 άτομα από κάθε σωλήνα, τα οποία τοποθετήθηκαν ανά ένα σε δοκιμαστικούς σωλήνες δημιουργώντας έτσι δύο σειρές σωλήνων. Οι δύο αυτές ομάδες συγκρίθηκαν αν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ως προς τα δώδεκα αναπαραγωγικά χαρακτη-ριστικά που καταγράφηκαν.

Η διάρκεια ζωής, η προ-αναπαραγωγική, αναπαραγωγική και μετα-αναπαραγωγική περίοδος, το διάστημα μεταξύ των γεννών, ο αριθμός ναυπλίων και ο αριθμός εξαμβλωματικών εμβρύων δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά στις δύο σειρές σωλήνων. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται α) στις σχετικά σταθερές συνθήκες καλλιέργειας, β) στην κοινή διατροφή και γ) στο ότι κάποια από τα χαρακτηριστικά αυτά είναι ισχυρά γενετικά καθορισμένα, ώστε δεν παρατηρούνται έντονες διακυμάνσεις, κάτι αναμενόμενο για έναν απομικτικό πληθυσμό, όπως αυτός που μελετήθηκε.

Αντίθετα, βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο σειρών σωλήνων στο συνολικό αριθμό απογόνων, τον αριθμό των γεννών, τον αριθμό των κύστεων, των απογόνων ανά γέννα και των απογόνων ανά ημέρα αναπαραγωγικής περιόδου. Παράγοντες που πιθανόν διαδραμάτισαν ρόλο στη δημιουργία αυτών των διαφορών είναι: α) η ύπαρξη διαφορετικών κλώνων στις δυο ομάδες, β) το μέγεθος του δείγματος ίσως δεν είναι αντιπροσωπευτικό, γ) κάποιες από τις παραμέτρους του μικροπεριβάλλοντος ίσως παρουσίασαν διακυμάνσεις που επηρέασαν τα χαρακτηριστικά του πληθυσμού.

Επιπλέον, στις δυο σειρές σωλήνων παρατηρήθηκε εναλλαγή μεταξύ της παραγωγής ναυπλίων και κύστεων κατά τη διάρκεια της ζωής του οργανισμού. Επομένως, η τελική παραγωγή απογόνων από τα άτομα του πληθυσμού της *Artemia* επηρεάζεται α) από τις συνθήκες καλλιέργειας, β) από τη γενοτυπική σύσταση του πληθυσμού και γ) από την ηλικία των ατόμων. Τέτοιοι παράγοντες πρέπει να λαμβάνονται σοβαρά υπόψη κατά τη διατύπωση προτάσεων για ορθολογική διαχείριση των αλυκών με στόχο την παραγωγή κύστεων ή βιομάζας *Artemia*.

LABORATORY CULTURES OF *ARTEMIA* FROM M. EMBOLON (THESSALONIKI): REPRODUCTIVE CHARACTERISTICS

Mavromatidis V., Baxevanis A.D., Abatzopoulos T.J.

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

Individuals from laboratory cultures of M. Embolon tetraploid *Artemia* population were studied for twelve reproductive characteristics. For this reason, instar III nauplii were raised in two cylindroconical tubes (2lt) until females showed signs of ovarian development. Individuals were randomly removed from the mass cultures and placed in 50ml Falcon tubes. Thus, two series of twelve tubes each were created. Statistical analysis was performed to detect differences in reproductive characteristics between the two groups.

No significant differences were found for the total lifespan, pre-reproductive, reproductive and post-reproductive periods, days between broods, number of nauplii and number of abortive cysts. This could be attributed to the fact that a) culture conditions and feeding regime were very similar for both groups and b) some characteristics seem to be genetically rigid, which is expected for an apomictic population such as the one from M. Embolon.

On the contrary, significant differences were observed for the total number of offspring, number of broods, number of cysts, offspring per day and offspring per reproductive day. Some of the factors responsible for these differences may be a) the presence in the two groups of individuals belonging to different clones, b) the fact that the sample size was not sufficient to reflect the multiclonality of the population, and c) some of the parameters of the micro-environment in the culture tubes may fluctuate substantially.

Besides, a shift between ovoviviparity and oviparity during the total lifespan of the cultured animals was observed in both groups. Concluding, the reproductive performance of the population (cysts and/or nauplii) is affected by a) culture conditions, b) genotypic structure and c) the age of the individuals. These parameters should be taken seriously into account when saltworks management toward cyst or biomass production is our major goal.

Γ

ΕΝΕΤΙΚΗ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΙΑΣ ΦΥΛΟΣΥΝΔΕΤΗΣ ΘΕΡΜΟ-ΕΥΑΙΣΘΗΤΗΣ ΜΕΤΑΛΛΑΞΗΣ ΣΤΗ *Drosophila melanogaster*

Μελά Α., Γιαννόπουλος Γ.

Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Πανεπιστήμιο Πατρών

Από μια δυσγενική διασταύρωση με το *23.5 MRF* hobo στέλεχος από-μονώθηκε μια υποτελής θανατογόνος θερμοευαίσθητη μετάλλαξη η οποία ονομάστηκε pa^{ts}. Στους 20°C συμπεριφέρεται ως υποτελής ορατή ενώ στους 29°C τα άτομα πεθαίνουν λίγο πριν ή κατά τη διάρκεια εκκόλαψης των ακμαίων ατόμων. Τα ακμαία άτομα αδυνατούν να βγουν από το βομβύκιο πιθανότατα εξαιτίας κάποιας παράλυσης, νευρικής ή μυϊκής. Επιπλέον, ενήλικα άτομα που εκκολάπτονται στους 20°C δείχνουν μειωμένη βιωσιμότητα όταν μεταφέρονται στους 29°C. Η μετάλλαξη χαρτογραφήθηκε στη θέση 7E του X χρωμοσώματος και οφείλεται σε *P* ένθεση. Αποκοπή του στοιχείου *P* από τη θέση δίνει βιώσιμους απογόνους στους 29°C.

Προσδιορισμός της πλευρικής αλληλουχίας του 5' άκρου της *P* ένθεσης και σύγκριση της με τη γονιδιωματική αλληλουχία αποκάλυψε ότι η *P* ένθεση απέχει 490bp από την κωδική περιοχή του γονιδίου CG32711. Το γονίδιο έχει μήκος 2089bp και αποτελείται από 4 εξόνια και 3 ιντρόνια. Η λειτουργία του μέχρι στιγμής είναι άγνωστη όμως προβλέπεται ότι κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη 73 αμινοξέων.

Η RT-PCR αποκάλυψε ότι το γονίδιο δίνει δύο βασικά προϊόντα μεταγραφής τα οποία εμφανίζουν ποσοτικές διαφορές σε βασικά αναπτυξιακά στάδια. Επίσης παρατηρήθηκαν διαφορές και με το κανονικό στέλεχος Canton-s. Το μεγαλύτερο από τα δύο μετάγραφα εμφανίζεται σε μικρότερη ποσότητα. Η αλληλούχισή τους αποκάλυψε ότι το μεγαλύτερο αποτελεί προϊόν εναλλακτικής ωρίμανσης και περιέχει επιπλέον τις 260 πρώτες βάσεις του πρώτου ιντρονίου.

Ένα δεύτερο στέλεχος φέρει τη φυλοσύνδετη θανατογόνο μετάλλαξη *PL26* η οποία οφείλεται σε ένθεση P{LacW} στοιχείου σε απόσταση 3570bp από το 5' άκρο του γονιδίου CG32711. Όταν διασταυρώθηκαν τα δύο στελέχη μεταξύ τους στους 25°C έδωσαν τα αναμενόμενα κανονικά θηλυκά, ενώ στους 29°C προέκυψαν ελάχιστα. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι οι δύο μεταλλάξεις πρέπει να επηρεάζουν το ίδιο γονίδιο αλλά κατά διαφορετικό τρόπο.

GENETIC AND MOLECULAR ANALYSIS OF AN X-LINKED TEMPERATURE SENSITIVE MUTATION IN *Drosophila melanogaster*

Mela A., Yannopoulos G.

Department of Biology, Division of Genetics, Cell and Developmental Biology, University of Patras

From a dysgenic cross with the *23.5 MRF hobo* strain we have isolated a temperature sensitive lethal mutation, designated pa^{ts}. At 20°C the homozygotes have normal viability but they die at 29°C at the stage of late pupa, just before the eclosion of imago. They are unable to go out of their shell maybe because of some kind of paralysis they suffer. Adult individuals emerged at 20°C when transferred at 29°C showed lower viability than the control. The mutation is mapped at the site 7E of the X chromosome and it is due to a *P* element insertion. Excision of the *P* element from the site gives non-lethal revertants at 29°C.

Genomic DNA flanking the *P* insertion was isolated and sequenced. Alignment the flanking sequence to genomic sequence revealed that the *P* insertion is located 490bp upstream of the code sequence of the 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 protein of 73aa.

RT-PCR revealed that the gene is transcribed in two mRNAs that show quantitative differences in basic developmental stages. Differences were also observed with the Canton-s wild-type strain. 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.

Another X-lethal *PL26* that is due to the insertion of the P{LacW} element 3570 bp upstream the 5' end of the gene CG32711 when crossed to pa^{ts} at 25°C gave wild type females with normal viability while at 29°C only a few such individuals were produced. These results provide evidence that both mutations affect the same gene but with a different way.

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΠΛΗΡΟΥΣ ΠΡΩΤΟΔΙΑΤΑΞΗΣ ΤΟΥ ΠΑΤΡΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟΥ DNA ΣΤΟ ΕΙΔΟΣ *Mytilus galloprovincialis*

[1]Μίζη Α., [2]Μοσχονάς Ν., [2,3] Ζούρος Ε., [1]Ροδάκης Γ.Κ.

[1]Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών,157 01 Αθήνα,[2]Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, 714 09 Ηράκλειο, Κρήτη, [3]Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας Κρήτης

Η μοριακή προσέγγιση του ανορθόδοξου φαινομένου της Διπλής Μονογονικής Κληρονομικότητας (Δ.Μ.Κ.) του μιτοχονδριακού DNA (mtDNA) που έχει διαπιστωθεί σε ορισμένα μετάζωα, προϋποθέτει τη γνώση της δομής και της γονιδιακής οργάνωσης τόσο του μητρικής (τύπος-F) όσο και του πατρικής (τύπος-M) προέλευσης mtDNA. Η αλληλουχία του τύπου-F μορίου είναι γνωστή σχεδόν σε όλο το μήκος της, αλλά οι πληροφορίες σχετικά με το μόριο του τύπου-M είναι αποσπασματικές. Η συγκριτική ανάλυση των μέχρι σήμερα γνωστών ομόλογων αλληλουχιών μεταξύ των δύο τύπων mtDNA υποδεικνύει εξελικτική απόσταση της τάξης του 20%, τιμή που θα μπορούσε να αφορά mtDNA πολύ απομακρυσμένων ταξινομικών μονάδων και όχι μόρια που βρίσκονται στο ίδιο άτομο ενός είδους. Κατά συνέπεια, δημιουργούνται ερωτήματα σχετικά με το κατά πόσο διατηρείται η λειτουργική δομή και η γονιδιακή οργάνωση στο μόριο M. Με δεδομένο ότι οι περισσότερες μέχρι σήμερα πληροφορίες αφορούν το γένος *Mytilus*, προχωρήσαμε στον προσδιορισμό της πλήρους αλληλουχίας του μορίου M του είδους *M. galloprovincialis*. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η γονιδιακή οργάνωση του μορίου M ταυτίζεται με αυτή του F. Επιπρόσθετα, ο εντοπισμός ανοιχτών πλαισίων ανάγνωσης πρωτεϊνικών γονιδίων, καθώς και η πιθανή δευτεροταγής δομή των tRNA γονιδίων, υποδεικνύουν ότι το μόριο είναι λειτουργικό. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει μια μη κωδική περιοχή (LUR, Long Unassigned Region) όπου παρατηρείται ο μέγιστος και ο ελάχιστος βαθμός διαφοράς μεταξύ M και F, όπως και ένας μεγάλης έκτασης διπλασιασμός που εμπεριέχει αυτή την περιοχή. Προτείνεται ένα πιθανό πρότυπο των γενετικών γεγονότων που οδήγησαν στη σημερινή δομή.

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

THE COMPLETE NUCLEOTIDE SEQUENCE OF THE PATERNALLY INHERITED MITOCHONDRIAL DNA OF THE MUSSEL *Mytilus galloprovincialis*

[1]Mizi A., [2]Moschonas N., [2,3]Zouros E., [1]Rodakis G.C.

[1]Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Biology, University of Athens, 157 01 Athens, [2]Department of Biology, University of Crete, 714 09, Heraklion, Crete, [3]Institute of Marine Biology of Crete

The molecular study of the exceptional Doubly Uniparental Inheritance (DUI) of mitochondrial DNA (mtDNA) in several bivalve mollusks requires the knowledge of the nucleotide sequence of both the maternally (F type) and paternally (M type) transmitted genomes. The former is known for about 80% of its length, but information about the latter is sporadic and refers to specific genes. Comparisons based on this limited information have shown a divergence of about 20%, which is normally found among mtDNA molecules of species from very distant taxonomic levels rather than between molecules derived from the same species. Given that DUI has been best studied in the mussel Mytilus, we have obtained the full sequence of the M genome from *M. galloprovincialis*. The gene order of the M genome is the same as in the F, whereas the open reading frames of protein-coding genes and the secondary structures of tRNA genes suggest that the molecule is functional (contrary to the suggestion that it might be a molecular parasite taking a free ride with the sperm). Of special interest are (a) a non-coding region of hitherto unknown function (LUR, Large Unassigned Region) where there exist segments with the minimal and maximal degree of inter-genome divergence and (b) a large duplication that involves the LUR.

This research is funded by G.S.R.T. (PENED 01ED42)

ΑΝΤΙΠΑΡΑΘΕΣΗ ΠΡΟΣΘΙΟΠΙΣΘΙΩΝ ΤΟΠΙΚΩΝ ΠΛΗΡΟΦΟ- ΡΙΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΑΚΡΟΥ ΤΟΥ ΑΝΟΥΡΟΥ *Rana temporaria*. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΡΕΤΙΝΟΪΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

Μουκούλη Μ., Μαυρόγιαννου Ε., Κουσουλάκου Δ., Κωσταρίδης Π., Κουσουλάκος Σ.

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ

Το βλάστημα του άκρου των σπονδυλοζώων προβάλλει, κατά την ανάπτυξή του, από τα πλευρά του ζώου και αποτελείται από μια μάζα μεσεγχυματικών κυττάρων η οποία καλύπτεται από μονόστιβο επιθήλιο. Το άκρο αναπτύσσεται κατά μήκος τριών αξόνων (προσθιοπίσθιος, ραχαιοκοιλιακός, εγύς-μακράν). Σε κάθε περιοχή του βλαστήματος τα κύτταρα εφοδιάζονται με τοπικές πληροφορίες που καθορίζονται από σηματοδοτικά κέντρα. Χειρουργικές επεμβάσεις, με τις οποίες επιτυγχάνεται η επαφή κυττάρων που φέρουν διαφορετικές («αντιδιαμετρικές») τοπικές πληροφορίες έχουν συνήθως ως αποτέλεσμα τη δημιουργία υπεράριθμων άκρων. Η σταθερότητα της μορφής τους και η συσχέτισή της με την πειραματική διαδικασία επιτρέπει τη διατύπωση γενικευμένων κανόνων ανάπτυξης. Ακόμη έχει δειχθεί ότι, πέραν των χειρουργικών επεμβάσεων η βιταμίνη Α και τα ομόλογά της (ρετινοειδή) μπορούν και τροποποιούν το αναπτυξιακό προγραμμα του άκρου. Σε ορισμένες περιπτώσεις η επίδραση της βιταμίνης Α και κάποιες χειρουργικές επεμβάσεις φέρουν το ίδιο αποτέλεσμα.

Στόχος της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση των αποτελεσμάτων που προκύπτουν ύστερα από ταυτόχρονη επίδραση της αντιπαράθεσης προσθίων με οπίσθιες τοπικές πληροφορίες, παρουσία βιταμίνης Α. Χρησιμοποιήθηκαν τέσσερις πειραματικές διαδικασίες: **(α)** Αποκοπή βλαστή-ματος και επανατοποθέτηση στο κολόβωμα. **(β)** Αποκοπή βλαστήματος, επανατοποθέτηση + χορήγηση βιταμίνης Α. **(γ)** Αποκοπή βλαστήματος και ετερόπλευρη μεταμόσχευση ώστε να δημιουργηθεί αντιπαράθεση των προσθιοπίσθιων αξόνων μεταξύ βλαστήματος και κολοβώματος. **(δ)** Όπως το **(γ)**, αλλά με προσθήκη βιταμίνης Α.

Ελήφθησαν τα εξής αποτελέσματα: **(α)** Φυσιολογικά άκρα. **(β)** Υπερά-ριθμα άκρα, ολόκληρα (από τη βάση του στυλοποδίου) διπλο-οπίσθια, κατοπτρικά συμμετρικά. **(γ)** Διάφοροι τύποι υπεράριθμων σχηματισμών, κανένας όμως δεν ξεκινά από τη βάση του στυλοποδίου. **(δ)** Διπλά και τριπλά υπεράριθμα άκρα, συνήθως από τη βάση του στυλοποδίου.

Τα αποτελέσματα χρήζουν λεπτομερούς μελέτης και ανάλυσης, προκειμένου να εκτιμηθεί ο συνδυασμός των μορφογενετικών επιδράσεων.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτείται από τα προγράμματα 70/3/6345 της ΓΓΕΤ και 70/4/5709 του ΕΛΚΕ

ANTERIOR-POSTERIOR AXIAL MISALIGNMENT DURING LIMB DEVELOPMENT OF *Rana temporaria*. THE ROLE OF RETINOIC ACID

Moukouli M., Mavroyiannou E., Koussoulakou D., Kostaridis P., Koussoulakos S.

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of Athens

Vertebrate limbs develop from small buds that protrude from the body wall and consist of mesenchymal cells encased in an ectodermal hull. As the limb grows three axes are established: anteroposterior, dorsoventral and proximodistal. The cells at each location of the limb bud are endowed with positional information specified by signalling centers. Experiments tending to confront cells with disparate positional values result usually in the production of supernumerary limbs. The consistency of the produced structures allows for the formulation of universal laws of development. Apart from such operations, vitamin A and its analogues (retinoids) are able to affect significantly limb development and regeneration. In some aspects, the vitamin A-effects seem to mimic the result of surgical operations.

In this study we have tried to combine anteroposterior misalignment with the action of vitamin A. To achieve this goal left limb buds of stage V *Rana temporaria* were cut and contralaterally grafted upon the right stump and *vice versa*. This operation creates limb buds whereby there is alignment between dorsal and ventral values and conflict between anterior and posterior ones. Thereafter the animals are treated with various concentrations of vitamin A palmitate.

Four kinds of treatment have been performed: **(a)** Plain amputation of the bud and replacement upon its stump. **(b)** The same as in (a) + vitamin A. **(c)** Inversion of the anteroposterior axes. **(d)** As in (c) + vitamin A. Following results have been obtained: **(a)** Normal limbs. **(b)** Supernumerary, double-posterior, mirror-image limbs from the base of the stylopodium. **(c)** Various types of supernumeraries, however none emanates from the base of the stylopodium. **(d)** Double and triple supernumeraries, usually from the base of the stylopodium.

Further evaluation of the results is needed to reveal the nature of the morphogenetic stimulus in each case.

ΕΣΤΕΡΑΣ ΤΟΥ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΜΕ ΛΑΚΤΑΜΗ ΤΗΣ ΕΚΟΓΕΝΙΝΗΣ ΩΣ ΦΟΡΕΑΣ ΤΗΣ ΧΛΩΡΑΜΠΟΥΚΙΛΗΣ (CBC) ΕΝΙΣΧΥΕΙ ΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΟΣΤΑΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΑΛΚΥΛΙΩΤΙΚΟΥ

[1]Μουρελάτος Δ., [1]Ιακωβίδου Ζ., [1]Μιόγλου Ε., [1]Τσινασλανίδου Ζ., [2]Παπαγεωργίου Α., [3]Καμούτσης Χ., [3]Γασπαρινάτου Χ.

[1]Εργ. Γενικής Βιολογίας, Ιατρικό Τμήμα, Α.Π.Θ [2]Εργ. Πειρ. Χημ/πείας, Θεαγένειο Αντικαρκινικό Ινστιτούτο, Θεσ/νίκη. [3]Εργ.Φαρμακευτικής Χημείας, Παν/μιο Πατρών

Η αντινεοπλασματική δράση της CBC ενισχύεται στα κύτταρα-στόχους συνδεόμενη με εστέρες της λακτάμης στεροειδών που επίσης έχουν αντινεοπλασματική δράση. Η επιλογή του εστέρα του κινναμωμικού με λακτάμη της εκογενίνης ως φορέα της CBC στις νεοσυντιθέμενες ουσίες βασίστηκε: α)στη φυσική τους προέλευση, β) στις αντιμικροβιακές, αντιμυκητιακές και ιδιαίτερα στις αντινεοπλασματικές τους ιδιότητες (αναστέλλουν την ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων τραχήλου HeLa και HL-60), γ) στη βιολογική δράση του διπλού δεσμού του κινναμωμικού οξέος και την ενίσχυσή της από κατάλληλους υποκαταστάτες στο βενζολικό δακτύλιο, δ) στη χρήση τους ως μητρικές ενώσεις για παρασκευή φαρμάκων και ε) στην επαύξηση της αντινεοπλασματικής δράσης με τη διεύρυνση του C δακτυλίου του στεροειδούς πυρήνα σε λακτάμη. Οι νεοσυντιθέμενες ουσίες είναι: I=μ-[N,N-δις(2-χλωροαιθυλο)αμινο]κινναμωμικός εστέρας της 3β-υδροξυ-5α, 22α-σπιροσταν-12-όνης,II=μ-[N,N-δις (2-χλωροαιθυλο)αμινο] κινναμωμικός εστέρας της 3β-υδροξυ-12α-αζα-C-ομο-5α,22α-σπιροσταν-12-όνης. Σε φυσιολογικά λεμφοκύτταρα ανθρώπου και σε σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις η γονοτοξική δράση (SCEs)των I και II και η κυτταροστατική (PRI) συγκρίθηκαν με τις αντίστοιχες των επιμέρους συστατικών τους. Οι καλλιέργειες λεμφοκυττάρων περιφερικού αίματος από υγιείς δότες προτείνονται ως άριστο βιολογικό υλικό για τη μελέτη δυνάμει αντινεοπλασματικών ουσιών. Ανεπιδιόρθωτες βλάβες του DNA (SCEs) στα φυσιολογικά κύτταρα αντανακλούν σε ανεπιδιόρθωτες βλάβες στα καρκινικά. Η αντινεοπλασματική δράση απορρέει από τη στατιστικά σημαντική συσχέτιση της πτώσης του PRI και της αύξησης των SCEs. Από τα ευρήματα διαπιστώνεται ότι η μεταφορά της CBC με τον εστέρα του κινναμωμικού με τη λακτάμη της εκογενίνης επαυξάνει σημαντικά την αντινεοπλασματική δράση των επιμέρους συστατικών (συνεργική δράση).

STEROIDAL ESTER OF CINNAMOMIC ACID WITH ECOGENIN LACTAM AS CHLORAMBUCIL (CBC) CARRIER ENHANCES THE CYTOSTATIC EFFECT OF THE ALKYLATOR

[1]Mourelatos D., [1]Iakovidou Z., [1]Mioglou E., [1]Tsinaslanidou Z., [2]Papageorgiou A., [3]Kamoutsis K., [3]Gasparinatou H.

[1]Laboratory of General Biology,Medical School,Aristotle University Thessaloniki. [2]Theagenio Cancer Hospital, Experimental Chemotherapy, Thessaloniki. [3]Laboratory of Phamaceutical Chemistry,University of Patras.

Steroidal esters of CBC in which the alkylator is linked to a modified steroidal moiety with lactam have shown better antitumour activity compared with the activity of CBC and steroidal lactam acting independently. The reasons why we selected the steroidal ester of cinnamomic acid with ecogenin lactam as CBC carrier are: a) their origin as natural products, b)their antimicrobial, antifungal and particularly their antineoplastic properties (they inhibit HeLa and HL –60 cells proliferation, c)their biological activity due to the double bond of cinnamomic acid and its enhancement from the presence of the proper substitutes in the benzoic ring, d)their usage as maternal substances in Pharmacy and e)the antitumour enhancement due to the modification of steroidal C ring by the introduction of lactam. The newly synthesized chemicals are substance I=m-[N,N-dis(2-chloroethyl)amino] cinnamomic ester of 3β-hydroxy-5a, 22a-spirostan-12-one, substance II=m-[N,N-dis(2-chhloroethyl)amino] cinnamomic ester of 3β-hydroxy-12a-aza-C-omo-5a,22a-spirostan-12-one. In normal human lymphocytes and in relatively low concentrations we have compared the genotoxic (SCEs) and the cytostatic (PRI) activity of the steroidal esters with the corresponding activity of their component chemicals. Human lymphocyte cultures from normal subjects are currently used for genotoxicity and cytostatic activity studies. It is expected that unrepaired DNA damage caused by certain chemicals in normal cells (could reflect unrepaired DNA damage in cancer cells. Their possible antitumour activity is deduced from the correlation between SCE induction and PRI suppression. The steroidal ester of cinnamomic acid with ecogenin lactam as CBC carrier enhances significantly the cytostatic effects of its component chemicals (synergistic effect).

ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΕΝΟΣ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΟΜΟΙΟΥ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΕΞΠΑΝΣΙΝΩΝ ΑΠΟ ΤΟΝ *Aspergillus nidulans*

[1]Μπουζαρέλου Δ., [2]Διαλλινάς Γ., [1]Σοφιανοπούλου Β.

[1]Ινστιτούτο Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ "ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ", Αθήνα 15310.
[2]Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Το κυτταρικό τοίχωμα των φυτικών κυττάρων αποτελεί πρωτεύον δομικό στοιχείο καθώς καθορίζει το κυτταρικό σχήμα, παρέχει ισχυρή μηχανική στήριξη στο κύτταρο και λειτουργεί σαν φράγμα ενάντια στα παθογόνα. Το πρωτογενές κυτταρικό τοίχωμα είναι ένα δίκτυο μικροϊνιδίων κυτταρίνης εμβαπτισμένο σε ένα στρώμα ημικυτταρινών και πηκτινών. Η έκταση του κυτταρικού τοιχώματος πραγματοποιείται μέσω «γλιστρήματος» των ινιδίων της κυτταρίνης κατά μήκος των πολυμερών του στρώματος δημιουργώντας χώρο για την αύξηση των πρωτοπλαστών. Οι εξπανσίνες αποτελούν μόρια – κλειδιά της ενδογενούς ρύθμισης της έκτασης του κυτταρικού τοιχώματος και της ωρίμανσης των φρούτων καθώς αποδυναμώνουν τους δεσμούς Η που συνδέουν τους πολυσακχαρίτες μεταξύ τους, επιτρέποντας την κίνηση τους και την χαλάρωση του τοιχώματος. Οι εξπανσίνες είναι πρωτεΐνες οι οποίες εντοπίζονται στα φυτά. Η ταυτοποίηση παρόμοιων ενζύμων του κυτταρικού τοιχώματος στους μύκητες έχει ξεχωριστή σημασία για τους τομείς της γεωργίας και της βιοτεχνολογίας. Έχει περιγραφεί μία δομή παρόμοια με εξπανσίνη σε ένζυμο του κυτταρικού τοιχώματος του μύκητα *Trichoderma ressei,* το οποίο αποικοδομεί κυτταρίνη. Η πρωτεΐνη swollenin έχει χαρακτηριστική σε μύκητες N- τελική δομή πρόσδεσης στην κυτταρίνη. Η περιοχή αυτή συνδέεται μέσω της περιοχής σύνδεσης με την περιοχή εκείνη της πρωτεΐνης που ομοιάζει με εξπανσίνη και υπόκειται σε ρύθμιση παρόμοια των κυτταρινασών. Με *in silico* μελέτες ταυτοποιήθηκε το γονίδιο *anexpA*, το οποίο κωδικοποιεί για ένα πιθανό ένζυμο του κυτταρικού τοιχώματος (μήκους 364 αα), στο μύκητα *Aspergillus nidulans*. Το ένζυμο αυτό αποτελείται από δύο διακριτές περιοχές που χωρίζονται από ένα μικρό εσώνιο (51 ζ.β.). Η πρώτη περιοχή (175αα) είναι παρόμοια με ένδο-β-1-4-ενδογλουκανάσες μυκήτων και φυτοπαθογόνων βακτηρίων και η δεύτερη (189 αα) με φυτικές α εξπανσίνες. Η πρωτεΐνη AnexpA προβλέπεται να είναι όξινη (pI 4.2) με αρκετές PEST αλληλουχίες, θέσεις φωσφορυλίωσης και μία εξαιρετικά πλούσια σε Ser/Thr περιοχή (κατάλοιπα 45-195). Η έκφραση του γονιδίου *anexpA* είναι συνεχής σε κονιδιοσπόρια και μυκήλια και δεν εξαρτάται από διαφορετικές φυσιολογικές συνθήκες. Η μελέτη του βιοχημικού και φυσιολογικού ρόλου της πρωτεΐνης AnexpA με την ανενεργοποίησή ή/και την υπερέκφραση του γονιδίου *anexpA* βρίσκονται σε εξέλιξη.

CLONING AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF AN EXPANSIN-LIKE GENE FROM *Aspergillus nidulans*

[1]Bouzarelou D., [2]Diallinas G., [1]Sophianopoulou V.

[1]Institute of Biology, NCSR "DEMOKRITOS", Athens 153 10.
[2]Department of Biology, University of Athens, Athens 157 73

For plants, the cell wall is an important structure that determines cell shape, provides essential mechanical strength and acts as a critical barrier against pathogens. The primary cell wall is a polymeric network of cellulose microfibrils embedded in a hydrophilic matrix of hemicelluloses and pectins. Wall expansion occurs by slippage of matrix polymers that coat the microfibrils creating space for the enlarging protoplast. Expansins are key endogenous regulators of plant cell enlargement and fruit ripening since they weaken the non-covalent binding between wall polysaccharides allowing chain movement and stress relaxation. Expansins are restricted to plants. The importance of identifying similar call wall enzymes in fungi is of apparent agricultural and biotechnological importance. An expansin-like domain has been described in a *Trichoderma reesei* cell wall enzyme that exhibits disruption activity on cellulosic materials. Swollenin has an N-terminal fungal type cellulose binding domain connected by a linker region to the expansin-like domain and is regulated similar to cellulases.

We have identified, by *in silico* searches, a novel gene, named *anexpA*, in *Aspergillus nidulans*, which encodes a putative cell wall enzyme (364 amino acid in length) consisting of two distinct domains separated by a short intron (51 bp). The first domain (175 amino acids) is similar to endo-β-1-4-endoglucanases from fungi and phytopathogenic bacteria, and the second (189 amino acids) to plant a-expansins. AnexpA is predicted to be highly acidic (pI 4.2) and has several PEST-like sequences, phosphorylation sites and an extremely rich in Ser/Thr region (residues 45-195). *anexpA* transcription is constitutive in conidiospores and mycelium and it does not depend on different physiological conditions (pH, T, N or C sources). To further investigate the biochemical and physiological role of AnexpA, we have constructed appropriate vectors for its overexpression under the *alcA* promoter, and for constructing an *anexpA*Δ gene-disrupted mutant.

ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΩΟΓΕΝΕΣΗΣ ΣΤΟ ΕΝΤΟΜΟ *Ceratitis capitata*

[1]Νέζης Ι.Π., [1]Μοδές Β., [1]Μπάκου Β., [1]Στραβοπόδης Δ., [1]Παπασιδέρη Ι., [2]Μάμαλη Ι., [1]Μαργαρίτης Λ.Χ.

[1]Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Πανεπιστημιόπολη, 15784 Αθήνα.
[2]Αιγινήτειο Νοσοκομείο, Τομέας Νευρολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Στην παρούσα εργασία, παρουσιάζουμε δύο αποπτωτικά γεγονότα κατά τη διάρκεια της ωογένεσης στα τροφοκύτταρα του ωοθυλακίου της μεσογειακής μύγας *Ceratitis capitata*. Το πρώτο είναι αναπτυξιακά ελεγχόμενο και συμβαίνει κατά τη διάρκεια των σταδίων 11-13, ενώ το δεύτερο είναι σταδιοειδικό και παρατηρείται σποραδικά στα στάδια 7 και 8 της ωογένεσης. Η εκδήλωση της απόπτωσης στην πρώτη περίπτωση, αρχίζει στο στάδιο 11 και χαρακτηρίζεται από τη δημιουργία κυτταραπλασματικών δεσμίδων ακτίνης. Στη συνέχεια στα στάδια 12 και 13, οι πυρήνες των τροφοκυττάρων παρουσιάζουν συμπυκνωμένη χρωματίνη και περιέχουν αποδομημένο DNA. Τελικά τα αποπτωτικά κυστίδια που έχουν δημιουργηθεί φαγοκυτταρώνονται από τα γειτονικά θυλακοκύτταρα κατά τη διάρκεια των σταδίων 13-14. Στο δεύτερο σποραδικά παρατηρούμενο αποπτωτικό γεγονός, τα τροφοκύτταρα εκφυλίζονται και απομακρύνονται μέσω φαγοκύτωσης από το επιθήλιο των θυλακοκυττάρων. Οι παραπάνω παρατηρήσεις συγκρινόμενες με ανάλογες παρατηρήσεις μας στη *Drosophila melanogaster* και στο *Dacus oleae* δείχνουν ότι η απόπτωση των τροφοκυττάρων είναι ένας μηχανισμός φυλογενετικά συντηρημένος στα Δίπτερα.

Η έρευνα αυτή επιχορηγήθηκε από την Ευρωπαική Ένωση (TMR-Network, Grant Nº ERBFMRXCT 980200)

MODES OF PROGRAMMED CELL DEATH DURING *Ceratitis capitata* OOGENESIS

[1]Nezis I.P., [1]Modes V., [1]Mpakou V., [1]Stravopodis D., [1]Papassideri I., [2]Mamali I., [1]Margaritis L.H.

[1]Faculty of Biology, Department of Cell Biology and Biophysics University of Athens, Panepistimiopolis 15784 Athens, Greece
[2]Aiginition Hospital, Department of Neurology, University of Athens, Greece

In the present study, we demonstrate the existence of two apoptotic patterns in nurse cells during *Ceratitis capitata* oogenesis. One is developmentally regulated and normally occurs during stages 11-13 and the other is stage-specific and is sporadically observed during stages 7 and 8. The apoptotic manifestation of the first pattern begins at stage 11 and is characterized by the formation of actin bundles. Subsequently, at stage 12 and 13 the nurse cell nuclei exhibit condensed chromatin and contain fragmented DNA, as revealed by TUNEL assay. The apoptotic nurse cell remnants are phagocytosed by the neighboring follicle cells at the end of oogenesis during stages 13 and 14. In the second apoptotic pattern, which occurs sporadically during stages 7 and 8, the nurse cells degenerate and are phagocytosed by the follicular epithelium that contains apoptotic cell bodies. The data presented herein compared to previous reported results in *Drosophila melanogaste*r and *Dacus oleae*, strongly suggest that nurse cell apoptosis is a developmentally regulated and phylogenetically conserved mechanism in higher Dipteran. They also suggest that the sporadic apoptotic pattern consist a possible protective mechanism throughout oogenesis, when damaged or abnormal egg chambers are eliminated before they reach maturity.

This work was supported by grant to L.H. Margaritis from European Union (TMR-Network, Grant N° ERBFMRXCT 980200)

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ, ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΚΑΙ ΕΤΕΡΟΛΟΓΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΗΣ UDP1 ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *Urtica dioica* (κ. ΤΣΟΥΚΝΙΔΑ)

Ντουρούπη Τ.Γ., Παπασιδέρη Ι.Σ., Στραβοπόδης Δ.Ι., Μαργαρίτης Λ.Χ.

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Παν/μιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολις, Τ.Κ. 15784, Αθήνα

Ο cDNA κλώνος Udp1, απομονώθηκε από το φυτό *Urtica dioica* (κ. τσουκνίδα) με μια διαδικασία βασισμένη σε αντιδράσεις PCR. Η προβλεπόμενη κατιονική πρωτεΐνη περιέχει ένα αμινοτελικό πεπτίδιο-σηματοδότη για την είσοδο στο αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο. Το ώριμο πολυπεπτίδιο των 310 αμινοξικών καταλοίπων έχει όλα τα συντηρημένα δομικά και λειτουργικά κατάλοιπα που χαρακτηρίζουν την υπεροικογένεια των φυτικών υπεροξειδασών. Έχει επίσης μια προέκταση στο καρβοξυτελικό άκρο που δρα πιθανά ως σηματοδότης για την είσοδο στο κενοτόπιο. Η υπεροξειδάση Udp1 εκφράζεται αποκλειστικά στις ρίζες του φυτού. Ο τραυματισμός ή η υπεριώδης ακτινοβολία είναι παράγοντες στρες που επάγουν την έκτοπη έκφραση της Udp1 στα εναέρια τμήματα. Ανασυνδυασμένη υπεροξειδάση Udp1 εκφράστηκε σε βακτήρια σε μορφή εγκλείστων. Η απομόνωση και ο προσδιορισμός της αλληλουχίας ενός τμήματος γονιδιωματικού DNA αποκάλυψε ότι το γονίδιο της Udp1 έχει τρία εξώνια και δύο εσώνια. Εξετάστηκαν επίσης οι φυλογενετικές σχέσεις της Udp1 με την οικογένεια των υπεροξειδασών του φυτού *Arabidopsis thaliana*. Η κατασκευή θεωρητικών μοντέλων της τρισδιάστατης δομής της Udp1 υποδεικνύει την παρουσία δομικών στοιχείων που πιθανά παίζουν ρόλο στην ειδικότητα του ενζύμου ως προς το αναγωγικό υπόστρωμα καθώς και στον εντοπισμό του σε υποκυτταρικό επίπεδο.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από πρόγραμμα TMR Nº ERB4061PL970047 στον Λ.Χ. Μαργαρίτη

MOLECULAR CLONING, GENE REGULATION AND HETEROLOGOUS EXPRESSION OF THE FIRST PEROXIDASE FAMILY MEMBER, UDP1, IN STINGING NETTLE (*Urtica dioica*)

Douroupi T.G., Papassideri I.S., Stravopodis D.J., Margaritis L.H.

University of Athens, Faculty of Biology, Department of Cell Biology and Biophysics, Athens, Greece

A full-length cDNA clone, designated Udp1, was isolated from *Urtica dioica* (stinging nettle), using a PCR- based strategy. The deduced cationic protein contains a cleavable N- terminal signal sequence for rough endoplasmic reticulum entry and a 310 amino acid residues mature protein, containing the structurally and functionally important residues, which are characteristic and conserved in the plant peroxidase superfamily. It also shows a C-terminal extension indicating vacuolar targeting. Udp1 is specifically expressed in roots. Wounding and ultraviolet irradiation stress, cause an ectopic induction of Udp1 expression in aerial parts. Recombinant Udp1 was expressed as inclusion bodies in bacteria. A genomic DNA fragment encoding for Udp1 was also cloned and sequenced, revealing the presence of three exons and two introns. The phylogenetic relationship of Udp1 to the *Arabidopsis thaliana* peroxidase family was examined and homology modelling revealed structural elements, which might play a role in determining reducing substrate recognition and subcellular localization of Udp1 peroxidase.

This work was supported by a TMR grant N° ERB4061PL970047 to Prof. L.H. Margaritis.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΠΟΛΥΑΜΙΝΩΝ ΣΤΟ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟ ΑΝΑΣΤΟΛΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΗΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΑΠΟ ΧΛΩΡΑΜΦΑΙΝΙΚΟΛΗ

Ξαπλαντέρη Μ.Α., Ανδρέου Α., Καλπαξής Δ.Λ.

Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500 Πάτρα

Διάφορες μελέτες έχουν ασχοληθεί με την κινητική της αναστολής του σχηματισμού του πεπτιδικού δεσμού από χλωραμφαινικόλη (CAM). Το αντιβιοτικό αυτό μοιάζει με το 3'-άκρο των αμινοακυλο-tRNAs και πιστεύεται ότι συναγωνίζεται τη δέσμευση των αληθών υποστρωμάτων. Όμως, πέραν της συναγωνιστικής αναστολής, έχουν δημοσιευθεί κινητικές αναλύσεις μη-συναγωνιστικού ή μικτού μη-συναγωστικού τύπου, ανάλογα με τη χρησιμοποιηθείσα συγκέντρωση του αναστολέα και το ρυθμιστικό διάλυμα της αντίδρασης. Με στόχο να διαλευκάνουμε αυτή την αντίφαση, επαναλάβαμε τη μελέτη του μηχανισμού δράσης της CAM σ'ένα *in vitro* σύστημα από *Escherichia coli*, όπου ο πεπτιδικός δεσμός σχηματίζεται μεταξύ πουρομυκίνης, ενός ψευδουποστρώματος της A-θέσης, και AcPhe-tRNA δεσμευμένου στην P-θέση poly(U)-ριβοσωμάτων. Οι χρησιμοποιηθείσες ιοντικές συνθήκες (6 mM Mg^{2+}, 100 mM NH_4^+, 100 μM σπερμίνη) επιλέχθηκαν έτσι ώστε να προσομοιάζουν τις φυσιολογικές. Βρέθηκε ότι η CAM (I) αντιδρά με το σύμπλοκο AcPhe-tRNA□poly(U)□70S-ριβόσωμα (C) και σχηματίζει το αδρανές σύμπλοκο C*I. Το σύμπλοκο C*I προκύπτει μέσω δύο διαδοχικών αντιδράσεων, C + I □ CI □ C*I. Η μέτρηση των κινητικών σταθερών επέτρεψε να διαπιστώσουμε, ότι η σπερμίνη αυξάνει τη συγγένεια της CAM προς το σύμπλοκο C, χωρίς να επηρεάζει το στάδιο ισομερισμού. Ανάλυση με τεχνικές φωτοσήμανσης απεκάλυψε ότι, το καταλυτικό κέντρο των ριβοσωμάτων όπου προσδένεται η CAM, αποτελεί περιοχή δέσμευσης της σπερμίνης. Τα αποτελέσματά μας αφ' ενός ερμηνεύουν την ασυμφωνία μεταξύ των διαφόρων υποθέσεων για το μηχανισμό δράσης της CAM, αφ' ετέρου υποστηρίζουν ότι οι πολυαμίνες προσδενόμενες στο καταλυτικό κέντρο της πεπτιδυλο-τρανσφεράσης παρεμβαίνουν άμεσα ή μέσω επαγωγής αλλαγών διαμόρφωσης στην αλληλεπίδραση του αντιβιοτικού με το ριβόσωμα.

Η εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια προγράμματος που έχει επιχορηγηθεί από το Υπουργείο Υγείας.

INFLUENCE OF POLYAMINES ON THE MECHANISM OF PROTEIN SYNTHESIS INHIBITION BY CHLORAMPHENICOL

Xaplanteri M.A., Andreou A., Kalpaxis D.L.

Laboratory of Biochemistry, School of Medicine, University of Patras, GR-26500 Patras, Greece

Several studies have dealt with the kinetics of inhibition of peptide bond formation by chloramphenicol (CAM). This drug resembles the 3'-end of aminoacyl-tRNAs and is thought to interfere competitively with the interaction of true substrates. Nevertheless, competitive, non-competitive, and mixed noncompetitive kinetics have been reported, depending on the drug concentration and the buffer system used. To explain these controversial results, we reexamined the inhibition effect of CAM in a model system derived from *Escherichia coli*, in which a peptide bond is formed between puromycin, a pseudo-substrate of the A-site, and AcPhe-tRNA bound at the P-site of poly(U)-programmed ribosomes. The ionic conditions used (6 mM Mg^{2+}, 100 mM NH_4^+, 100 μM spermine) were chosen to resemble those occurring *in vivo*. It was revealed that CAM (I) reacts competitively with AcPhe-tRNA□poly(U)□70S ribosomal complex (C) and forms a tight complex C*I, which is inactive toward puromycin. C*I is the product of a slow conformational change of the initial encounter complex CI, according to the equation C + I □ CI □ C*I. The determination of the inhibition and isomerization rate constants allowed us to realize that spermine increases the affinity of CAM toward complex C without affecting the isomerization step. Further analysis by photo-labeling techniques revealed that the catalytic center of ribosomes in which CAM binds, is a preferable region for spermine cross-linking. These results may explain the discrepancy between the various reports on the kinetics of inhibition by CAM and, in addition, suggest that polyamines by binding to the peptidyltransferase center mediate directly or through conformational changes the interaction of CAM with ribosomes.

This work was supported by a grant from the Greek Ministry of Health

Η ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ FT-RAMAN ΩΣ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟ ΕΡΓΑΛΕΙΟ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΤΗΣ ΧΡΩΣΤΙΚΗΣ CONGO RED ΣΕ ΑΜΥΛΟΕΙΔΗ

Οικονομίδου Β.Α., Χρυσικός Γ.Δ., Γκιώνης Β., Χαμόδρακας Σ.Ι.

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 01

Το χόριο του μεταξοσκώληκα είναι το κύριο συστατικό του κελύφους των αυγών του. Περισσότερο από το 95% της μάζας του συνίσταται από δομικές πρωτεΐνες χαμηλού μοριακού βάρους, που κατατάσσονται στις Α και Β οικογένειες. Οι πρωτεΐνες αυτές έχουν εξαιρετικές μηχανικές και φυσικοχημικές ιδιότητες, οι οποίες προστατεύουν το ωοκύτταρο και το αναπτυσσόμενο έμβρυο από περιβαλλοντικούς κινδύνους. Παρουσιάζουμε δεδομένα που έχουν συλλεγεί με φασματοσκοπία FT-Raman, από χόρια του μεταξοσκώληκα και από αμυλοειδή ινίδια που δημιουργήθηκαν από πεπτίδια-ανάλογα των πρωτεϊνών του χορίου, τόσο 'βαμμένων' με τη χρωστική Congo red όσο και 'άβαφτων'. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι, η φασματοσκοπία FT-Raman δεν είναι ένα σαφές διαγνωστικό εργαλείο για την ειδική αλληλεπίδραση της χρωστικής Congo red με αμυλοειδή: ένα αραιωμένο υδατικό διάλυμα της χρωστικής Congo red σε pH 5.5 και μια λεπτή μεμβράνη, η οποία δημιουργήθηκε μετά την εναπόθεση σταγόνας του παραπάνω διαλύματος και την εξάτμισή της σε φύλλο χρυσού, έδωσε τις ίδιες 'διαγνωστικές' ταινίες Raman, συγκριτικά με την καθαρή χρωστική σε στερεά μορφή, ίδιες με αυτές των αμυλοειδών ινιδίων, τα οποία δημιουργήθηκαν από πεπτίδια ανάλογα των πρωτεϊνών του χορίου και 'βάφτηκαν' με Congo red. Μια σημαντική συνέπεια αυτών των ευρημάτων είναι ότι αυτές οι μετατοπίσεις των ενεργών ταλαντώσεων Raman του Congo red οφείλονται, πιθανόν, στη δημιουργία υπερμοριακών συσσωματωμάτων της χρωστικής παρουσία νερού. Συνεπώς, αυτός δεν είναι ο κατάλληλος έλεγχος για τη δέσμευση του Congo red σε αμυλοειδή.

FT-RAMAN SPECTROSCOPY AS A DIAGNOSTIC TOOL OF CONGO RED BINDING TO AMYLOIDS

Iconomidou V.A., Chryssikos G.D., Gionis V., Hamodrakas S.J.

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 157 01

Chorion is the major component of silkmoth eggshell. More than 95% of its dry mass consists of the A and B families of low molecular weight structural proteins, which have remarkable mechanical and chemical properties protecting the oocyte and developing embryo from environmental hazards. We present data from FT-Raman spectroscopy of silkmoth chorion and amyloid-like fibrils formed from peptide analogues of chorion proteins, both unstained and stained by Congo red. The results show that FT-Raman spectroscopy is not a straightforward diagnostic tool for the specific interactions of Congo red with amyloids: a dilute aqueous solution of the Congo red dye at pH 5.5 and a thin solid film of the dye cast from this solution exhibit the same "diagnostic" Raman shifts relative to the neat Congo red dry powder as do amyloid fibrils formed from peptide analogues of chorion proteins stained by Congo red. An important consequence of this finding is that these shifts of the Raman active modes of Congo red are probably due to the formation of supramolecular dye aggregates in the presence of water. Therefore, this is not an appropriate diagnostic test for Congo red binding to amyloids.

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΙΑΣ ΝΕΑΣ ΜΕΤΑΛΛΑΞΗΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ *ANTENNAPEDIA* ΣΤΗ *Drosophila melanogaster*

Πάλμου Α., Βένδρα Γ., Γιαννόπουλος Γ.

Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Πανεπιστήμιο Πατρών

Το ομοιοτικό γονίδιο *Antennapedia* (*Antp*) στην *Drosophila* είναι απαραίτητο για την ομαλή ανάπτυξη των θωρακικών τμημάτων τόσο στο στάδιο της προνύμφης όσο και του ώριμου ατόμου. Άτομα στα οποία λείπει το γονίδιο πεθαίνουν κατά το εμβρυϊκό στάδιο ενώ το εξώδερμα των τριών θωρακικών τμημάτων (προ-, μέσο- και μεταθωρακικό τμήμα) εν μέρει μετασχηματίζεται σε εξώδερμα άλλων πρόσθιων τμημάτων. Οι υπερέχουσες μεταλλάξεις του γονιδίου *Antp* προκαλούν ομοιοτικές μετατροπές των τμημάτων του κεφαλιού σε θωρακικές δομές (συνήθως οι κεραίες μετατρέπονται σε πόδια). Δεδομένου ότι το γονίδιο Antp δεν παίζει ρόλο στο σχηματισμό του κεφαλιού, η μετατροπή τμημάτων του κεφαλιού σε θωρακικά φαίνεται να είναι αποτέλεσμα έκτοπης έκφρασής του σε λάθος ιστό. Το γονίδιο *Antp* έχει μήκος πάνω από 100 kb και η έκφρασή του ρυθμίζεται από δυο ανεξάρτητους υποκινητές. Οι περισσότερες υπερέχουσες μεταλλάξεις οφείλονται σε αναστροφές οι οποίες διακόπτουν την περιοχή μεταξύ των δυο υποκινητών.

Με EMS μεταλλαξιγένεση απομονώσαμε μια υπερέχουσα μετάλλαξη Antp που ονομάστηκε $Antp^{GY}$. Επειδή η μετάλλαξη είναι θανατογόνος σε ομοζυγωτία, διατηρείται σε ετεροζυγωτική κατάσταση με το *Ubx* ισορροπημένο χρωμόσωμα. Κυτταρολογική ανάλυση αποκάλυψε την απουσία οποιασδήποτε χρωμοσωματικής μετάλλαξης στο τρίτο χρωμόσωμα που φέρει την μετάλλαξη $Antp^{GY}$. Διαλληλικές διασταυρώσεις με τρεις άλλες γνωστές υπερέχουσες *Antennapedia* μεταλλάξεις έδειξαν συμπληρωματικότητα που σημαίνει ότι η φύση της $Antp^{GY}$ είναι διαφορετική.

Στα $Antp^{GY}$/*Ubx* άτομα περιοχές του κεφαλιού αλλά και περιοχές του άνω μέρους των ματιών μετατρέπονται σε προθωρακικά τμήματα. Οι κεραίες αλλά και εσωτερικά τμήματα των ματιών μετατρέπονται σε πόδια. Ο βαθμός μετασχηματισμού ποικίλλει σε άτομα του ίδιου γενοτύπου. Ο επικρατών φαινότυπος είναι αυτός που αφορά τη μετατροπή του κεφαλιού σε προθωρακικά τμήματα.

GENETIC ANALYSIS OF A NEW *ANTENNAPEDIA* MUTATION IN *Drosophila melanogaster*

Palmou A., Vendra G., Yannopoulos G.

Department of Biology, Division of Genetics, Cell and Developmental Biology, University of Patras

The *Antennapedia* (*Antp*) Hox gene in *Drosophila* is necessary for the proper development of thoracic segments in both larval and adult stages. Animals lacking the *Antp* locus die as embryos and the cuticle of the three thoracic segments (the pro-, meso-, and metathorax) is partially transformed to cuticle of more anterior segments. Dominant mutations of *Antp* cause striking homeotic transformation of head structures into thoracic structures (typically, antennae are transformed into legs). Because the Antp gene is not needed for normal head development the dominant transformation appears to result from the expression of the thorax-specifying functions of Antp in the wrong tissue. The Antp gene is over 100 kb long and has two in independently regulated promoters.

Most dominant mutations of *Antp* are chromosomal inversions that break the locus between the two promoters.

$Antp^{GY}$ in allelic crosses with three known *Antp* mutations showed complementation fact meaning that the nature of our mutation is different. From an EMS mutagenesis experiment we isolated an Antennapedia dominant mutation (designated $Antp^{GY}$). Since the mutation is lethal in homozygotes is kept in heterozygous condition with the *Ub*x balancer chromosome. Cytological analysis revealed that the third chromosome bearing the mutation is clean of any chromosomal aberration.

In the $Antp^{GY}$/*Ub*x individuals, portions of the head capsule and peripheral portions of the eyes are transformed to prenotum (prescutum). The antennae as well as internal portions of the eyes are transformed to leg. The degree of transformation varies greatly between flies of the same genotype. The prevalent phenotype concerns the transformation of the head capsule to prenotum.

Η ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΕΙΔΙΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥ υPAR ΑΝΑΦΟΡΙΚΑ ΜΕ ΤΗΝ ΕΠΙΘΕΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΔΙΗΘΗΤΙΚΩΝ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΩΝ ΜΑΣΤΟΥ

[1]Παναγιωτοπούλου Ε.Γ., [1]Καπράνου Α., [1]Μαυρομμάτης Ι., [1]Γιαννοπούλου Ι., [1]Γακιοπούλου Χ., [2]Μαρκάκη Σ., [3]Κεραμόπουλος Α., [1]Νακοπούλου Λ.

[1]Εργ. Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Αθηνών, [2]Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Νοσοκομείο «Αλεξάνδρα», [3]1η Γυναικολογική Κλινική, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΕΙΣΑΓΩΓΗ: Ο υποδοχέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης (urokinase-type Plasminogen Activator Receptor, υPAR) είναι ένας υποδοχέας προσκόλλησης με σημαντικό ρόλο στις φυσιολογικές διεργασίες αναδόμησης των ιστών, καθώς και στην καρκινική διήθηση, λόγω της λειτουργίας του ως οργανωτή των συνδέσμων επικοινωνίας μεταξύ κυττάρων και κυττάρων-εξωκυτταρίου στρώματος. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η εκτίμηση της έκφρασης του υPAR σε διηθητικά καρκινώματα μαστού, σε σχέση με κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους (ηλικία ασθενών, ιστολογικός τύπος, ιστολογικός και πυρηνικός βαθμός κακοηθείας, μέγεθος όγκου, κατάσταση επιχωρίων λεμφαδένων, στάδιο της νόσου, επίπεδα ορμονικών υποδοχέων), την ελευθέρα νόσου και ολική επιβίωση των ασθενών και την έκφραση των σχετιζομένων με την καρκινική διήθηση πρωτεϊνών c-erbB-2, MMP-2, TIMP-1 και TIMP-2.

ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΙ: Η έκφραση των υPAR, ER, PR, c-erbB-2, MMP-2, TIMP-1 και TIMP-2 ανιχνεύθηκε ανοσοϊστοχημικά (ABC/HRP) σε τομές παραφίνης 173 περιστατικών πρωτοπαθούς διηθητικού καρκινώματος μαστού. Τα αποτελέσματα εκτιμήθηκαν με μονοπαραγοντική (Pearson's χ^2 test, log rank) και πολυπαραγοντική (stepwise forward Cox's proportional hazard regression model) στατιστική επεξεργασία.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: Ανοσοθετικότητα της πρωτεΐνης υPAR παρατηρήθηκε σε καρκινικά (75.7%, 131/173) και στρωματικά κύτταρα (65.9%, 114/173). Η έκφρασή του στο καρκινικό επιθήλιο συσχετίστηκε με τα επίπεδα των MMP-2 σε καρκινικά κύτταρα (p=0.033), TIMP-1 σε καρκινικά και στρωματικά κύτταρα (p=0.014 και p=0.020 αντίστοιχα) και παρουσίασε μία τάση με το μέγεθος του όγκου (p=0.053). Η στρωματική έκφραση του υPAR σχετίστηκε με την ύπαρξη λεμφαδενικών μεταστάσεων (p=0.046), απώλεια έκφρασης των οιστρογονικών υποδοχέων (p=0.036) και την MMP-2 εκφραζόμενη σε καρκινικά κύτταρα (p=0.015). Η πολυπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης κατέδειξε ότι ο υPAR εκφραζόμενος στο καρκινικό επιθήλιο σχετίζεται με καλή πρόγνωση (p=0.0387), ενώ η έκφρασή του σε στρωματικά κύτταρα συσχετίστηκε με την ανάπτυξη απομακρυσμένων μεταστάσεων (p=0.0322).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ: Η κυτταροειδική έκφραση του υPAR διαπιστώθηκε να έχει διαφορική σημασία σε σχέση με τα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά και την πρόγνωση ασθενών με διηθητικό καρκίνο του μαστού.

CELL-TYPE SPECIFIC uPAR EXPRESSION: DIFFERENTIAL SIGNIFICANCE REGARDING THE AGGRESSIVENESS AND PROGNOSIS OF INVASIVE BREAST CARCINOMAS

[1]Panayotopoulou E.G., [1]Kapranou A., [1]Mavrommatis J., [1]Giannopoulou I., [1]Gakiopoulou H., [2]Markaki S., [3]Keramopoulos A., [1]Nakopoulou L.

[1]Department of Pathology, Medical School, University of Athens, [2]Department of Pathology, Alexandra «Hospital», and [3]Department of Gynaecology and Obstetrics, Medical School, University of Athens.

INTRODUCTION: Urokinase-type plasminogen activator receptor (uPAR) is an adhesion receptor with an important role in physiological tissue remodeling, as well as in tumor invasion, due to its function as an organizer of adhesive cell-cell and cell-extracellular matrix (ECM) communications. The aim of the present study was the evaluation of uPAR expression in invasive breast cancer, in relation to clinicopathological parameters (age, histologic type, histologic and nuclear grade, tumor size, lymph node status, stage, hormone receptor status), patients' recurrence-free and overall survival, and the expression of c-erbB-2 oncoprotein, matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and -2 (TIMP-1 and TIMP-2).

MATERIAL-METHODS: UPAR, ER, PR, c-erbB-2, MMP-2, TIMP-1, TIMP-2 and bcl-2 were immunohistochemically detected in 173 primary invasive breast cancer tissue sections. The results were evaluated by means of univariate (Pearson's χ^2 test, log rank) and multivariate (stepwise forward Cox's proportional hazard regression model) statistical analysis.

RESULTS: UPAR protein was expressed in cancer (75.7%, 131/173) and stromal cells (65.9%, 114/173). Its expression in cancer cells was related with MMP-2 protein expressed in cancer cells (p=0.033), TIMP-1 expressed in either cancer or stromal cells (p=0.014 and p=0.020 respectively), and presented a trend with tumor size (p=0.053). UPAR expressed in stromal cells was associated with lymph node involvement (p=0.046), negative ER (p=0.036), and MMP-2 expressed in cancer cells (p=0.015). Multivariate survival analysis deduced uPAR expressed in tumoral epithelium as a predictor of good prognosis (p=0.0387), whereas stromal uPAR was related with shortened recurrence-free survival (p=0.0322).

CONCLUSIONS: UPAR cell-type specific expression was observed to engage a differential significance regarding the phenotypic features, as well as the recurrence-free and overall prognosis of invasive breast carcinomas.

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΩΝ ΠΕΔΙΩΝ ΣΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Παναγόπουλος Δ.Ι., Μαργαρίτης Λ.Χ.

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Παρά το μεγάλο πλήθος πειραματικών δεδομένων που τις τελευταίες δεκαετίες καταδεικνύουν ότι ακόμη και πολύ ασθενή ηλεκτρικά και μαγνητικά πεδία της ανθρώπινης τεχνολογίας, έχουν ποικίλες επιδράσεις στους ζωντανούς οργανισμούς, επιδράσεις που στη μεγάλη τους πλειοψηφία δεν συνοδεύονται από αύξηση θερμοκρασίας του ιστού που εκτίθεται στο πεδίο, (μη-θερμικά φαινόμενα), δεν υπάρχει ακόμη κάποιος κοινά αποδεκτός μηχανισμός για την εξήγηση της δράσης των ασθενών πεδίων στα κύτταρα. Κάποιοι μηχανισμοί που έχουν προταθεί την τελευταία δεκαετία για την εξήγηση της δράσης των μαγνητικών πεδίων, έχουν σοβαρά μειονεκτήματα.

Η θεωρία που έχουμε προτείνει αναφέρεται στην εξαναγκασμένη ταλάντωση των ελευθέρων ιόντων στην επιφάνεια της κυτταροπλασματικής μεμβράνης ενός κυττάρου, που προκαλείται από ένα μεταβαλλόμενο ηλεκτρικό ή μαγνητικό πεδίο. Κατά τη διέλευση των ιόντων δια μέσου ηλεκτροευαίσθητων καναλιών-διαύλων της μεμβράνης, (όπως τα κανάλια κατιόντων), μία μετατόπιση ενός ιόντος της τάξης των 10^{-12} m, από την «κανονική» του θέση, μπορεί να εξασκήσει ηλεκτροστατική δύναμη στους αισθητήρες του διαύλου, ανάλογη με αυτή που δημιουργεί μια μεταβολή της τάξης των 30mV στο δυναμικό της μεμβράνης και που είναι γνωστό ότι μπορεί να προκαλέσει άνοιγμα ή κλείσιμο του καναλιού. Αν λοιπόν ένα εξωτερικό πεδίο μπορεί να προκαλεί αντικανονικό άνοιγμα ή κλείσιμο ιοντικών διαύλων στην κυτταροπλασματική μεμβράνη, τότε μπορεί να μεταβάλλει την ηλεκτροχημική ισορροπία της μεμβράνης και κατά συνέπεια όλη τη λειτουργία του κυττάρου.

Με βάση το βιοφυσικό αυτό μοντέλο, μπορεί να εξηγηθεί η βιολογική δράση ακόμη και πολύ ασθενών ηλεκτρικών και μαγνητικών πεδίων, όπως επίσης και τα αποτελέσματα των περισσοτέρων μέχρι σήμερα πειραμάτων που έχουν καταγράψει βιολογική δράση, χωρίς τα μειονεκτήματα των άλλων θεωριών. Εξηγούνται επίσης και κάποια ειδικότερα φαινόμενα που δεν είχαν εξήγηση έως τώρα, όπως η αυξημένη δραστικότητα των παλμικών-διακοπτόμενων πεδίων σε σχέση με τα μη διακοπτόμενα, αλλά και η αυξημένη δραστικότητα των πεδίων χαμηλής συχνότητας σε σχέση με τα πεδία ψηλότερων συχνοτήτων.

Η εργασία αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών

MECHANISM BY WHICH ELECTROMAGNETIC FIELDS CAN ALTER CELL FUNCTION

Panagopoulos D.J., Margaritis L.H.

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology University of Athens

Despite the large amount of experimental data during the last decades showing that even very weak man-made electric and magnetic fields can cause a variety of mostly non-thermal effects on living organisms, (effects that are not accompanied by temperature increase of the tissue exposed to the field), there isn't until now any commonly accepted theory for the explanation of the effects of weak electric and magnetic fields on cells. Several mechanisms that have been proposed, mostly during the last ten years, for the explanation of the action of magnetic fields, have serious deficiencies,

The theory that we have proposed, [Panagopoulos et al, 2000; 2002], [Panagopoulos and Margaritis, 2003], is based on the forced-vibration of the free ions on the surface of a cell's plasma membrane, caused by an external oscillating electric or magnetic field. During the passing of the ions through the membrane's electro sensitive channels, (like the cation channels), a single ion's displacement of the order of 10^{-12}m, from its "normal" position, is able to exert electrostatic force on the channel's voltage-sensors similar with the force caused by a change of 30mV on the membrane potential which is known to gate this kind of channels. If an external field can irregularly gate ion channels, it can then change the membrane's electrochemical balance and consequently the whole cell function.

According to our theory there is an explanation for the first time for the biological action of even very weak electric and magnetic fields and an explanation of the majority of the recorded positive results, without the deficiencies of the other proposed mechanisms]. Additionally according to our theory there is for the first time an explanation of some more specialized observations like the increased biological action of pulsed fields in relation to continuous (uninterrupted) ones, or the increased biological action of low frequency fields in relation to higher frequency ones.

Panagopoulos D.J., Messini N., Karabarbounis A., Filippetis A.L., and Margaritis L.H., (2000), A Mechanism for Action of Oscillating Electric Fields on Cells, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 272(3), 634-640.

Panagopoulos D.J. Karabarbounis A. and Margaritis L.H., (2002), Mechanism for Action of Electromagnetic Fields on Cells, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 298(1), 95-102.

Panagopoulos D.J. and Margaritis L.H., (2003), Theoretical Considerations for the Biological Effects of Electromagnetic Fields, *In*: Stavroulakis P. (Ed.) "Biological Effects of Electromagnetic Fields", Springer.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ HARP ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ

[1]Παναγοπούλου Π., [2]Παπαδημητρίου Ε., [3]Περιμένης Π., [1]Κατσώρης Π.

[1]Τμήμα Βιολογίας, [2]Τμήμα Φαρμακευτικής, [3]Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών

Η HARP (Heparin Affin Regulatory Peptide) είναι ένας πρωτεϊνικής φύσης αυξητικός παράγοντας με μοριακό βάρος (Μ.Β.) 18 kDa και ποικίλες δράσεις, μεταξύ των οποίων εμπλοκή στην αγγειογένεση, την καρκινογένεση και τη μετάσταση. Η πλειοτροπική της δράση μπορεί να εξηγηθεί από την ικανότητα πρόσδεσής της σε διαφορετικούς υποδοχείς μεταξύ των οποίων είναι ο ALK (Anaplastic Lymphoma Kinase) που έχει ενεργότητα κινάσης τυροσίνης και έχει πιστοποιηθεί ως ειδικός υποδοχέας για την εκκρινόμενη μορφή της HARP. Στο πλαίσιο της μελέτης της βιολογικής δράσης της HARP στον ανθρώπινο προστάτη, εξετάστηκε η παρουσία της τόσο σε επίπεδο πρωτεΐνης όσο και σε επίπεδο μηνύματος. Με ανοσοϊστοχημεία, η HARP ανιχνεύτηκε στο ινομυώδες στρώμα τόσο σε φυσιολογικούς όσο και σε καλοήθως υπερπλασμένους και καρκινικούς ιστούς. Στους καρκινικούς ιστούς, εντοπίστηκε και στα επιθηλιακά κύτταρα. Αντίθετα, με *in situ* υβριδοποίηση, το mRNA της HARP εντοπίστηκε μόνο στα κύτταρα του ινομυώδους στρώματος. Επιπλέον, εξετάσθηκε με ανοσοστύπωμα η ταυτόχρονη παρουσία υποδοχέα και αυξητικού παράγοντα και ενώ ο ALK βρέθηκε τόσο σε φυσιολογικούς όσο και σε παθολογικούς ιστούς, το πλήρες μόριο της HARP ανιχνεύτηκε μόνο σε φυσιολογικούς ιστούς. Στους καρκινικούς όπως και στους καλοήθως υπερπλασμένους ιστούς ανιχνεύεται ένα χαρακτηριστικό πεπτίδιο Μ.Β. 16,5 kDa ενώ πεπτίδια μικρότερου Μ.Β. ανιχνεύονται σε όλα τα δείγματα, συμπεριλαμβανομένων και των φυσιολογικών και αποτελούν ενδεχομένως προϊόντα υδρόλυσης του μορίου. Η προέλευση τους καθώς και η βιολογική τους δράση αποτελούν αντικείμενο έρευνας που βρίσκεται υπό εξέλιξη.

THE ROLE OF HARP IN THE PATHOPHYSIOLOGY OF HUMAN PROSTATE

[1]Panagopoulou P., [2]Papadimitriou E., [3]Perimenis P., [1]Katsoris P.

[1]Department of Biology, [2]Department of Pharmacy, [3]Department of Medicine, University of Patras

The growth factor HARP (Heparin Affin Regulatory Peptide) is an 18 kDa secreted protein that displays several biological activities, such as involvement in angiogenesis, tumorogenesis and metastasis. HARP induces its effects by interacting with several receptors, one of which is ALK (Anaplastic Lymphoma Kinase), a tyrosine kinase receptor with high specificity for the secreted form of HARP. In the present study it is examined the presence of HARP either as protein or as mRNA in prostate tissues. HARP, as a protein, was detected in the fibromuscular stroma in normal, bening hyperplastic and cancer tissues. In the case of prostate cancer, it was also localized to epithelial cells. On the contrary, by *in situ* hybridization, the presence of HARP mRNA was revealed only in the fibromuscular stroma in all the cases. We also examined by immunoblot the simultaneous presence of both ALK and HARP. ALK was detected in normal and also in pathologic tissues, while the complete molecule of HARP was detected only in normal tissues. In the case of cancer and hyperplastic tissues a peptide of 16,5 kDa was detected. In the above samples, including the normal ones, the presence of peptides with lesser molecular weight was identified. These peptides are probably hydrolysis products of HARP, although their origin and biological activity is under investigation.

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΤΟΠΟΓΕΝΕΣΗΣ ΔΙΑΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ ΜΕΤΑΦΟΡΕΩΝ ΠΟΥΡΙΝΩΝ ΣΤΟΝ *Aspergilus nidulans*

Πανταζοπούλου Α., Βλαντή Α., Κουκάκη Μ., Διαλλινάς Γ.

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Πανεπιστημιούπολη, 15781 Αθήνα. E-mail: diallina@biol.uoa.gr

Με την τοπογένεση, οι πρωτεΐνες στοχεύονται προς/αφαιρούνται από την τελική τους ενδοκυτταρική θέση. Οι πολυτοπικές διαμεμβρανικές πρωτεΐνες, έχουν πολύπλοκο μηχανισμό τοπογένεσης, με πρώτο βήμα τη συμμεταφραστική (μέσω τρανσλοκάσης) είσοδο στις μεμβράνες του ΕΔ. Προσπαθήσαμε να δημιουργήσουμε ένα εύχρηστο ευκαρυωτικό σύστημα ταυτοποίησης παραγόντων που ελέγχουν την τοπογένεση της οικογένειας διαμεμβρανικών μεταφορέων πουρινών-ασκορβικού, χρησιμοποιώντας το μεταφορέα ουρικού UapA του *A. nidulans*. Αναπτύξαμε σύστημα μικροσκοπικής παρατήρησης της κυτταρικής θέσης της UapA, στηριζόμενο στην πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη(GFP). Μετασχηματίσαμε στέλεχος uapAΔ με χιμαιρικό γονίδιο uapA-gfpA. Απομονώσαμε μετασχηματισμένα που αναπτύσσονται σε ουρικό, που δείχνει ότι η UapA-GFP λειτουργεί in vivo και είδαμε ότι τα μόρια UapA-GFP βρίσκονται σε πλασματική μεμβράνη και χυμοτόπια. Αναζητώντας τοπογενετικούς παράγοντες του UapA, απομονώσαμε μεταλλαγές απώλειας ικανότητας πρόσληψης ουρικού. Μια μεταλλαγή, η uapB, οδηγεί σε α)μειωμένη ανάπτυξη σε όλες τις πηγές αζώτου που εξετάστηκαν, β)μειωμένη πρόσληψη ξανθίνης, υποξανθίνης, προλίνης, στους 25^{0}C, γ)καθυστέρηση εκβλάστησης κονιδίων, ενδείξεις ότι το UapB ίσως επηρεάζει τοπογενετικά διάφορες πρωτεΐνες στον *A. nidulans*. Γίνονται προσπάθειες κλωνοποίησης του uapB-διερεύνησης του ρόλου του στην τοπογένεση της UapA-GFP. Εξετάζοντας συντηρημένο μοτίβο στο πρώτο διαμεμβρανικό(TMS1) της UapA, πιθανό cis-ρυθμιστικό στη «συνομιλία» UapA-τρανσλοκάσης-συνοδευτικών πρωτεϊνών, αντικαταστήσαμε το απόλυτα συντηρημένο Q126, που οδήγησε σε ποικιλία φαινοτύπων πρόσληψης ουρικού. Με το σύστημα UapA-GFP διερευνούμε αν οι μεταλλαγές επηρεάζουν τοπογενετικά ή καταλυτικά. Η πιθανότητα η υπερέκφραση του TMS1 να οδηγεί σε επικρατή αρνητικό φαινότυπο, συμβατό με αλληλεπίδραση με συνοδευτική πρωτεΐνη, μελετάται με στέλεχος που φέρει 40 αντίγραφα του TMS1 και αναπτύσσεται προβληματικά σε ουρικό στους 25^{0}C, παρ' όλο που διαθέτει ένα λειτουργικό αντίγραφο του uapA.

ON THE MECHANISMS OF PURINE TRANSPORTER TOPOGENESIS IN *Aspergilus nidulans*

Pantazopoulou A, Vlanti A, Koukaki M, Diallinas G.

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

Topogenesis, is the process by which proteins are targeted to, or removed from, their final intracellular location. Polytopic transmembrane proteins follow a complex topogenenetic mechanism, the first step of which is the co-translational insertion of the polypeptide, via the translocase complex, in the membrane of the ER. We tried to create an easily manipulated eukaryotic system for identifying the factors controlling the topogenesis of a ubiquitous family of transporters, exemplified by UapA, the uric acid transporter of *A.nidulans*. We developed a system, based on the Green Fluorescent Protein, to follow microscopically the cellular location of UapA. A chimeric *uapA-gfpA* gene was used to transform a *uapAΔ* strain. Transformants growing on uric acid were isolated showing that the UapA-GFP protein is functional *in vivo*. We observed that UapA-GFP molecules are localized at the plasma membrane and the vacuoles.

Searching for chaperones assisting the topogenesis of UapA, we isolated mutations compatible with the loss of uric acid uptake capacity,such as *uapB*, which results in: a)reduced growth, in most nitrogen sources tested, b)reduced uptake capacity at 25°C for xanthine, proline, hypoxanthine, c)delayed germination of conidia in minimal media, results indicating that UapB might affect the topogenesis of several *Aspergillus* proteins. Efforts are in progress for cloning the uapB and investigating whether UapA-GFP topogenesis is affected.

Investigating the role of a conserved motif in the first transmembrane segment (TMS1) of UapA, a possible *cis*-signal in the UapA-translocase interactions, we substituted the absolutely conserved Q126, which resulted in a variety of phenotypes concerning uric acid uptake. Using UapA-GFP we try to investigate whether these mutations affect UapA topogenetically or catalytically. Investigating the possibility that overexpression of TMS1 of UapA leads to a dominant negative phenotype, compatible with an interaction with a chaperone, we study a transformant carrying 40 copies of UapA-TMS1, that grows badly on uric acid at 25°C, although it has a functional *uapA* copy.

ΧΑΡΤΟΓΡΑΦΗΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΦΥΤΟΠΑΘΟΓΟ- ΝΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *Verticillium dahliae* ΜΕ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ ΠΑΛΛΟΜΕ-ΝΟΥ ΗΛΕΚΤΡΙΚΟΥ ΠΕΔΙΟΥ (PFGE) ΚΑΙ DNA ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΥΣ ΜΕ ΓΟΝΙΔΙΑ ΓΝΩΣΤΩΝ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΩΝ

Πάντου Μ.Π., Τύπας Μ.Α.

Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 15701, Αθήνα

Ο φυτοπαθογόνος μύκητας *Verticillium dahliae* παρουσιάζει παγκόσμια εξάπλωση, ενώ έχει εντοπισθεί να προσβάλλει πάνω από 300 είδη φυτών. Στα πλαίσια της γενετικής μελέτης του οργανισμού κρίθηκε απαραίτητη η χαρτογράφηση του γονιδιώματός του. Πρόκειται για ατελή υφομύκητα στον οποίο η ανταλλαγή γενετικού υλικού γίνεται μόνο μέσω του παραφυλετικού κύκλου (μιτωτικός ανασυνδυασμός). Για το λόγο αυτό επιδιώχθηκε η φυσική χαρτογράφηση του γονιδιώματός του με την τεχνική της ηλεκτροφόρησης παλλόμενου ηλεκτρικού πεδίου (PFGE). Η τελευταία εφαρμόζεται με ιδιαίτερη επιτυχία στους μύκητες καθώς τα χρωμοσώματά τους είναι συνήθως κατάλληλου μεγέθους ώστε να διαχωρίζονται ικανοποιητικά. Ο αριθμός των χρωμοσωμάτων επιβεβαιώθηκε βάσει του υβριδιστικού προτύπου που παρουσίασαν πέψεις ολικού απομονωμένου DNA του μύκητα, με ανιχνευτή ολιγομερές της συναινετικής ακολουθίας των τελομερών. Για τον εντοπισμό κωδικών περιοχών του γονιδιώματος που θα μπορούσαν να αποτελέσουν δείκτες των χρωμοσωμάτων χρησιμοποιήθηκαν δύο στρατηγικές: (α) τυχαία αλληλούχηση κλώνων μικρού μεγέθους μιας γονιδιακής τράπεζας του μύκητα και (β) σχεδιασμός εκκινητικών ολιγονουκλεοτιδίων βάσει κατατεθειμένων κωδικών αλληλουχιών συγγενικών μυκήτων. Έμφαση δόθηκε σε μεταβολικά και δομικά γονίδια που εμφανίζουν υψηλό βαθμό συντήρησης, αλλά και σε γονίδια που έχουν παρατηρηθεί σε άλλους μύκητες να εμπλέκονται στη διαδικασία φυτοπαθογένειας. Για την κατανομή των δεικτών (περίπου 50) πάνω στα διακριτά χρωμοσώματα έγιναν πειράματα υβριδισμού κατά Southern σε στυπώματα της ηλεκτροφόρησης παλλόμενου ηλεκτρικού πεδίου.

GENOME ANALYSIS OF THE PHYTOPATHOGENIC FUNGUS *Verticillium dahliae* BY PULSE FIELD GEL ELECTROPHORESIS (PFGE) AND SOUTHERN HYBRIDIZATION WITH KNOWN FUNCTIONAL GENES

Pantou M.P., Typas M.A.

Department of Genetics and Biotechnology, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistemiopolis, Athens 15701, Greece

The phytopathogenic fungus *Verticillium dahliae* has been found to infect more than 300 plant species and is globally distributed. It is an asexual mitosporic hyphomycete and the parasexual cycle constitutes the only way of genetic exchange between strains (mitotic recombination). In this genetic study a first mapping project of the organism's chromosomes has been attempted. The electrophoretic karyotype was produced by pulse field gel electrophoresis (PFGE). This technique has been applied successfully to fungi, as the suitable size of their chromosomes allows their distinct separation. The number of chromosomes of *V. dahliae* was further confirmed by hybridizing restricted total fungal DNA with an oligomeric consensus sequence of the telomeric region as probe. The identification of coding regions on the genome has been approached by two different strategies: (a) random sequencing of small size clones of a partial genomic library of the fungus, and (b) designing and using primers based on conserved domains of known coding genes of phylogenetically close fungi. Emphasis was placed on metabolic and structural genes known for their conserved character and on genes which associated/implicated with pathogenicity of other phytopathogenic fungi. The distribution of approx. 50 such genes on the chromosomes of the organism was detected by Southern hybridization of pulse field gel electrophoresis blots.

ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ BM88 ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ ΚΑΙ ΣΤΟ ΠΟΝΤΙΚΙ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΥΠΟΚΙΝΗΤΩΝ ΤΟΥΣ

Παπαδόδημα Ο., Σεργάκη Μ., Hurel C., Μαμαλάκη Α., Μάτσα Ρ.

Εργαστήριο Κυτταρικής και Μοριακής Νευροβιολογίας, Τμήμα Βιοχημείας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ

Ο χαρακτηρισμός του υποκινητή και των ρυθμιστικών στοιχείων γονιδίων, που συμμετέχουν στην νευρωνική διαφοροποίηση, είναι εξέχουσας σημασίας τόσο για την κατανόηση των αρχών που διέπουν την ρύθμισή τους, όσο και για την διαλεύκανση των μηχανισμών ανάπτυξης του νευρικού συστήματος. Η πρωτεΐνη BM88 είναι νευροειδικό μόριο με ευρεία κατανομή στο νευρικό σύστημα των θηλαστικών, που εμπλέκεται στην διαφοροποίηση και ωρίμανση των νευρικών κυττάρων. Το BM88 είναι ένας πρώιμος μάρτυρας της νευρωνικής κατεύθυνσης, καθώς εκφράζεται από τα πρόδρομα κύτταρα έως τους τελικά διαφοροποιημένους νευρώνες. Έχουμε αναφέρει πρόσφατα την απομόνωση του ανθρώπινου γονιδίου *BM88* και τον εντοπισμό του στο χρωμόσωμα 11, στην περιοχή 11p15.5. Η περιοχή αυτή είναι ιδιαίτερα μελετημένη εξαιτίας της συσχέτισής της με ανθρώπινες ασθένειες, συμπεριλαμβανομένου του όγκου του Wilm's και του συνδρόμου Beckwith-Wiedemann. Επιπλέον το BM88 βρίσκεται κοντά σε μια ομάδα γενετικά εντυπωμένων γονιδίων. Στην εργασία αυτή επικεντρωθήκαμε στον χαρακτηρισμό του γονιδίου στον άνθρωπο (*BM88*) και στο ποντίκι (*bm88*) και στην ανάλυση των υποκινητών τους. Η κωδική περιοχή και των δυο γονιδίων βρίσκεται σε ένα εξόνιο, ενώ και τα δυο έχουν ένα εσώνιο, που διακόπτει την 5' μη μεταφραζόμενη περιοχή. Οι υποκινητές τους βρίσκονται σε μια νησίδα CpG δινουκλεοτιδίων και χαρακτηρίζονται από έλλειψη TATA αλληλουχίας, στοιχείου έναρξης (Initiator element) και καθοδικού στοιχείου υποκινητή (Downstream promoter element). Αναζήτηση σε τράπεζες δεδομένων υπέδειξε πιθανές θέσεις πρόσδεσης διάφορων παραγόντων μεταγραφής, μεταξύ των οποίων και πολλαπλές θέσεις για την Sp1. Χρησιμοποιώντας το σύστημα αναφοράς της λουσιφεράσης, δοκιμάστηκαν αρκετά τμήματα DNA γύρω από τη θέση έναρξης της μεταγραφής για δραστικότητα υποκινητή. Ανάμεσά τους και τμήματα που περιέχουν αλληλουχίες του εσωνίου, καθώς και ένα που περιέχει όλο το εσώνιο. Η ικανότητά τους να προάγουν την μεταγραφή ελέγχθηκε με παροδική επιμόλυνση κυτταρικών σειρών, που εκφράζουν ή όχι το BM88. Το τμήμα με το εσώνιο ήταν αυτό που έδωσε τη μεγαλύτερη μεταγραφική δραστικότητα. Επιπλέον, με διαδοχικές απαλοιφές εντοπίστηκε μια ελάχιστη περιοχή, 143 βάσεων για το ανθρώπινο και 280 για το γονίδιο του ποντικού, ικανή και αναγκαία να επιφέρει ειδική μεταγραφική δραστικότητα σε νευρωνικές σειρές. Επιπρόσθετα, βρέθηκε ένα κατασταλτικό στοιχείο μέσα στο εσώνιο, το οποίο μειώνει την δράση του υποκινητή κατά τρεις φορές. Περαιτέρω ανάλυση αυτών των ρυθμιστικών στοιχείων είναι σε εξέλιξη, με σκοπό να αναγνωριστούν αλληλεπιδράσεις με μεταγραφικούς παράγοντες.

GENOMIC STRUCTURE OF HUMAN AND MOUSE BM88 GENES AND FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF THEIR PROMOTERS

Papadodima O., Sergaki M., Hurel C., Mamalaki A., Matsas R.

Laboratory of Cell and Molecular Neurobiology, Faculty of Biochemistry, Hellenic Institute "Pasteur"

Identification of promoter and enhancer elements that control expression of genes involved in neuronal differentiation is of paramount importance for understanding the principles underlying their regulation, as well as for clarifying the mechanisms of the developmental generation of the nervous system. BM88 is a neuron specific protein, widely expressed in the mammalian central nervous system, which is involved in neuron differentiation and maturation. BM88 protein is an early marker of the neuronal lineage, as it is expressed both in progenitor cells and in terminally differentiated neurons. We have previously reported the isolation of human *BM88* gene and its localization to the telomer of the short arm of chromosome 11, at the region 11p15.5. This region is heavily studied because of its association with human diseases, including Wilm's tumor and Beckwith-Wiedemann syndrome (BWS). Additionally, *BM88* is localized near a cluster of genomically imprinted genes. In this study we have focused on the characterization of human *BM88* and mouse *Bm88* genes and the analysis of their promoters. Their coding region is located in a single exon, while both have an intron sequence, which interrupts their 5' untranslated region (5'UTR). Both promoters have similar structures, as they lie in a CpG island and are characterized by the lack of TATA box, Initiator element (Inr) and Downstream Promoter Element (DPE). Computer analysis revealed potential binding sites for several transcription factors. In particular, there are multiple binding sites for Sp1. Several DNA fragments spanning the transcription start site have been tested for promoter activity, using a luciferase reporter system. Among them, there were fragments containing intronic sequences and one that encompassed the whole intron. Their ability to promote transcription was tested in transient transfection assays in BM88 expressing and non–expressing cell lines. The intron-containing fragment conferred the higher transcriptional activity. Furthermore, deletion analysis revealed a minimal promoter region, of 143bp for human and 280bp for mouse, which is sufficient and required to confer specific transcriptional activity in neuronal cell lines, while it remains at the basal level in non-neuronal cell lines. In addition, an intronic repressive element was found that causes 3-fold reduction in promoter activity. Further analysis of these elements is currently under way, in order to identify possible interactions with transcription factors.

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΜΕΙΩΤΩΝ ΤΗΣ ΙΟΝΤΙΚΗΣ ΙΣΧΥΟΣ ΣΤΗΝ ΕΝΑΛΑΤΩΣΗ ΚΑΙ ΕΞΑΛΑΤΩΣΗ

Παπανικολάου Ι., Πετράτος Κ.

Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας (IMBB) –Ίδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας (FORTH), Τ.Θ. 1527, 71110 Ηράκλειο Κρήτης

Μειωτές της ιοντικής ισχύος είναι γενικά οργανικές ενώσεις, οι οποίες ελαττώνουν την ιοντική ισχύ των μεικτών ηλεκτρολυτικών διαλυμάτων τους. Τα μόρια αυτά ευνοούν τη δημιουργία αλατικών συσσωματωμάτων, τα οποία απαρτίζονται από τουλάχιστον δύο ιόντα διαφορετικού τύπου. Η ιδέα αυτή βασίζεται στην θεωρεία περί ηλεκτρολυτικής διάστασης του Bjerrum. Η εισαγωγή της έννοιας των μειωτών της ιοντικής ισχύος ενοποιεί όλες τις πειραματικές διαδικασίες κρυστάλλωσης στα μεικτά ηλεκτρολυτικά διαλύματα και επιπλέον υποδιαιρεί τα φαινόμενα της κατακρήμνισης σε δύο κύριες περιοχές: την γενικευμένη περιοχή της εναλάτωσης και την γενικευμένη περιοχή της εξαλάτωσης. Σύμφωνα με τα παραπάνω, οι οργανικοί διαλύτες και η πολυαιθυλενο-γλυκόλη (PEG) εντείνουν την εναλάτωση, καθώς μειώνουν την συγκέντρωση των ελευθέρων ιόντων στο διάλυμα. Οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις κυριαρχούν στην περιοχή της γενικευμένης εναλάτωσης. Επιπλέον, οι μειωτές της ιοντικής ισχύος ελλατώνουν την εξαλάτωση. Οι πολικές και υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις κυριαρχούν στην περιοχή της γενικευμένης εξαλάτωσης. Οι μειωτές της ιοντικής ισχύος έχουν σημαντικές εφαρμογές τόσο στην χρωματογραφία, όσο και στην κατά-κρήμνιση και σαν συνέπεια στην κρυστάλλωση.

THE ROLE OF THE IONIC STRENGTH REDUCING AGENTS IN SALTING-IN AND SALTING-OUT

Papanikolau Y., Petratos K.

Institute of Molecular Biology and Biotechnology (IMBB) – Foundation for Research and Technology-Hellas (FORTH), PO Box 1527, GR-71110 Heraklion, Crete

Ionic strength reducing agents are in general organic compounds that reduce the ionic strength of aqueous salt solutions. These compounds favour the formation of salt clusters, with at least 2 types of ions per cluster. This idea is based on the Bjerrum electrolytic dissociation theory. The idea of the ionic strength reducing agents unifies all crystallization experiments in aqueous solutions and, at the same time subdivides the precipitation events into two main areas: the generalized salting-in and salting-out area. According to this, organic solvents and polyethylene glycol (PEG) induce salting-in effects, as they decrease the concentration of free ions in the solution. Ionic interactions dominate in the salting-in area. Apart from that, ionic strength reducing agents lessen salting-out effects. Polar as well as hydrophobic interactions dominate in the salting-out area.
Ionic strength reducing agents have important applications in chromatography, precipitation and thus crystallization itself.

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ ΕΝΟΣ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΠΟΥ ΕΝ ΔΥΝΑΜΕΙ ΕΜΠΛΕΚΕΤΑΙ ΣΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΗΣ ΧΟΡΙΟΓΕΝΕΣΗΣ ΤΟΥ ΜΕΤΑΞΟΣΚΩΛΗΚΑ *Bombyx mori*

Παπαντώνης Α., Λεκανίδου Ρ.

Τομέας Βιοχημείας και Μορ. Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Αθήνα 15701

Η ενεργοποίηση των γονιδίων του χορίου στο μεταξοσκώληκα ακολουθεί ένα αυστηρά καθορισμένο χρονικό πρότυπο. Η μελέτη του συστήματος αποσκοπεί στη διαλεύκανση του μηχανισμού ρύθμισης της διαφορικής έκφρασης των εν λόγω γονιδίων. Έως τη στιγμή αυτή έχουν συσχετιστεί δύο μεταγραφικοί παράγοντες με την ενεργοποίηση της έκφρασης των πρώιμων και όψιμων γονιδίων της χοριογένεσης. Στην εργασία αυτή μελετήθηκαν *in silico* δύο υποκινητές ενδιαμέσων γονιδίων. Τα γονίδια αυτά ομαδοποιούνται στα A/BL11 και A/BL12-τύπου γονίδια. Η κάθε ομάδα γονιδίων εμφανίζει σχεδόν πανομοιότυπο χρονικό πρότυπο έκφρασης, καθώς και μεγάλη ομοιότητα στην αρχιτεκτονική των υποκινητών, μεταξύ των αντιπροσώπων της. Ανάλυση των υποκινητών πλήρους μήκους L1 και L9 (L11 και L12-τύπου αντίστοιχα) με τη βοήθεια της βάσης δεδομένων TRANSFAC v 6.0 αποκάλυψε πιθανές θέσεις αναγνώρισης για πρωτεΐνες της οικογένειας High Mobility Group (HMG). Η συγκεκριμένη αλληλουχία εντοπίζεται και στους δύο υποκινητές, ενώ παλαιότερα βιβλιογραφικά δεδομένα υποστηρίζουν πως είναι δυνατή η *in vitro* δέσμευση πρωτεϊνών της εν λόγω οικογένειας στους υποκινητές των ενδιαμέσων γονιδίων της χοριογένεσης. Με βάσει τα στοιχεία αυτά σχεδιάστηκαν ολιγονουκλεοτίδια προκειμένου να χρησιμοποιηθούν ως εκκινητές σε αντιδράσεις PCR, σε cDNA βιβλιοθήκη πρώιμων ωοθυλακίων. Οι εκκινητές σχεδιάστηκαν με βάση τα συντηρητικά επαναλαμβανόμενα μοτίβα των HMG πρωτεϊνών μεταξύ διαφορετικών οργανισμών. Στη συνέχεια απομονώθηκε ο πλήρους μήκους cDNA κλώνος του παράγοντα και αναλύθηκε η νουκλεοτιδική πρωτοδιάταξή του. Εντοπίστηκε ένα ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης που αντιστοιχεί σε αμινοξική αλληλουχία 114 καταλοίπων, η οποία εμφανίζει υψηλή ομολογία με HMG I(Y) πρωτεΐνες άλλων οργανισμών.

ISOLATION AND MOLECULAR CLONING OF A PROTEIN FACTOR POTENTIALLY INVOLVED IN THE ACTIVATION OF THE SILKMOTH *Bombyx mori* CHORION GENES

Papantonis A., Lecanidou R.

Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 15701

The activation of chorion genes follows a temporal-specific pattern. Studying of such a system aims at clarifying the mechanism by which the expression of these genes is regulated. So far two different protein factors have been implicated with the activation of early and late chorion genes. In this study we analysed *in silico* two middle genes' promoters. These genes are grouped into the A/BL11 and A/BL12-type genes. Members of each group are characterized by an almost identical expression pattern, as well as similar promoter architecture. Analysis of the L1 and L9 (L11 and L12-type respectively) full length promoters using the TRANSFAC v 6.0 database, revealed potential binding sites for protein members of the HMG family. This consensus is present in both promoters, in agreement with older data, which implicate *in vitro* binding of such proteins to middle chorion gene promoters. Based on the above, we designed oligos for PCR reactions, using a cDNA library of early follicular cells. The oligos were designed according to the conserved repeated motifs of the HMG proteins, amongst diverse organisms. A full-length cDNA clone was isolated and sequenced. An open reading frame of 114 aminoacid residues was identified, which exhibits homology to HMG I(Y) proteins of other organisms.

ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΚΟΛΟΥ-ΘΙΑ ΤΟΥΣ ΚΑΙ ΜΟΝΟ ΣΕ ΚΑΛΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΕΝΕΣ ΟΙΚΟΓΕ-ΝΕΙΕΣ GPCRs, ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ "ΑΠΟΤΥΠΩΜΑΤΩΝ" ΠΡΟΕΡΧΟ-ΜΕΝΩΝ ΑΠΟ PROFILE HIDDEN MARKOV MODELS

Παπασάικας Π.Κ., Μπάγκος Π.Γ., Λίτου Ζ.Ι., Χαμόδρακας Σ.Ι.

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 01

Οι συζευγμένοι με G-πρωτεΐνες υποδοχείς (GPCRs) συνιστούν μια ευρεία τάξη υποδοχέων κυτταρικής επιφάνειας, η οποία περιλαμβάνει αρκετές λειτουργικά διακριτές οικογένειες, με κεντρικό ρόλο στην κυτταρική μεταγωγή σήματος και τη ρύθμιση βασικών φυσιολογικών διαδικασιών. Οι GPCRs αποτελούν το επίκεντρο σημαντικής μερίδας της σύγχρονης φαρμακευτικής έρευνας, καθώς αλληλεπιδρούν με πάνω από 50% των συνταγογραφούμενων φαρμάκων, ενώ αποτελούν τους καλύτερους υποψήφιους στόχους στο σχεδιασμό φαρμάκων. Δεδομένης της τεράστιας ποσότητας πληροφορίας που προκύπτει από τα προγράμματα προσδιορισμού αλληλουχίας γονιδιωμάτων, κρίνεται απαραίτητη η χρήση υπολογιστικών εργαλείων για τον αυτοματοποιημένο χαρακτηρισμό νέων GPCRs. Κοινές υπολογιστικές στρατηγικές για την ταυτοποίηση και την κατάταξη GPCRs περιλαμβάνουν αναζητήσεις βασισμένες σε ομοιότητα ακολουθίας (π.χ BLAST) καθώς και αναλύσεις σε βάσεις δεδομένων αμινοξικών μοτίβων (π.χ PROSITE, BLOCKS, Pfam, PRINTS). Η διαγνωστική μέθοδος που παρουσιάζεται εδώ στηρίζεται σε μια πιθανοθεωρητική προσέγγιση που χρησιμοποιεί profile Hidden Markov Models υψηλής διακριτικότητας, προερχόμενα από περιοχές χαμηλής εντροπίας πολλαπλών στοιχίσεων, για την εξαγωγή χαρακτηριστικών για κάθε οικογένεια "αποτυπωμάτων". Για μία δεδομένη αναζήτηση η ακολουθία αποδίδεται στην πλησιέστερη οικογένεια σύμφωνα με τις συνδυασμένες, για όλα τα κοινά αποτελέσματα, αναμενόμενες τιμές (E-values). Έτσι, η μέθοδος αυτή επιτρέπει την κατάταξη GPCRs σε επίπεδο οικογένειας χρησιμοποιώντας για την πρόβλεψη, πληροφορία αποκλειστικά από την πρωτοταγή δομή. Μία δικτυακή έκδοση της εφαρμογής θα είναι σύντομα διαθέσιμη απο το διακομιστή του εργαστηρίου μας.

PROTEIN PREDICTION AND CLASSIFICATION FROM SEQUENCE ALONE INTO WELL-CHARACTERISED GPCR FAMILIES, USING FINGREPRINTS DERIVED FROM PROFILE HIDDEN MARKOV MODELS

Papasaikas P.K., Bagos P.G., Litou Z.I., Hamodrakas S.J.

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 157 01

G-protein coupled receptors (GPCRs) constitute a broad class of cell-surface receptors, including several functionally distinct families, that play a key role in cellular signaling and regulation of many basic physiological processes. GPCRs are the focus of a significant amount of current pharmaceutical research since they interact with more than 50% of prescription drugs, whereas they still comprise the best potential targets for drug design. Taking into account the enormous amount of data derived by genome sequencing projects, the use of computational tools for automated characterisation of novel GPCRs is considered essential. Typical computational strategies for identifying and classifying GPCRs involve sequence similarity searches (e.g. BLAST) coupled with pattern databases analysis (e.g. PROSITE, BLOCKS, Pfam and PRINTS). The diagnostic method presented here is based on a probabilistic approach that exploits highly discriminative profile Hidden Markov Models, excised from low entropy regions of multiple sequence alignments, to derive potent family fingerprints. For a given query, a best-guess family membership is depicted according to combined, for all common hits, expectation E-values. Hence, this method allows classification of GPCRs at a family level, solely using primary structure information for prediction. A web-based version of this application will soon be available from our laboratory server.

ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΥΧΑΙΩΝ ΣΥΧΝΟΤΗΤΩΝ ΜΙΚΡΟΠΥΡΗ-ΝΩΝ ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΣΕ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΥ ΤΗΣ ΠΑΡΕΙΑΣ

Παππά Α., Παπαδέλης Ε., Στεφάνου Γ., Δημόπουλος Ν.

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών

Οι μικροπυρήνες αποτελούν πυρηνικό υλικό που δεν έχει ενσωματωθεί στον κυρίως πυρήνα του κυττάρου και συνίστανται είτε από άκεντρα χρωμοσωματικά τμήματα είτε από άθικτα χρωμοσώματα. Η μέθοδος ανάλυσης των μικροπυρήνων με αναστολή της κυτταροκίνησης (CBMN), σε καλλιέργειες ανθρώπινων λεμφοκυττάρων χρησιμοποιείται ευρέως για την ανίχνευση χρωμοσωματικών ρηγμάτων και χρωμοσωματικής απώλειας σε in vitro και in vivo μελέτες. Μια άλλη μέθοδος μελέτης των ίδιων φαινομένων, in vivo, αποτελεί η ανάλυση των συχνοτήτων των μικροπυρήνων σε επιθηλιακά κύτταρα της παρειάς του ανθρώπου (Buccal Cells). Στην παρούσα εργασία γίνεται σύγκριση των τυχαίων συχνοτήτων μικροπυρήνων στα δύο διαφορετικά βιολογικά συστήματα. Προκειμένου να εξεταστεί αν οι συχνότητες εμφάνισης των μικροπυρήνων στα αναλυόμενα κύτταρα εξαρτώνται από την ηλικία, οι δότες διακρίθηκαν σε δύο ομάδες με κριτήριο την ηλικία τους, νεαρά (≤ 25 ετών) και ηλικιωμένα (≥45 ετών) άτομα. Για την ανάλυση των μικροπυρήνων των λεμφοκυττάρων χρησιμοποιήθηκαν δύο μέθοδοι χρώσης α) με Giemsa και β) με τα φθοροχρώματα DAPI-PI. Για την ανάλυση των μικροπυρήνων των επιθηλιακών κυττάρων του εσωτερικού της παρειάς χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος χρώσης Feulgen-Fast Green. Τα συμπεράσματα μας συνοψίζονται ως εξής: Οι τυχαίες συχνότητες των μικροπυρήνων φαίνεται να σχετίζονται με τον ιστό που μελετάται. Στα λεμφοκύτταρα του περιφερικού αίματος είναι στατιστικά υψηλότερες από τις αντίστοιχες στα επιθηλιακά κύτταρα του εσωτερικού της παρειάς. Η ηλικία είναι ένας παράγοντας που επηρεάζει αυξητικά την τυχαία επαγωγή των μικροπυρήνων στα λεμφοκύτταρα του περιφερικού αίματος, όχι όμως στα επιθηλιακά κύτταρα του εσωτερικού της παρειάς. Τέλος, οι συχνότητες μικροπυρήνων που προσδιορίστηκαν με τις δύο μεθόδους χρώσης στα λεμφοκύτταρα δεν διέφεραν στατιστικά υποδηλώνοντας, ότι οι δύο αυτές μέθοδοι είναι εξίσου αξιόπιστες.

COMPARATIVE STUDY OF SPONTANEOUS MICRONU-CLEOUS FREQUENCIES IN HUMAN PERIPHERAL LYMPHOCYTES AND BUCCAL CELLS

Pappa A., Papadelis E., Stephanou G., Demopoulos N.

Department of Biology, University of Patras

Micronuclei consist of nuclear material and originate from either acentric chromosome fragments or whole chromosomes that failed to be included in the daughter nuclei following DNA replication and nuclear division. The Cytokinesis Block Micronucleus Assay (**CBMN**) in human lymphocyte cultures, in combination with FISH, is widely used for the detection of chromosome breakage and chromosome loss in both *in vivo* and *in vitro* conditions. Micronucleus frequencies are also analyzed, *in vivo*, in human epithelial cells exfoliated from the inside of the cheek, known as "**buccal cells**". In the present study, a comparison has been attempted between the spontaneous micronucleus frequencies in the two biological systems. In order to examine whether the spontaneously induced micronuclei depend on age, the donors were separated in two groups according to their age, young donors (≤25 years old) and older donors (≥45 years old). Two staining methods were used in the lymphocyte analysis a) the **Geimsa** stain and b) the fluorochromes **DAPI-PI**. The **Feulgen-Fast Green** method was chosen for the analysis of micronucleus frequencies in the buccal cell study. The results we came up with are as follow: The micronucleus frequencies seem to depend on the studied tissue. Micronucleus frequencies in human peripheral blood lymphocytes are statistically higher than the micronucleus frequencies in buccal cells. Age is a factor that increases the spontaneous frequencies of micronuclei in lymphocytes, while this is not true for the buccal epithelial cells. The two staining methods concerning the peripheral lymphocytes proved to be equally reliable, as the identified micronucleus frequencies were similar.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΗΣ CAVEOLIN-1 ΣΤΗΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΕΣΕΝΙΛΙΝΗΣ-1 ΜΕ ΤΗΝ N-CADHERIN

Παρισιάδου Λ., Μιχάκη Β., Ευθυμιόπουλος Σ.

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Η caveolin-1 είναι μια μεμβρανική πρωτεΐνη, 21-24kDa, της οικογένειας των caveolins (περιλαμβάνει τις caveolin-1, caveolin-2 και caveolin-3). Είναι το βασικό συστατικό των caveolae, τα οποία είναι μικρές προεκβολές της πλασματικής μεμβράνης, πλούσιες σε χοληστερόλη, σφιγγολιπίδια και μόρια-σηματοδότες, όπως υποδοχείς κινάσες τυροσίνης, GPCRs και ετεροτριμερείς G-πρωτεΐνες. Η caveolin-1 λειτουργεί ως δομική πρωτεΐνη, οργανώνοντας τα λιπίδια και τις πρωτεΐνες που εντοπίζονται στα caveolae και εμπλέκεται στη μεταφορά λιπιδίων, τη μετακίνηση μεμβρανών και σε μονοπάτια μεταγωγής σήματος. Έχει δειχθεί πως η πρεσενιλίνη-1, μια πρωτεΐνη που σχετίζεται με την ανάπτυξη της οικογενούς νόσου Alzheimer και κύριος παράγοντας του συμπλόκου της γ-σεκρετάσης, συγκεντρώνεται στα σημεία επαφής των κυττάρων και σχηματίζει σύμπλοκα με τις E-cadherin, N-cadherin, α-, β- και γ-catenin, όλες συστατικά των συνδέσμων κυτταρικής προσκόλλησης. Άλλες μελέτες προτείνουν πως η E-cadherin και η PS1 συγκεντρώνονται στα caveolae, όπου συνεντοπίζονται με τη caveolin-1. Τα ερευνητικά μας ενδιαφέροντα αφορούν στο αν η N-cadherin αλληλεπιδρά με τη caveolin-1 και την επίδραση της τελευταίας στο σύμπλοκο PS1/N-cadherin. Φαίνεται, επίσης, πως δείγματα που προέρχονται από ανοσοκατακρήμνιση της caveolin-1, σε δύο διαφορετικές κυτταρικές σειρές, περιέχουν N-cadherin. Η υπερέκφραση της caveolin-1 στη κυτταρική σειρά SH-SY5Y ενισχύει την αλληλεπίδραση της PS1 με την N-cadherin. Επιπλέον, η παρουσία της caveolin-1 επάγει το σχηματισμό συμπλόκου μεταξύ της PS1 με το CTF1 της N-cadherin, το οποίο απουσιάζει από κύτταρα που δεν την εκφράζουν ενδογενώς. Οι συγκεκριμένες μελέτες παρέχουν ενδείξεις πως η caveolin-1 εμπλέκεται έμμεσα ή άμεσα στις συνδέσεις κυτταρικής προσκόλλησης με τη διαμεσολάβηση καδερινών.

Αυτή η εργασία χρηματοδοτήθηκε από την American Health Assistance Foundation, την Ευρωπαϊκή κοινότητα (Ερευνητικό πρόγραμμα DIADEM), και το Πανεπιστήμιο Αθηνών (Ερευνητικό πρόγραμμα Καποδίστριας).

THE EFFECT OF THE EXPRESSION OF CAVEOLIN-1 ON THE INTERACTION OF PRESENILIN-1 WITH N-CADHERIN

Parisiadou L., Michaki V., Efthimiopoulos S.

Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens

Caveolin-1 is an integral membrane protein, 21-24kDa, of the caveolin family of proteins (including caveolin-1, caveolin-2 and caveolin-3). It is a principal component of caveolae, which are small, flask – shaped invaginations of the plasma membrane, rich in cholesterol, sphingolipids and signaling molecules, such as receptor tyrosine kinases, GPCRs and heterotrimeric G-proteins. Caveolin-1 functions as a scaffolding protein by organizing the lipids and the proteins that reside in caveolae and is implicated in lipid transport, membrane traffic and signal transduction pathways. It has previously been shown that presenilin-1, a protein involved in the development of familial Alzheimer disease and also the main component of the gamma–secretase complex, accumulates at intercellular contacts and forms complexes with E-cadherin, N-cadherin, α-, β- and γ-catenin, all constituents of adherens junctions. Other studies propose that both E-cadherin and PS1 are concentrated in caveolae membranes, where they co-localize with caveolin-1. Our research interests have focused on whether N-cadherin interacts with caveolin-1 and the latters potential effect on the presenilin/N-cadherin interaction. We show that caveolin-1 immunoprecipitants of two different cell-lines, contain N-cadherin. Furthermore, we demonstrate that caveolin-1 overexpression in SH-SY5Y cell-line enhances the interaction of presenilin with N-cadherin. Additionally, the presence of caveolin-1 induces the formation of PS1/ N-cadherin CTF1 complex, which is not present in caveolin deficient cells. Thus, there is evidence that caveolin-1 is either directly or indirectly involved in the cadherin-based adherens junctions.

This work was funded by the American Health Assistance Foundation, European Union (DIADEM Research Project), and the University of Athens (Kapodistrias Research grant).

ΛΟΓΙΣΜΙΚΟ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΔΙΑΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ ΤΜΗΜΑΤΩΝ ΣΕ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ, ΒΑΣΙΣΜΕΝΟ ΣΕ ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΦΑΙΡΕΣΗΣ ΘΟΡΥΒΟΥ ΑΠΟ ΠΡΟΦΙΛ ΥΔΡΟ-ΦΟΒΙΚΟΤΗΤΑΣ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ WAVELETS, ΔΙΑΘΕΣΙΜΟ ΣΤΟ INTERNET

Πάσχου Ε.Ε., Λίτου Ζ.Ι., Λιακόπουλος Θ.Δ., Χαμόδρακας Σ.Ι.

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 01

Η δομή περιορισμένου μόνο αριθμού μεμβρανικών πρωτεϊνών έχει προσδιορισθεί κρυσταλλογραφικά, λόγω της δυσκολίας ανάπτυξης κρυστάλλων διαμεμβρανικών πρωτεϊνών. Για το χαρακτηρισμό των υπολοίπων υπάρχει η δυνατότητα χρήσης αυτοματοποιημένων μεθόδων πρόγνωσης διαμεμβρανικών τμημάτων. Τα wavelets έχουν αναχθεί σε δημοφιλές εργαλείο ανάλυσης σημάτων με εφαρμογές σε διάφορα επιστημονικά πεδία και πρόσφατα επιστρατεύθηκαν σε μελέτες βιολογικών δεδομένων. Τα καινοτόμα χαρακτηριστικά της ανάλυσης με wavelets αφορούν στην ανίχνευση τοπικών στοιχείων του σήματος και στην κατάδειξη της θέσης τους. Ένα 'συρόμενο' παράθυρο 20 καταλοίπων χρησιμοποιήθηκε για να υπολογιστεί μέση τιμή υδροφοβικότητας μιας αλληλουχίας, με τη βοήθεια κλίμακας που έχει υπολογιστεί από το εργαστήριο μας. Όταν μελετάται ένα σήμα υδροφοβικότητας, οι κορυφές του, που υποδεικνύουν διαμεμβρανικά τμήματα, αποτελούν τοπικά στοιχεία και ο εντοπισμός τους κατά μήκος της ακολουθίας αποκαλύπτει τη θέση τους. Οι συνιστώσες διαφορετικών συχνοτήτων, που προκύπτουν από το σήμα της μέσης 'υδροφοβικότητας', περιορίζονται σε καθορισμένο για αυτές εύρος τιμών. Ένας αλγόριθμος δυναμικού προγραμματισμού επεξεργάζεται το απαλλαγμένο από θόρυβο σήμα, όταν επανασυγκροτηθεί από τις τροποποιημένες συνιστώσες, επιλέγοντας το βέλτιστο μοντέλο αριθμού, μήκους και θέσης των διαμεμβρανικών τμημάτων. Εφαρμογή του αλγορίθμου σε ένα σύνολο μη ομόλογων πρωτεϊνών, προβλέπει ορθά ~90% των καταλοίπων και ~95% των διαμεμβρανικών τμημάτων. Το πλήρες λογισμικό, waveTM είναι διαθέσιμο προς χρήση στον ιστότοπο http://bioinformatics.biol.uoa.gr/waveTM. Τα αποτελέσματα του προγράμματος περιλαμβάνουν ένα διάγραμμα του απαλλαγμένου από θόρυβο σήματος 'υδροφοβικότητας', έναν πίνακα των προβλεφθέντων διαμεμβρανικών τμημάτων της μεμβρανικής πρωτεΐνης και παρέχεται επίσης η δυνατότητα πρόβλεψης της τοπολογίας, με χρήση του αλγορίθμου OrienTM.

A WEB SERVER TO LOCATE TRANSMEMBRANE SEGMENTS IN PROTEIN SEQUENCES BASED ON WAVELET DENOISING ANALYSIS OF HYDROPHOBICITY PROFILES

Pashou E.E., Litou Z.I., Liakopoulos. Th.D., Hamodrakas S.J.

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 157 01

A limited number of membrane protein crystal structures are presently available due to difficulties in growing protein crystals. Automatic prediction of transmembrane segments is an alternative for the preliminary characterization of the remaining membrane proteins. Wavelets have become a popular signal analysis tool applied in various scientific fields and recently implemented in several studies of biological sequence data. The novel feature of wavelet analysis is its ability to extract singularities and elucidate temporal information from a signal. In this work, a 'sliding' window of 20 residues was used in order to calculate an average residue hydrophobicity profile for a sequence, using a 'hydrophobicity' scale obtained from studies in our lab. In this 'hydrophobicity' signal, peaks are indicative of membrane spanning segments and temporal information refers to their location in the sequence. The different frequency coefficients of the average 'hydrophobicity' signal are adaptively thresholded and a denoised signal is reconstructed. A dynamic programming algorithm processes the denoised signal to provide the optimal model for the number, the length and the location of membrane-spanning segments. Analysis of a non-redundant test set, provides a ~95% per segment accuracy and ~90% per residue accuracy. The algorithm is called waveTM, runs at http://bioinformatics.biol.uoa.gr/waveTM and is freely available through the Internet. Users can obtain a plot of the denoised 'hydrophobicity' signal as a postscript file, a table of the location and lengths of predicted transmembrane segments and optionally a prediction of the topology of the membrane protein employing the OrienTM algorithm.

Η ΚΡΥΣΤΑΛΛΙΚΗ ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ ΤΗΣ ΛΕΚΤΙΝΗΣ ΚΟΝΚΑΝΑΒΑΛΙΝΗΣ Α ΜΕ ΤΟ ΣΑΚΧΑΡΟ 2,2,6,6-ΤΕΤΡΑ-ΜΕΘΥΛΟ-ΠΙΠΕΡΙΔΙΝΗ-1-ΟΞΥΛ-4-Α-D-ΓΛΥΚΟΠΥΡΑΝΟΖΙΤΗ

Παύλου Κ.Σ., Χαμόδρακας Σ.Ι.

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 01

Η κονκαναβαλίνη Α (Con A), μεταλλοπρωτεΐνη των φασολιών, είναι χαρακτηριστικός αντιπρόσωπος των φυτικών λεκτινών με σημαντικές βιολογικές ιδιότητες που προκύπτουν από την ικανότητά της να δεσμεύει σάκχαρα. Ο τρόπος με τον οποίο η Con A αλληλεπιδρά με τα σάκχαρα παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, καθώς η βιολογική της δράση φαίνεται να στηρίζεται στη δέσμευσή της στις κυτταρικές επιφάνειες μέσω γλυκοπρωτεϊνών ή πολυσακχαριτών. Ο ακριβής βιολογικός της ρόλος παραμένει άγνωστος. Η Con A δεσμεύει παράγωγα D-γλυκόζης, D-μαννόζης και D-φρουκτόζης, αλλά όχι και παράγωγα D-γαλακτόζης, παρουσιάζοντας έτσι εξειδίκευση στις διάφορες κατηγορίες σακχάρων.

Το σύμπλοκο της ConA με το σάκχαρο 2,2,6,6-Τετραμεθυλο-πιπεριδίνη-1-Οξυλ-4-α-Γλυκοπυρανοζίτη (TEMPO-G) κρυσταλλώθηκε σε ομάδα συμμετρίας χώρου $P2_1$ με παραμέτρους στοιχειώδους κυψελίδας a=81.44 Å, b=129.14 Å, c=81.86 Å, α=90˚, β=117.84˚, γ=90˚, και δεδομένα εντάσεων περίθλασης ακτίνων-Χ συλλέχθηκαν σε διακριτικότητα 2.3 Å. Η δομή του συμπλόκου λύθηκε με τη μέθοδο της μοριακής αντικατάστασης και βελτιώθηκε με μεθόδους προσομοιωμένης επαναδιάταξης (simulated annealing) σε κρυσταλλογραφικό δείκτη αξιοπιστίας R=0.18 (R_f=0.25). Στη δομή, η ασύμμετρη μονάδα περιέχει τέσσερα μόρια διευθετημένα ως τετραμερές. Κοντά στην επιφάνεια κάθε μονομερούς, στην θέση δέσμευσης σακχάρων είναι δεσμευμένο ένα μόριο σακχαρίτη, ενώ το μη σακχαρικό (άγλυκο) τμήμα του μορίου βοηθάει στον ακριβή προσανατολισμό του σακχαρίτη στο σημείο δέσμευσης αλλά επίσης συμμετέχει σε αλληλεπιδράσεις μεταξύ τετραμερών επηρεάζοντας το πακεττάρισμά τους.

THE CRYSTAL STRUCTURE OF THE COMPLEX OF CONCANAVALIN A WITH 2,2,6,6-TETRAMETHYLPIPERIDINE-1-OXYL-4-A-D-GLYCOPYRANOSIDE

Pavlou K.S., Hamodrakas S.J.

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 157 01

Concanavalin A (ConA) is a legume metalloprotein and a characteristic representative of plant lectins with important biological properties due to its specific saccharide binding ability. Details of its interaction with saccharides are of major interest, because it is assumed that they assist its cell-adhesive role, through binding to cell surface anchored glycoproteins or polysaccharides. The way ConA interacts with saccharides is of major interest, because of its ability to bind to cell surfaces through glycoproteins or polysaccharides. Con A binds to D-glucose, D-mannose and D-fructose derivatives, but not to D-galactose ones, suggesting specificity to different sugar groups.

The complex of Con A with 2,2,6,6-Tetramethylpiperidine-1-Oxyl-4-a-D-Glycopyranoside has been crystallized in space group $P2_1$, with cell parameters a=81.44 Å, b=129.14 Å, c=81.86 Å, α=90˚, β=117.84˚, γ=90˚. X-ray diffraction intensities to 2.2 Å resolution have been collected and the structure of the complex was solved by molecular replacement and refined by simulated annealing methods to a crystallographic R-factor value of 0.18 and free R-factor of 0.25. In the structure, the unit cell contains four molecules per asymmetric unit, arranged as a tetramer. A saccharide molecule is bound in the sugar-binding site near the surface of the molecule per monomer. Apparently, the saccharide adopts a different conformation in each monomer. The non-sugar (aglycon) portion of the compound used, helps identifying the exact orientation of the saccharide in the sugar-binding pocket, and is involved in major crystal packing contacts.

ΚΥΤΟΚΙΝΕΣ ΣΤΟΝ ΙΣΧΑΙΜΙΚΟ ΕΓΚΕΦΑΛΟ, ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ

Περούλης Ν., [1]Κουρουνάκη Α., Αβραμίδης Ν., Γιάγκου Μ., Χατζηπέτρου Λ., [2]Παραμυθιώτης Δ., [2]Κοτζάμπαση Κ.

Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή θετικών Επιστημών. [1]Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας, Τμήμα Φαρμακευτικής. [2]Τομέας Χειρουργικής, Τμήμα Ιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Σκοπός της συγκεκριμένης έρευνας είναι η συσχέτιση μή στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων (ΜΣΑΦς, NSAIDs) – η αντιφλεγμονώδης και υπολιπιδαιμική δράση των οποίων ενδέχεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην διαδικασία της αθηρωμάτωσης – με την ελάττωση των συνεπειιών της ισχαιμίας. Πολλές μελέτες δείχνουν ότι η αγωγή με NSAIDs ελαττώνει την βλάβη του εγκεφάλου μετά απο ισχαιμία, η οποία μπορεί να προέρχεται απο στένωση των αγγείων λόγω αθηρωματικών πλακών.

Εξετάσαμε την ύπαρξη των ενζύμων COX-1 και COX-2, των κυτοκινών IL-1, IL-6, IL-10, IL-18, TNF-A καθώς και της IFN- γ σε τομές εγκεφάλου αρουραίων με ή χωρίς αγωγή με αντιφλεγμονώδες φάρμακο (παράγωγο της Δικλοφαινάκης) μετά απο ισχαιμία 45 λεπτών. Τα ένζυμα COX-1 και COX-2 μετατρέπουν το αραχιδονικό οξύ σε προιόντα φλεγμονής όπως οι προσταγλανδίνες. Οι κυτοκίνες TNF-α, IL-1, IL-6 και IFN- γ καλούνται προφλεγμονώδεις κυτοκίνες ενώ η IL-10 δρά ανταγωνιστικά προς αυτές και κυρίως προς την IFN- γ. Τα κύτταρα που παράγουν αυτές τις κυτοκίνες είτε εδρεύουν στον εγκέφαλο όπως τα μακροφάγα της γλοίας είτε προσέρχονται στον ισχαιμικό εγκέφαλο. Τα πειραματόζωα θυσιάστηκαν 1, 3 και 5 ημέρες μετά την ισχαιμία. Με κατάλληλα αντισώματα για κάθε κυτοκίνη προσδιορίστηκαν ανοσοκυτταροχημικά τα κύτταρα που την παράγουν.

Τα αποτελέσματα έδειξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα όλων των κυτοκινών και ενζύμων στους εγκεφάλους των ισχαιμικών αρουραίων και μάλιστα σε συγκεκριμένες περιοχές του εγκεφάλου (κυρίως ιππόκαμπο, υποθάλαμο και παρεγκεφαλίδα) σε αντίθεση με τους εγκαφάλους των φυσιολογικών ζώων , όπου οι κυτοκίνες και τα ένζυμα είτε δεν είναι ανιχνεύσιμα είτε ανιχνεύονται σε πολύ μικρά ποσά. Επίσης, σημαντικά ποσοστά μείωσης των κυτοκινών IFN- γ, TNF-α, IL-6, IL-18 βρέθηκαν στους εγκεφάλους των πειραματόζωων στα οποία έγινε αγωγή με φάρμακο σε σχέση με τα ισχαιμικά στα οποία δέν έγινε αγωγή κατά το χρονικό διάστημα των 3 ημερών μετά την επαγωγή της ισχαιμίας, ενώ τα επίπεδα της IL-10 εμφανίστηκαν ελαφρώς αυξημένα.

CYTOKINES IN THE ISCHEMIC BRAIN, INFLUENCE OF ANTI-INFLAMMATORY DRUGS

Peroulis N., [1]Kourounakis A., Avramidis N., Yiangou M., Hadjipetrou L., [2]Paramithiotis D., [2]Kotzampasi K.

Dept. of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Faculty of Sciences. [1]Department of Pharmakeutical Chemistry, School of Pharmacy. [2]Department of Surgery, School of Medicine, Aristotlean University of Thessaloniki, Thessaloniki 54124, GREECE

Aim of this research is the correlation of non-steroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs), the antiinflammatory and the hypolipidemic activity og which may play a significant role in the precense of atherosclerosis, with the prevention of consequences of ischemia. Several studies show that treatment with NSAIDs reduses brain damage after ischemia that may be indused by stenosis of vessels due to atherosclerotic plaques.

We investigated the presense og enzymes COX-1 and COX-2, cytokines IL-1, IL-6, IL-10, IL-18, TNF-A as well as IFN- γ in the rat brain slices with or without treatment with an antiinflammatory drug (a derivative of Diclofenac) after 45 min of ischemia. Enzyme COX-1 and COX-2 transforms arahidonic acid to inflammatory mediators such as prostaglandins. Cytokines TNF-a, IL-1, IL-6 and IFN- γ are called pro-inflammatory cytokines while IL-10 antagonizes them (especially antagonizes IFN- γ). Cells that produse these cytokines are located either in the brain (e.g. glial macrophages) or migrate towards the ischemic brain.

Experimental animals were sacrificed 1, 3 and 5 days after ischemia. With the use of corresponding antibodies for each cytokine, we determined immunohistochemically the cells that produce them.

Results showed statistically significant differences in the levels of all the enzymes and cytokinew in the rat ischamic brain and in particular in specific regions og the brain (mainly the hippocampus, hypothalamus and parencephalitis), compared to the brains of normal animals in which cytokine levels are either not traceable or very low. Significant lower amounts of cytokines (IFN- γ, TNF-a, IL-6, IL-18) were also traced in the brain of the treated rats compared to those not treated for the timeperiod of 3 days after the induction of ischemia , while the levels of IL-10 were modestly increased.

ΑΛΥΚΕΣ, ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΑΛΑΤΙΟΥ ΚΑΙ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ ΤΗΣ ΦΥΣΗΣ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Πετανίδου Θ., Δαλάκα Α., Καρυστινάκης Κ., Σπάστρα Π., Βουνάτσου Β.

Τμήμα Γεωγραφίας, Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Μυτιλήνη

Οι αλυκές (φυσικές ή τεχνητές) αποτελούν ιδιόρρυθμα οικοσυστήματα που χαρακτηρίζονται από μεγάλη διαβάθμιση συνθηκών κι έντονες εποχιακές αλλαγές. Συνιστούν δε ενδιαιτήματα κατάλληλα για μια ομάδα οργανισμών (φυτικών και ζωικών), μικρής σε αριθμό ειδών, αλλά πολυάριθμης σε πληθυσμούς. Η οικολογική τους αξία, άμεσα συνυφασμένη με τη διαδικασία παραγωγής αλατιού, χαρακτηρίζεται σήμερα ιδιαίτερα σημαντική. Οι αλυκές αποτελούν ιδανικούς υγροτόπους για πολλά είδη πουλιών, μεταναστευτικών και μη, αλλά και για πολλά είδη αλοφύτων.

Στα πλαίσια του έργου ALAS (διαπεριφερειακή πρωτοβουλία, με σκοπό τη διάσωση των παραδοσιακών αλυκών και την προστασία γενικώς των αλυκών της Μεσογείου), πραγματοποιήθηκε, μεταξύ άλλων, η καταγραφή των αλοπηγών (αλατοπαραγωγών) περιοχών της Ελλάδας. Καταγράφηκαν συνολικά 386 περιοχές, 8 από τις οποίες είναι αλυκές οργανωμένες, ενώ η πλειονότητά τους αναπτύσσεται σε βραχώδες υπόστρωμα (βράχινους θύλακες). Λιγότερες (44), αλλά μεγαλύτερες σε μέγεθος, είναι όσες αναπτύσσονται σε λιμνοθάλασσες. Από το σύνολο των περιοχών, οι 19 εμπεριέχονται σε περιοχές του δικτύου ΦΥΣΗ 2000 και φιλοξενούν είδη της Οδηγίας 92/43 ΕΟΚ αλλά και πλήθος Άλλων Σημαντικών Ειδών για την Ελλάδα, 12 αποτελούν Σημαντικές Περιοχές για τα Πουλιά (ΣΠΠ) και 6 ανήκουν σε υγροτόπους Ραμσάρ.

Η εμπειρία που αποκτήθηκε έως σήμερα, οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η διατήρηση της παραγωγικής διαδικασίας (χειρωνακτικής ή εκμηχανισμένης) είναι ο σημαντικότερος παράγοντας εξασφάλισης των συνθηκών για την ανάπτυξη κατάλληλων ενδιαιτημάτων για τα πουλιά. Επομένως, στα σχέδια διαχείρισης θα πρέπει να προωθείται η επανένταξη των εγκαταλελειμμένων αλοπηγών περιοχών στην παραγωγική διαδικασία και η διατήρηση της αλατοπαραγωγής στις λειτουργούσες, γεγονός που θα αυξήσει την προστιθέμενη αξία τους και θα συμβάλλει, τόσο στην τοπική ανάπτυξη (πρόσθετο οικονομικό όφελος από την παραγωγή αλατιού, ανάπτυξη οικοτουρισμού) όσο και στη διατήρηση των πολύτιμων αυτών οικοσυστημάτων, συμφώνως και με τους στόχους και τους περιορισμούς του δικτύου ΦΥΣΗ 2000.

SALINAS, SALT-MAKING AND NATURE PROTECTION IN GREECE

Petanidou Th., Dalaka A., Karystinakis K., Spastra P., Vounatsou V.

Department of Geography, University of the Aegean, Mytilene

Salinas (natural or artificial) are idiosyncratic ecosystems characterized both by a large gradient of conditions and intense seasonal changes. At the same time, salinas constitute interesting habitats that are suitable for a variety of different plants and animals, which are small in number of species, but may grow in huge population numbers. Their ecological value is strongly related to the salt-making process. For this reason active salinas are ideal wetland habitats for a variety of bird species that use the salinas for breeding, feeding, resting, or just as a stopover during migration. Yet, salinas are ideal places for a large number of halophytes.

In the framework of the project ALAS, an interregional initiative aiming at safeguarding the traditional, as well as the mechanized salinas of the Mediterranean, among other deliverables we have produced an inventory of all the salt-making places of Greece. The inventory contains 386 sites, out of which 8 are active mechanized saltworks. The majority of the rest, of limited ecological interest, are primitive salinas located on rocky substrate along the coasts of the country. On the other hand, 44 of the sites are interesting to nature conservation: they have a variable size, and are part of broader lagoons. Among all salt producing sites 19 are Natura 2000 sites and host species of the Bird-Directive, as well as "Other Important Species" for Greece; twelve are Important Bird Areas (IBA); and 6 are part of Ramsar wetlands.

Our experience (project ALAS and literature) indicates that maintenance of active salt-making (both traditional and mechanized) is important for the conservation of the saline characteristics that make these habitats particularly interesting to birds. For this reason, all management plans and conservation measures of an area should consider the rehabilitation of ceased salinas and maintenance of the active ones. This will not only contribute to their economical value, but also to their added value which, by its turn, may contribute to the local development (e.g. through ecotourism) along with the ecosystem conservation according to the targets of Natura 2000 network.

ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΤΑΘΕΡΩΝ ΙΣΟΤΟΠΩΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΚΑΙ ΖΩΙΚΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΥΣΤΕΡΟΕΛΛΑΔΙΚΟΥ ΝΕΚΡΟΤΑΦΕΙΟΥ ΤΗΣ ΑΓΙΑΣ ΤΡΙΑΔΑΣ ΗΛΕΙΑΣ

Πετρουτσά Ε.Ι.[1], Richards M.P.[2] και Σ.Κ. Μανώλης[1]

[1]*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 81 Αθήνα, email: epetr@biol.uoa.gr*

[2]*Department of Archaeological Sciences, University of Bradford, Bradford, BD7 1DP, U.K.*

Η εποχή του Χαλκού στην Ελλάδα ήταν μια πλούσια πολιτισμική περίοδος, που οδήγησε στη γένεση λαμπρών πολιτισμών, όπως ο Μινωικός και ο Μυκηναϊκός. Η ανασκαφική δραστηριότητα έχει φέρει στο φως εκτός από σκελετικό υλικό και πολλές άλλες πληροφορίες σχετικές με τις δραστηριότητες της καθημερινής ζωής.

Η διευκρίνιση των διατροφικών συνηθειών αποτελεί μια σημαντική πηγή πληροφορίας. Η μελέτη των τροφικών καταλοίπων που αποκαλύπτονται ανασκαφικά μπορεί να συμπληρωθεί και από διάφορες άλλες αναλύσεις των σκελετικών (ζωικών ή/και ανθρώπινων) υπολειμμάτων. Στο παρελθόν έχουν χρησιμοποιηθεί η μελέτη της φθοράς της μασητικής επιφανείας των δοντιών και η ανάλυση των ιχνοστοιχείων. Η ανάλυση των σταθερών ισοτόπων που εφαρμόζεται τελευταία αποτελεί μια πιο αξιόπιστη μέθοδο και παρέχει σημαντικές πληροφορίες για την διευκρίνηση των διαφορετικών τροφικών πηγών και πιθανώς για τη σχέση μεταξύ διατροφής και ασθενειών. Ακόμη υπάρχει η δυνατότητα διερεύνησης της ύπαρξης διαφορών ή μη, μεταξύ κοινωνικών τάξεων ή φύλων (αρρένων – θηλέων).

Στην παρούσα μελέτη παρατίθενται τα αποτελέσματα της ανάλυσης σταθερών ισοτόπων (C:N) για το Υστεροελλαδικό νεκροταφείο της Αγίας Τριάδας, που βρίσκεται στα βορειοανατολικά σύνορα του νομού Ηλείας. Το νεκροταφείο αυτό αποτελεί μια από τις λίγες Υστεροελλαδικές θέσεις, που έχει αποδώσει σκελετικό υλικό σε καλή κατάσταση, κάτι το οποίο επιβεβαιώθηκε από τις αναλογίες (C:N) ανθρώπινων και ζωικών δειγμάτων και είναι μεταξύ 3,3 – 3,6 (DeNiro, 1985, Ambrose, 1990, 1993). Οι αναλογίες του άνθρακα και του αζώτου αξιολογούνται ως ενδεικτικές μιας παμφάγου διατροφής, στην οποία όμως συμμετέχουν σε σημαντικό βαθμό, κυρίως C4-φυτά (καλαμπόκι, κεχρί, βρώμη κλπ).

STABLE ISOTOPE ANALYSIS OF HUMAN AND ANIMAL REMAINS FROM THE LATE HELLADIC CEMETERY OF AGHIA TRIADA, ILIA

Petroutsa E.I.[1], Richards M.P.[2] and S.K. Manolis[1]

[1]*Department of Animal & Human Physiology, School of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, 15781 Athens. email: epetr@biol.uoa.gr*

[2]*Department of Archaeological Sciences, University of Bradford, Bradford, BD7 1DP, U.K.*

Bronze Age Era in Greece was a rich cultural period, where led to the genesis of brilliant civilizations, as Minoan and Mycenean. The excavation activity has brought to the light apart from human skeletal material and a lot of other information relative with the activities of daily life, such as the dietary habits.

The clarification of dietary habits constitutes an important source of information. The study of trophic residues that is revealed can be also supplemented from various analyses of the skeletal (animal and/or human) remains. In the past have been used the study of deterioration of masticatory surface of the back teeth and the analysis of trace elements. The current analysis of stable isotopes (C and N) that is applied constitutes a more reliable method and probably provides important information on the elucidation of different trophic sources and on the relation between diet and illnesses. Still exists the possibility of investigation of existence of differences or not, between social classes or sexes (males- females).

In the present study are presented the results of the stable isotopic analysis (C:N) for the Late Helladic cemetery of Aghia Triada, that is found in the north-eastern borders of prefecture Ilia. This cemetery constitutes one from the few Late Helladic sites, that has attributed human skeletal material in a very good state of preservation, a fact which was confirmed by the C:N proportions of human and animal samples and is between 3,3 – 3,6 (DeNiro, 1985, Ambrose, 1990, 1993). The proportions of carbon and nitrogen are evaluated as indicative an omnivorous diet, in which however participate in important degree, mainly C4-plants (as maize, millet, oat etc).

ΤΟ BM88 ΡΥΘΜΙΖΕΙ ΤΗΝ ΕΞΟΔΟ ΑΠΟ ΤΟΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΚΥΚΛΟ ΚΑΙ ΤΗΝ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΤΩΝ ΚΙΝΗΤΙΚΩΝ ΝΕΥΡΩΝΩΝ ΣΤΟΝ ΑΝΑΠΤΥΣΣΟΜΕΝΟ ΝΩΤΙΑΙΟ ΜΥΕΛΟ

[1]Πολίτης Π., [2]Geissen M., [2]Rohrer H., [1]Μάτσα Ρ.

[1]Τμήμα Βιοχημείας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Βασ. Σοφίας 127, 11521, Αθήνα. [2]Max-Planck-Institute for Brain Research, Deutschordenstr. 46, 60528 Frankfurt/Main, Germany

Η ταυτοποίηση μορίων που εμπλέκονται στη νευρογένεση είναι εξέχουσας σημασίας στην ανάπτυξη θεραπευτικών προσεγγίσεων για την αντιμετώπιση γενετικών ανωμαλιών και βλαβών του νευρικού συστήματος. Έχουμε ήδη χαρακτηρίσει το BM88 ως ένα νευροειδικό μόριο που επάγει την έξοδο από τον κυτταρικό κύκλο και τη νευρωνική διαφοροποίηση σε κυτταρικές σειρές, *in vitro*. Στην παρούσα εργασία δείχνουμε ότι το BM88 είναι ικανό να οδηγήσει *in vivo* τα νευροβλαστικά κύτταρα προς συγκεκριμένα μονοπάτια διαφοροποίησης. Έτσι με τη χρήση *in vivo* μεθόδων υπερέκφρασης, με τους οποίους το BM88 εκφράστηκε εκτοπικά στο νευροεπιθήλιο του αναπτυσσόμενου εμβρύου της όρνιθας, είτε μέσω ρετροϊών είτε με *in ovo* ηλεκτροδιάτρηση (electroporation) του νευρικού σωλήνα, δείξαμε ότι το μόριο αυτό παίζει ένα σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του ΚΝΣ. Η υπερέκφραση του BM88 οδήγησε στη δημιουργία εκτοπικών νευρώνων στην κοιλιακή ζώνη του νωτιαίου μυελού, όπου φυσιολογικά υπάρχουν μόνο ενεργά πολλαπλασιαζόμενα νευροβλαστικά κύτταρα. Συγκεκριμένα, η υπερέκφραση του BM88 προκάλεσε μία δραματική μείωση στα ποσοστά ενσωμάτωσης του BrdU υποδεικνύοντας ότι οδηγεί τα νευροβλαστικά κύτταρα προς την κατεύθυνση των μετα-μιτωτικών νευρώνων. Επιπλέον, τα κύτταρα που εξέφραζαν το BM88 παρουσίαζαν καταστολή της έκφρασης του Notch, η παύση της έκφρασης του οποίου απαιτείται για τη νευρωνική διαφοροποίηση, καθώς και επαγωγή της έκφρασης πρωτεϊνών που χαρακτηρίζουν τους ώριμους νευρώνες όπως είναι η β-III-τουμπουλίνη, η SCG10, και η NF160. Η επίδραση αυτή ήταν εντονότερη στο κοιλιακό τμήμα του νωτιαίου μυελού, όπου η εκτοπική έκφραση του BM88 στα νευροβλαστικά κύτταρα ήταν ικανή να προκαλέσει την έναρξη του προγράμματος διαφοροποίησης των κινητικών νευρώνων όπως πιστοποιήθηκε με την έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα *Islet1* και την εμφάνιση χολινεργικού φαινοτύπου στα κύτταρα αυτά. Επίσης ήταν εμφανής μια σημαντική μείωση στο συνολικό αριθμό των κινητικών νευρώνων του νωτιαίου μυελού, πιθανότατα λόγω της πρόωρης διαφοροποίησης των προγονικών κυττάρων των κινητικών νευρώνων και/ή της επίδρασης του BM88 στη μετανάστευση των νευρώνων αυτών. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι το BM88 ρυθμίζει τα ποιοτικά και τα ποσοτικά χαρακτηριστικά της νευρογένεσης και ότι είναι ικανό να οδηγήσει τα νευροβλαστικά κύτταρα να γίνουν ώριμοι διαφοροποιημένοι νευρώνες με το σωστό λειτουργικό φαινότυπο. Αυτή η ικανότητα καθιστά το BM88 υποψήφιο θεραπευτικό γονίδιο για την ίαση νευροεκφυλιστικών ασθενειών.

BM88 REGULATES CELL CYCLE EXIT AND MOTOR NEURON IDENTITY IN THE DEVELOPING SPINAL CORD

[1]Politis P., [2]Geissen M., [2]Rohrer H., [1]Matsas R.

[1]Department of Biochemistry, Hellenic Pasteur Institute, Vas. Sofias 127, 11521, Athens, Greece. [2]Max-Planck-Institute for Brain Research, Deutschordenstr. 46, 60528 Frankfurt/Main, Germany

Identification of molecules that control the developmental processes for neuron generation is of paramount importance for designing therapeutic strategies for genetic abnormalities or lesions of the nervous system. We have identified BM88 as a neuron-specific protein that enhances cell cycle exit and neuronal differentiation in cell lines in vitro. Here we show that BM88 is able to drive neural precursors towards commitment to specific differentiation pathways *in vivo*. Specifically, gain-of function experiments by which BM88 is expressed ectopicallyin the neuroepithilium of the developing chick spinal cord by mean of retroviral infection and *in ovo* electroporation of the neural tube, demonstrated a dramatic phenotypic effect for BM88 in the developinh CNS. BM88 over-expression was sufficient to produce ectopic neurons in the ventricular zone of the spinal cord where only actively dividing neural precursors exist under normal conditions. Firstly, BM88 over-expression caused a dramatic reduction in BrdU incorporation indicating that forced expression of BM88 drives progenitor cells to become post-mitotic neurons. In addition, BM88-expressing cells showed down regulation of Notch, which is a pre-requisite for neuronal differentiation and up-regulation of the pan-neuronal markers β-III-Tubulin SCG10 and NF160. The effect was more pronounced in the ventral spinal cord where ectopic expression of BM88 is sufficient to initiate a programme of motor neuron differentiation characterized by expression of the transcription factor *Islet1* and of the cholinergic transmitter phenotype. Moreover, a significant reduction in the pool of spinal motor neurons was noted possibly due to a premature depletion of motor neuron precursors and /or an effect in motor neuron migration. These results suggest that BM88 regulates qualitative and quantitative aspects of neurogenesis and is capable of driving neuronal precursors to terminally differentiated neurons with a correct functional phenotype. Our data render MB88 a strong candidate therapeutic gene for the treatmen of neurodegenerative diseases.

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ cDNAs ΤΗΣ "DEHYDRIN" ΑΠΟ ΕΙΔΗ CITRUS ΠΟΥ ΕΠΑΓΟΝΤΑΙ ΜΟΝΟ ΑΠΟ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΥΨΗΛΗΣ ΚΑΙ ΧΑΜΗΛΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ

Porat R.[a,1], Κ. Πασέντσης[c,1], D. Rozenzvieg[a,1], Δ. Γερασόπουλος[c], Β. Φαλάρα[c], A. Samach[b], S. Lurie[a] και Α.Κ. Κανελλής[c]

[a]Department of Postharvest Science of Fresh Produce, Agricultural Research Organization, the Volcani Center, P.O. Box 6, Bet Dagan 50250, Israel, [b]The Kennedy-Leigh Centre for Horticultural Research, Institute for Plant Sciences and Genetics, Faculty of Agricultural, Food and Environmental Quality Sciences, the Hebrew University of Jerusalem, Rehovot 76100, Israel. [c]Ομάδα Βιοτεχνολογίας Φαρμακευτικών Φυτών, Εργαστήριο Φαρμακογνωσίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 541 24 Θεσσαλονίκη. [1]These authors contributed equally to this work

Οι Dehydrins (DHNs; late embryogenesis abundant D-11) είναι μια οικογένεια πρωτεϊνών που επάγονται σε απόκριση των φυτικών ιστών σε περιβαλλοντικές καταπονήσεις όπως η ξηρασία, η αλατότητα και ο παγετός, καθώς επίσης, απαντώνται σε προχωρημένα στάδια της εμβρυογένεσης. Στην παρούσα εργασία απομονώθηκε, μέσω cDNA διαφορικής ανάλυσης (cDNA differential display) και με εφαρμογή της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR), ένα τμήμα 202pb, το οποίο κωδικοποιεί το χαρακτηριστικό K-τμήμα των dehydrins των αγγειοσπέρμων, η έκφραση του οποίου καταστέλλεται κατά την έκθεση του καρπών πορτοκαλιού σε χαμηλά επίπεδα οξυγόνου. Επίσης, επιτεύχθηκε η απομόνωση ολόκληρου του cDNA τμήματος του γονιδίου της DHN του *Citrus sinensis* (*csDHN*) με τη μεθοδολογία του 5' και 3' RACE. Πρόκειται για ένα τμήμα 933bp που κωδικοποιεί ένα πολυπεπτίδιο 235 αμινοξέων. Το τμήμα cDNA των 202bp χρησιμοποιήθηκε στη συνέχεια ως ανιχνευτής προκειμένου να σαρωθεί μια cDNA βιβλιοθήκη από τη επιδερμίδα (flavedo) grapefruit (*Citrus paradisi*) της ποικιλίας 'Star Ruby'. Το ομόλογο τμήμα του *Citrus paradisi* (*cpDHN*) απομονώθηκε και βρέθηκε ότι έχει συνολικό μήκος 1024bp και ότι κωδικοποιεί ένα πολυπεπτίδιο 234 αμινοξέων. Τα γονίδια τους, *csDHN* και *cpDHN*, αντιπροσωπεύονται από ένα αντίγραφο στα γονιδιώματα των πορτοκαλιών 'Navel' και των γκρέιπφρουτ 'Star Ruby', αντίστοιχα. Διαπιστώσαμε ότι μόνο η εμβάπτιση των καρπών σε νερό υψηλής θερμοκρασίας πριν την αποθήκευσή τους αύξησε τα επίπεδα των mRNA του *cpDHN* κατά τη διάρκεια των τριών πρώτων εβδομάδων της διατήρησης τους στους 2°C. Οι καρποί υποβλήθηκαν επίσης σε μια σειρά άλλων καταπονήσεων όπως τραυματισμός, UV ακτινοβολία, ξηρασία, χαμηλή συγκέντρωση οξυγόνου, αιθυλένιο, αψισικό οξύ και βρέθηκε ότι τα επίπεδα των mRNA του *DHN* μειώθηκαν.

ISOLATION OF A DEHYDRIN CDNA FROM ORANGE AND GRAPEFRUIT CITRUS FRUIT THAT IS SPECIFICALLY INDUCED BY THE COMBINATION OF HEAT FOLLOWED BY CHILLING TEMPERATURES

Porat R.[a,1], K. Pasentsis[c,1], D. Rozenzvieg[a,1], D. Gerasopoulos[c], V. Falara[c], A. Samach[b], S. Lurie[a] and A.K. Kanellis[c,*]

[a]Department of Postharvest Science of Fresh Produce, Agricultural Research Organization, the Volcani Center, P.O. Box 6, Bet Dagan 50250, Israel. [b]The Kennedy-Leigh Centre for Horticultural Research, Institute for Plant Sciences and Genetics, Faculty of Agricultural, Food and Environmental Quality Sciences, the Hebrew University of Jerusalem, Rehovot 76100, Israel. [c]Group of Biotechnology of Pharmaceutical Plants, Lab of Pharmacognocy, Dept. of Pharmaceutical Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, 541 24 Thessaloniki, Greece.

Dehydrins (DHNs; late embryogenesis abundant D-11) are a family of plant proteins induced in response to environmental stresses such as water stress, salinity and freezing or which occur during the late stages of embryogenesis. Previously, it was reported that citrus contains a small gene family encoding a unique class of dehydrins that differs from most other plant dehydrins in various respects, such as having an unusual K-segment similar to that of gymnosperms. In the present study, we identified by cDNA differential display analysis a 'Navel' orange 202-bp polymerase chain reaction (PCR) fragment, which encoded the typical plant angiosperm-type K-segment consensus sequence, and of which the expression was down-regulated by exposure to low oxygen levels. The full-length cDNA sequence of the orange DHN, designated *csDHN* (for *Citrus sinensis* DHN), was further isolated by 5' and 3'-RACE; it had a total length of 933 bp and encoded a predicted polypeptide of 235 amino acids. In addition, the same 202-bp 'Navel' dehydrin PCR fragment was used to screen a 'Star Ruby' grapefruit flavedo cDNA library, and its full-length grapefruit homolog, designated *cpDHN* (for *C. paradisi* DHN) was isolated and found to have a total length of 1024 bp and to encode a predicted polypeptide of 234 amino acids. Both *csDHN* and *cpDHN* represent single copy genes, in 'Navel' orange and 'Star Ruby' grapefruit genomes, respectively. We found that the *cpDHN* gene was consistently expressed in the fruit peel tissue at harvest, but that its message levels dramatically decreased during storage at either ambient or low temperatures. However, a prestorage hot water treatment, given to enhance fruit chilling tolerance, increased *cpDHN* mRNA levels during the first three weeks of cold storage at 2°C, and enabled the message levels to be retained for up to a further 8 weeks of cold storage at 2°C. The hot water treatment by itself had no inductive effect on *cpDHN* gene expression when the fruits were held at non-chilling temperatures. Other stresses applied to the fruit, such as wounding, UV irradiation, water stress, low oxygen and exposure to the stress hormone ethylene decreased *DHN* mRNA levels, whereas abscisic acid had no effect at all.

Η ΣΗΜΑΝΤΙΚΗ ΜΕΙΩΣΗ ΤΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΟΥ ΕΝΔΗΜΙΚΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *Phoxinellus epiroticus* (STEINDACHNER, 1895) (PISCES: CYPRINIDAE) ΣΤΗ ΛΙΜΝΗ ΠΑΜΒΩΤΙΔΑ

[1]Πρασσά Μ., [2]Δημητρίου Ε., [1,3]Κάγκαλου Ι., [1,3]Ναθαναηλίδης Κ., [3]Πάσχος Ι., [1*]Λεονάρδος Ι.

*[1]Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110 Ιωάννινα. [2] Ιχθυοκαλλιεργητικό Κέντρο Αχελώου, Δήμος Οινιαδών, 34100. [3] Τμήμα Ιχθυοκομίας- Αλιείας ΤΕΙ Ηγουμενίτσας, * Υπεύθυνος επικοινωνίας. Email : ileonard@cc.uoi.gr.*

Το είδος *Phoxinellus epiroticus* (τσίμα) είναι αποκλειστικά ενδημικό της λίμνης Παμβώτιδας της Ηπείρου. Το μέγιστο μήκος του φτάνει τα 10 cm, αλλά σπανίως ξεπερνά τα 7 cm, έχει μικρή διάρκεια ζωής (2-3 έτη), παρουσιάζει γρήγορη ανάπτυξη και φτάνει τα 5-6 cm κατά τη διάρκεια του πρώτου έτους της ζωής του. Τρέφεται με μικρά υδρόβια ασπόνδυλα, κυρίως καρκινοειδή και φύκη, με λάρβες εντόμων, μικρά έντομα και σκώληκες. Φτάνει σε γεννητική ωριμότητα κατά το πρώτο έτος της ζωής του. Η αναπαραγωγή γίνεται στα μέσα Μάρτη και διαρκεί μέχρι το τέλος Απρίλη. Τα αυγά είναι κιτρινωπά και τοποθετούνται στο υπόστρωμα. Το είδος οδηγείται σε εξαφάνιση εξαιτίας της υποβάθμισης του φυσικού περιβάλλοντος, της ρύπανσης, των εισροών από γεωργικές εκμεταλλεύσεις και του ευτροφισμού. Η μείωση του πληθυσμού μπορεί να οφείλεται στη παρουσία θηρευτών του όπως: *Silurus aristotelis*, *Anguilla anguilla* καθώς και στην εισαγωγή αλλόχθονων ειδών της οικογένειας των Cyprinidae, εκ των οποίων άλλα δρουν ανταγωνιστικά ως προς την τροφή και άλλα ως προς τα αναπαραγωγικά πεδία. Επιπλέον, θηρευτές του είναι νερόφιδα (*Natrix natrix* και *Natrix tassellata*), πολλά υδρόβια πτηνά κυρίως κορμοράνοι (*Phalacrocorax carbo*) των οποίων ο πληθυσμός αυξήθηκε σημαντικά κατά τη διάρκεια της τελευταίας δεκαετίας. Τα παραπάνω σε συνδυασμό με την έντονη αλιευτική πίεση, οδήγησαν τον πληθυσμό του *Phoxinellus epiroticus* σε σημαντική μείωση και στον κίνδυνο εξαφάνισης.

THE SIGNIFICANT DECREASE OF THE POPULATIONS OF THE ENDEMIC SPECIES *Phoxinellus epiroticus* (STEINDACHNER, 1895) (PISCES: CYPRINIDAE) IN LAKE PAMVOTIS (GREECE)

[1]Prassa M., [2]Dimitriou E., [1,3]Kagalou I., [1,3]Nathanailidis K., [3]Paschos I., [1*]Leonardos I.

*[1]Biological Applications and Technologies Dept. University of Ioannina 45110 Ioannina. [2]Aquaculture Center of Achloos, Oiniades 34100 Mesolongi. [3]Department of Aquaculture & Fisheries, Technological Educational Institute of Epirus, Igoumenitsa, *Corresponding author. Email:ileonard@cc.uoi.gr.*

Phoxinellus epiroticus is exclusively endemic in Lake Pamvotis of Epirus. Maximum total length 10 cm, but rarely exceed than 7 cm, is a short lived fish (2-3 years), indicated rapid growth, achieved to 5-6 cm during the first year of the life. Feeding on small aquatic invertebrates especially crustacea and algae, but also larvae of winged bugs, small bugs and worms. Sexual maturity is reached during the first year of life. Spawning occurs from the middle of March to the end of April. Eggs are yellowish adhesive and deposited on substrate especially on aquatic plants. *Phoxinellus epiroticus* has been driven towards extinction by habitat degradation, pollution, runoff from agriculture and eutrophication. Their current plight may be attributed to the introduction of predatory species such as *Silurus aristotelis* and European eels (*Anguilla anguilla*), moreover to introduction of alien species, which are competites the fish in feeding or spawning grounds. Besides, species is subject to predation from water snakes (*Natrix natrix* and *Natrix tassellata*) and from several aquatic birds, especially great cormorants (*Phalacrocorax carbo*) the population of which were increased during the last decade. The above reasons in combination with the intensive fishing pressure, which was exerted from the local fishermen resulted in a significant decrease of the *Phoxinellus epiroticus* population the population of the in significant decrease.

ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΜΑΘΗΣΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΚΑΤΗΓΟΡΙΑΣ ΤΟΥ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΜΙΑΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΜΙΝΟΞΙΚΗ ΤΗΣ ΑΚΟΛΟΥΘΙΑ

Προμπονάς Β.Ι., Χαμόδρακας Σ.Ι.

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 01

Η μεθοδολογία που αναπτύσσουμε στηρίζεται σε σύγχρονες υπολογιστικές τεχνικές Μηχανικής Μάθησης (Support Vector Machines - SVMs και Τεχνητά Νευρωνικά Δίκτυα - ΤΝΔ), για την πρόγνωση της κατηγορίας του διπλώματος (α, β, α/β, α+β) μιας σφαιρικής υδατοδιαλυτής πρωτεΐνης από την ακολουθία της. Οι αλγόριθμοι τροφοδοτούνται με παραμέτρους που περιγράφουν συνολικά κάθε ακολουθία (π.χ. αμινοξική σύσταση, κατανομή υδροφόβων καταλοίπων, ύπαρξη/τύπος περιοδικών επαναλήψεων) και εκπαιδεύονται με αντιπροσωπευτικές ακολουθίες αυτοτελών δομικών περιοχών λυμένων δομών πρωτεϊνών, οι οποίες εμφανίζουν χαμηλή ομοιότητα σε επίπεδο ακολουθίας και ανήκουν στις 4 κατηγορίες διπλώματος. Μια άγνωστη ακολουθία, μετά τον υπολογισμό των αντίστοιχων παραμέτρων, εξετάζεται από το ήδη εκπαιδευμένο σύστημα. Η πρόγνωση είναι δυνατό να γίνει σε ένα (μίας-έναντι-όλων των κατηγοριών) ή περισσότερα βήματα (συνδυασμοί μίας-έναντι-μίας). Στη δεύτερη περίπτωση, ένα επιπλέον σύστημα αποφασίζει βάσει των αποτελεσμάτων των επί μέρους συστημάτων. Ο έλεγχος της ορθότητας των προγνώσεων έγινε με ακολουθίες που δεν είχαν ομοιότητα με όσες χρησιμοποιήθηκαν για την εκπαίδευση του συστήματος και έδωσαν ποσοστά σωστών προγνώσεων ανά κατηγορία από 63% έως 90%, για τους διαφορετικούς τύπους παραμέτρων και διαδικασιών πρόγνωσης. Η χρήση ενός ΤΝΔ, που θα συνδυάζει τις ανεξάρτητες προγνώσεις, θα βελτιώσει σημαντικά τη δύναμη της μεθόδου. Το μεγάλο πλήθος των παραμέτρων που χρησιμοποιούνται για την περιγραφή κάθε ακολουθίας, συνεπάγεται την εργασία σε πολυδιάστατους χώρους, και, η χρήση των συγκεκριμένων μεθόδων, πέρα από ότι είναι ενδεδειγμένη, μπορεί να δώσει χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με τους κανόνες που διέπουν το δίπλωμα των πρωτεϊνών. Η κατηγοριοποίηση που επιχειρούμε, είναι δυνατόν να επιταχύνει σημαντικά την αναζήτηση διπλωμάτων 'συμβατών' με μια εξεταζόμενη ακολουθία και τη διαδικασία πρόγνωσης της πρωτεϊνικής δομής από 'πρώτες' αρχές.

MACHINE LEARNING COMPUTATIONAL TECHNIQUES FOR PROTEIN FOLD CLASS PREDICTION SOLELY FROM AMINOACID SEQUENCE

Promponas V.J., Hamodrakas S.J.

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 157 01

We are developing a methodology based on novel computational Machine Learning techniques (Support Vector Machines - SVMs and Artificial Neural Networks - ANNs) for protein fold class prediction (α, β, α/β, α+β) of globular water-soluble proteins from their aminoacid sequences. The algorithms are 'fed' with global descriptors of protein sequences (e.g. aminoacid composition, hydrophobic residue distribution, existence/type of periodic repeats) and are trained with representative sequences corresponding to domains of solved protein structures belonging to the four fold classes, with low pairwise sequence similarity. When submitting an unknown sequence, the respective descriptor parameters are calculated, and the sequence is tested by the already trained system. Prediction can be performed in one (one-against-all classes) or more steps (combinations of one-against-one). In the later case, a decision system performs the final prediction based on the output of the 'one-against-one' classifiers. We performed a system validation procedure presenting the system with sequences non-homologous to the training set; the success rate for correct prediction per class ranged from 63% to 90% for the different descriptors and classification schemes. We expect that the use of an ANN that will combine predictions based on individual descriptors will significantly increase the discriminating power of our method. Using the aforementioned methods is not only crucial to work in the high dimensional spaces implied by the big number of parameters used as sequence descriptors but may also give insight to the rules that govern protein folding. Fold class prediction can drastically speed up the search of folds compatible with a test sequence as well as *ab initio* protein structure prediction.

ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΣΠΟΝΔΥΛΩΝ ΤΟΥ ΕΔΑΦΟΥΣ ΣΕ ΣΥΣΤΗΜΑ ΑΕΙΦΥΛΛΩΝ ΣΚΛΗΡΟΦΥΛΛΩΝ ΤΟΥ ΒΟΤΑΝΙΚΟΥ ΚΗΠΟΥ ΔΙΟΜΗΔΟΥΣ

***Ραδέα Κ., **Αριανούτσου Μ.**

*Τομέας Οικολογίας και Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιλίσια 15784, * kradea@cc.uoa.gr , ** marianou@biol.uoa.gr*

Η κινητική δραστηριότητα των ασπονδύλων του εδάφους στην επιφάνεια του οργανικού ορίζοντα μελετήθηκε σε σύστημα αειφύλλων σκληροφύλλων κατά τη διάρκεια της υγρής περιόδου του έτους.

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε στον Βοτανικό Κήπο Διομήδους το διάστημα Οκτωβρίου 1999-Μαΐου 2000. Η περιοχή μελέτης έχει υποστεί έντονες ανθρωπογενείς επιδράσεις (πυρκαγιές). Τα χαρακτηριστικά φυτικά είδη της περιοχής μελέτης είναι τα: *Pistacia lentiscus*, *Quercus coccifera, Anthyllis hermaniae*, *Euphorbia acanthothamnos*, και *Cistus* spp.

Η δειγματοληψία έγινε με τη χρησιμοποίηση 15 παγίδων εδάφους (pitfall traps). Η συλλογή του περιεχομένου των παγίδων γινόταν μια φορά τον μήνα. Μετά τη μεταφορά των δειγμάτων στο εργαστήριο, γινόταν η αναγνώριση και καταμέτρηση των ασπονδύλων (σε επίπεδο τάξης) σε διοφθάλμιο στερεοσκόπιο.

Τα αποτελέσματα των δειγματοληψιών δείχνουν ότι στην περιοχή μελέτης: Η ποιοτική και ποσοτική σύνθεση της κοινότητας των ασπονδύλων που κινούνται στην επιφάνεια του εδάφους την υγρή περίοδο του έτους είναι παρόμοια με αυτήν άλλων συστημάτων αειφύλλων σκληροφύλλων και δασών πεύκης της χώρας, τα οποία δεν έχουν υποστεί έντονες ανθρωπογενείς επιδράσεις.

LOCOMOTORY ACTIVITY OF SOIL INVERTEBRATES IN AN EVERGREEN-SCLEROPHYLLOUS SYSTEM IN THE DIOMEDES BOTANICAL GARDEN

***Radea C., **Arianoutsou M.**

Department of Ecology and Systematics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 15784,
*kradea@cc.uoa.gr , **marianou@biol.uoa.gr*

The locomotory activity of invertebrates on the soil surface, which is an indication of their population dynamics, has been studied in an evergreen-sclerophyllous system during the wet period of the year.

The study has been done in the Diomedes Botanical Garden. This site has been burned several times in the past. The most characteristic plant species of the site are: *Pistacia lentiscus*, *Quercus coccifera, Anthyllis hermaniae*, *Euphorbia acanthothamnos* and *Cistus* spp. Gathering of data has been realized in monthly intervals by the use of 15 pitfall traps. The collected invertebrates have been identified and counted in the laboratory using a stereomicroscope.

The results of the sampling indicate that in the studied site despite the impact of fires: Both the qualitative and the quantitative structure of invertebrate community on the organic horizon surface during the wet period of the year is quite similar to those found in other evergreen-sclerophyllous systems and pine forests which have not been disturbed by human activities.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ ΠΟΛΥ(Α)ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ-α ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ

[1]Ράπτη Κ., [1]Τράγκα Θ., [1]Δημητριάδης Ε., [2]Σαμιωτάκη Μ., [1]Κούρτη Ν.

[1]Ερευνητικό Κέντρο «Γ. Παπανικολάου», ΠΑΟΝΑ «Άγιος Σάββας», Λεωφ. Αλεξάνδρας 171, 11522 Αθήνα. [2]Ερευνητικό κέντρο «Α. Φλέμινγκ», Φλέμινγκ 34, 16672 Αθήνα

Η πολυ(Α)πολυμεράση (PAP) καταλύει την προσθήκη καταλοίπων αδενίνης στο νεοσυντιθέμενο mRNA. Αποτελεί μέρος του συμπλόκου που πραγματοποιεί την αποκοπή και την προσθήκη της πολυ(Α) ουράς στο πρώιμο mRNA. Η μέτρηση της ενεργότητας της PAP έχει προταθεί ως δείκτης προγνωστικής αξίας στις χρόνιες λεμφοκυτταρικές λευχαιμίες και στον καρκίνο του μαστού. Σε δείγματα καρκίνου του μαστού, τα αυξημένα επίπεδα ενεργότητας συνδέονται με αυξημένα επίπεδα mRNA και πρωτεΐνης. Φαίνεται λοιπόν ότι, τα επίπεδα μεταγραφής της PAP επιδρούν στην έκτοπη ενεργότητα της PAP που παρατηρούμε στον καρκίνο. Στην προσπάθεια να διευκρινιστεί ο μεταγραφικός ελέγχου του γονιδίου της PAP χαρακτηρίσαμε την αλληλουχία του υποκινητή. Το σημείο έναρξης της μεταγραφής (ΣΕΜ) προσδιορίστηκε, πραγματοποιώντας 5'-RACE, 208 νουκλεοτίδια πριν από το σημείο έναρξης της μετάφρασης ATG. Το γονίδιο της PAP δεν έφερε αλληλουχίες TATA και CAAT που χαρακτηρίζουν τους περισσότερους υποκινητές ευκαρυωτικών γονιδίων. Θέλοντας να εντοπίσουμε την ελάχιστη αλληλουχία υποκινητή παρασκευάσαμε, χρησιμοποιώντας PCR, κομμάτια διαφορετικού μεγέθους από την 5' περιοχή του γονιδίου, που κλωνοποιήσαμε σε πλασμίδιο αναφοράς λουσιφεράσης. Ο υποκινητής προσδιορίστηκε στην περιοχή –100 με +100 εκατέρωθεν του ΣΕΜ μετά από πειράματα παροδικής επιμόλυνσης κυττάρων HeLa και προσδιορίστηκαν πιθανές περιοχές πρόσδεσης μεταγραφικών παραγόντων. Παρατηρήθηκαν αρνητικά ρυθμιστικά στοιχεία στις περιοχές από –1200 έως –880 πριν από το ΣΕΜ και από +100 έως +300 μετά από το ΣΕΜ. Φαίνεται άρα ότι η έκφραση του γονιδίου της PAP υπόκειται σε διπλό αρνητικό ρυθμιστικό έλεγχο. Είναι αναγκαίες περαιτέρω μελέτες προκειμένου να διαπιστώσουμε πώς αυτός ο αυστηρός έλεγχος χάνεται στον καρκίνο.

IDENTIFICATION OF THE HUMAN POLY(A)POLYMERASE-a GENE PROMOTER

[1]Raptis K., [1]Trangas T., [1]Dimitriadis E., [2]Samiotaki M., [1]Courtis N.

[1]"G. Papanikolaou" Research Center, "Aghios Savvas" Hospital, 171 Alexandras Ave., 11522 Athens. [2]B.S.R.C. "A.Fleming", 34 Fleming street, Vari, 16672 Athens

The addition of the adenylate residues to nascent mRNAs is catalyzed by poly(A) polymerase (PAP), a single subunit enzyme that takes part in the multi-protein complex that performs cleavage and polyadenylic acid tail formation. The biochemistry and the role of this enzyme, as well as its post-translation phosphorylation that results in regulation of its activity under physiological conditions have been extensively studied. Measurement of PAP activity levels has been proposed as a marker of prognostic value in chronic lymphocytic leukemias and breast cancer. In breast cancer samples, increased activity levels reflect increased mRNA and corresponding protein levels. So, it seems that PAP gene transcription levels exert an influence on the aberrant PAP activity observed in cancer. In order to elucidate the transcriptional control of the PAP gene we identified its core promoter sequence. The transcription start site was mapped by using the 5'-RACE technique at 208 bases 5' to the ATG translation start site. The human PAP gene lacked TATA and CAAT consensus sequences, a characteristic shared by other eukaryotic promoters. In order to locate the promoter region, serially truncated segments of the 5'-flanking region of the gene were PCR produced and then cloned into a luciferase reporter vector. Transient transfection analyses of the constructs in HeLa cells identified the basal promoter region within –100 to +100 base pairs relative to the transcription start site. Putative transcription factors binding regions, based on sequence analysis were determined. Transfection analyses indicated the presence of one negative regulatory element at the –1200 to –880 upstream region and another one at the +100 to +300 downstream region of the transcription start site. Thus, the normal PAP gene expression seems to be under a double negative regulation mechanism. Further studies are needed in order to elucidate how this stringent regulation is lost in cancer.

ΒΙΟΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗ ΠΕΤΡΕΛΑΪΚΩΝ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΩΝ ΣΕ ΜΙΚΤΕΣ ΚΛΕΙΣΤΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΕΝΔΟΓΕΝΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΑΠΟ ΕΔΑΦΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΕΠΙΒΑΡΥΜΕΝΑ ΜΕ ΠΕΤΡΕΛΑΪΚΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ

Ρεντινιώτη Α.Α., Λυμπεροπούλου Δ.Σ., Χάλκου Κ.Ι., Καραγκούνη Α.Δ.

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, 15781, Αθήνα

Ενδογενείς βακτηριακοί πληθυσμοί μπορούν να αποικοδομήσουν μεγάλο φάσμα αρωματικών υδρογονανθράκων και συστατικών του αργού πετρελαίου αλλά και τόσο *in situ* όσο και σε κλειστές εργαστηριακές καλλιέργειες. Οι πληθυσμοί αυτοί προέρχονται από περιοχές που έχουν επιβαρυνθεί με πετρελαϊκούς υδρογονάνθρακες, όπως οι χώροι εναπόθεσης αποβλήτων διυλιστηρίων (landfarms). Η μελέτη και ο εντοπισμός μικροοργανισμών ικανών να καταβολίζουν πετρελαϊκά απόβλητα είναι πολύ σημαντική γιατί μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη βιοεξυγίανση επιβαρυμένων εδαφών.

Σκοπός της συγκεκριμένης εργασίας ήταν η μελέτη της βιοαποικοδομητικής δραστηριότητας βακτηριακών στελεχών που απομονώθηκαν από τρεις διαφορετικές περιοχές εναπόθεσης πετρελαϊκών αποβλήτων του διυλιστηρίου ΜΟΤΟΡ ΟΪΛ Α.Ε. στην περιοχή Αγίων Θεοδώρων Κορινθίας. Τα στελέχη αυξήθηκαν σε αξενικές καθαρές καλλιέργειες με μοναδική πηγή άνθρακα αργό πετρέλαιο και ναφθαλένιο. Στη συνέχεια έγινε επιλογή των καλύτερα αναπτυσσόμενων στελεχών με μέτρηση της ξηρής βιομάζας και των ολικών πρωτεϊνών. Τα επιλεγμένα στελέχη αυξήθηκαν στην πορεία σε μικτές κλειστές καλλιέργειες ώστε να προσδιορισθεί η βιοαποικοδομητική ικανότητα του συνεργιώματος των μικροοργανισμών. Το ποσοστό αποικοδόμησης πετρελαϊκών υδρογονανθράκων και ναφθαλενίου στις μικτές καλλιέργειες προσδιορίστηκε με αέρια χρωματογραφία-φασματογραφία μάζας (GC-MS).

BIODEGRADATION OF PETROLEUM HYDROCARBONS IN CONSORTIUM CULTURES OF BACTERIA ISOLATED FROM AN OILY-SLUDGE CONTAMINATED SOIL

Redinioti A.A., Lymperopoulou D.S., Chalkou K.I., Karagouni A.D.

Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, 15781, Athens

Indigenous bacterial populations can biodegrade a wide range of constituents of crude oil and aromatic hydrocarbons in situ and in batch cultures. These populations respond in petroleum hydrocarbon contaminated soil, such as sludge deposition sites from oil refineries (landfarms). Biodegradative microorganisms isolated from petroleum residues are very important, since they can be used for the bioremediation of contaminated soils.

In this work, we aimed to study the biodegradative activity of bacterial strains isolated from three different petroleum residues deposition sites from MOTOR OIL S.A. oil refinery. The strains grew in pure cultures using crude oil and naphthalene as sole carbon source. The fastest growing strains were selected by using parameters such as dry weight and total proteins. The selected strains grew in mixed batch cultures and the biodegradative ability of the microbial consortium was estimated. The remaining percentage of petroleum hydrocarbons and naphthalene in the medium was defined by gas chromatography and mass spectroscopy (GC-MS).

ΤΑ ΦΥΤΑ ΤΩΝ ΟΛΥΜΠΙΑΚΩΝ ΑΓΩΝΩΝ

Ρίζου Α., Ριζοπούλου Σ.

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα 15781

Εκεί που ο Αλφειός και ο παραπόταμος Κλαδέος ενώνουν τα νερά τους, εκεί που τ' ασημένια φύλλα της ελιάς αγγίζουν την ιστορία, εκεί είναι η Ολυμπία.

Το 776 π.Χ. αποτελεί χρονικό ορόσημο της θεσμοθέτησης των Ολυμπιακών αγώνων. Ωστόσο η προέλευσή τους είναι ασαφής, μ' επικρατέστερη άποψη την θρησκευτική. Όταν ακόμη λατρευόταν η έννοια της *Μητέρας-Γης*, ο συναγωνισμός σε παιχνίδια κατά τη διάρκεια των εορτασμών, θεωρήθηκε ως η πρώτη αναφορά σε αγώνες. Έτσι, η προέλευση των Ολυμπιακών αγώνων χάνεται στα βάθη των αιώνων κι ίσως θα πρέπει ν' αναζητηθεί σε πιο «πρώιμους» πολιτισμούς.

Η Ολυμπία ήταν ιερό των αρχαίων Ελλήνων ισότιμο με εκείνο του Μαντείου των Δελφών. Δεν υπήρξε ως πόλη, ούτε κατοικήθηκε μόνιμα, αλλά ήταν τόπος ιερός που τον κοσμούσαν αγάλματα, λατρευτικά στοιχεία και οικήματα (βοηθητικά) για την τέλεση των αγώνων. Υπήρχε στάδιο που φιλοξενούσε κυρίως αγώνες στίβου. Το στάδιο συνδέθηκε με το ιερό τον 3ο π.Χ. αιώνα, μέσω *κρύπτης* με στενό διάδρομο, από όπου περνούσαν οι Ελλανοδίκες ντυμένοι με *πορφύρα*.

Το έπαθλο των αγώνων στην Αρχαία Ολυμπία ήταν ο **κότινος** *(στεφανίτες αγώνες)*. Το στεφάνωμα των αθλητών είχε, αλλά και συμβόλιζε, την ανυπολόγιστη αξία της ηθικής σημασίας της βράβευσης. Το πολυτιμότερο από οποιοδήποτε δώρο στον αθλητή, το σπίτι του, την πόλη, το γένος, τους προγόνους του και τους θεούς ήταν ένα απλό στεφάνι από κλάδους **αγριελιάς**. Η απόδοση τιμής στους Κριτές (Ελλανοδίκες) και το προσωπικό των αγώνων γινόταν με στεφάνια από **δάφνη, λυγαριά** και **φοίνικα**. Στην προετοιμασία των αθλητών αναφέρεται ότι χρησιμοποιήθηκαν **σιτάρι, κριθάρι, ελαιόλαδο**. Σε βωμούς καιγόταν **κέδρος, λιβάνι, ξύλο από λεύκα & κυπαρίσσι.** Στα αγάλματα τοποθετούσαν **κρίνα, μήλα, μυρτιές, ρόδα, ρόδια, φύλλα** από **κλήματα.**

Η αναβίωση των Ολυμπιακών Αγώνων αποφασίστηκε σε Διεθνές Αθλητικό Συνέδριο, στο Πανεπιστήμιο της Σορβόννης (Παρίσι) το 1894, παρουσία 2.000 συνέδρων, ύστερα από εισήγηση του Pierre de Coubertin.

THE PLANTS OF THE OLYMPIC GAMES

Rizou A., Rhizopoulou S.

Section of Botany, Department of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 15781

Olympia is located in the small valley on the right bank of Alpheios river where it meets the Cladeos tributary river. It was the largest ancient Greek sanctuary in Peloponnese, equal in importance to that of Delphi. There was no town nearby, neither was the area permanently inhabited. Nevertheless, Olympia always remained a sacred place, full of statues and places of worship, as well as buildings used during the Games.

Although 776 B.C. is supposed to be the beginning of the Olympic Games, their origin is lost in the mists of history. It seems likely, though, that everybody agrees on one point that the origin was religious. At the time when Mother Earth (Gea) was still worshiped, the first references of contests during the festivals celebrated in her honour are found.

The best honour in ancient Olympia for winners was a **wreath** made from branches of **olive tree**. Honour in referees was given *via* wreaths made by **laurel** (sweet bay), **chaste tree, palm tree, mytrle**. In historic times, several plant products were included in the preparation of the athletes as well as plant specimens were placed in front of altars and statues.

The re-establishment of Olympics was decided during an International Sports Conference, in Sorbonne in Paris, on 16th June of 1894, with 2,000 people attending. The man who first conceived the idea of reviving the Olympic Games was the baron Pierre de Coubertin.

ΤΟ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟ DNA, Η ΔΙΠΛΗ ΜΟΝΟΓΟΝΙΚΗ ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ Ο ΚΑΝΟΝΑΣ ΤΩΝ ΕΞΑΙΡΕΣΕΩΝ

Γεώργιος Κ. Ροδάκης

Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών,157 01 Αθήνα.

Κατά τις δεκαετίες του '80 και'90, η θεαματική συσσώρευση δομικών και λειτουργικών δεδομένων για το ζωικό μιτοχονδριακό DNA (mtDNA) ανέδειξαν αυτό το γενετικό μακρομόριο σε εναλλακτικό πρότυπο φειδωλότητας του πυρηνικού DNA. Υπό αυτό το πρίσμα, το mtDNA νοείται ως «εξαίρεση», αλλά η τάση των επιστημόνων για γενικεύσεις, προσέδωσε σε χαρακτηριστικές ιδιότητές του διαστάσεις «κανόνα». Για παράδειγμα, μεταξύ άλλων, η απουσία ανασυνδυασμών και η αποκλειστικά μητρική μεταβίβασή του παγιώθηκαν ως αναμφισβήτητοι κανόνες. Όμως, πριν την είσοδό μας στη νέα χιλιετία, η ανακάλυψη του φαινομένου της Διπλής Μονογονικής Κληρονομικότητας (Δ.Μ.Κ.) καθώς και τα αποτελέσματα της σχετικής έρευνας που ακολούθησε, κατέρριψαν τους πιο πάνω δύο κανόνες. Το φαινόμενο της Δ.Μ.Κ. αποτελεί εξαίρεση ως προς το ό,τι ισχύει στα μετάζωα, αλλά κανόνα για ορισμένα δίθυρα μαλάκια, ενώ δεν αποκλείεται να αποτελεί κανόνα και για άλλους οργανισμούς. Σύμφωνα με τη Δ.Μ.Κ., στο γονιμοποιημένο ωάριο εισέρχονται τόσο τα μητρικής όσο και τα πατρικής προέλευσης μιτοχόνδρια, αλλά κατά την εμβρυογένεση τα πατρικά εξαφανίζονται στους θηλυκούς απογόνους, ενώ στους αρσενικούς περιορίζονται στη γονάδα. Ωστόσο, και αυτός ο κανόνας έχει τις εξαιρέσεις του: Άγνωστο πώς, ένα μητρικής προέλευσης mtDNA (F) παίρνει τη θέση του πατρικού μορίου (M) και το φαινόμενο αυτό ορίζεται ως «αρρενοποίηση» του F. Έτσι, η Δ.Μ.Κ. (εξαίρεση του mtDNA των μεταζώων) και η αρρενοποίηση (εξαίρεση της Δ.Μ.Κ.) συγκροτούν το πλαίσιο των παραμέτρων για τη διερεύνηση των μηχανισμών που διέπουν την εξελικτική δυναμική του mtDNA, ενώ -παραφράζοντας το μαθηματικό θεώρημα του Kurt Gödel- σκιαγραφούν ένα «κανόνα» για τους κανόνες: Δεν υπάρχει κανόνας χωρίς εξαίρεση.

Σχετικό ερευνητικό πρόγραμμα του Γ.Κ.Ρ. χρηματοδοτείται από τη Γ.Γ.Ε.Τ (ΠΕΝΕΔ 01ΕΔ42)

MITOCHONDRIAL DNA, DOUBLY UNIPARENTAL INHERITANCE AND THE RULE OF EXCEPTIONS

George C. Rodakis

Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Biology, University of Athens, 157 01 Athens

The last two decades have seen a dramatic accumulation of information about the metazoan mitochondrial DNA (mtDNA). Three features appear to set this genome apart from the nuclear genome: its maternal inheritance, the lack of recombination and its «economy» (i.e. the fact that it does not contain introns or redundant non-coding sequences). Whereas these «rules» may still hold for the mtDNA of most animals, exceptions were found for all three of them. Doubly Uniparental Inheritance (DUI) is the most interesting of these exceptions. In species with DUI there exist two mitochondrial genomes, the female (F), which is transmitted to daughters and sons (like the standard animal mtDNA) and the male (M), which is transmitted from fathers to sons. DUI has been studied extensively in mussels, but it may occur in many other bivalves. Male mussels are expected to contain two mtDNAs (F and M), but they were found to carry also recombinant molecules. Thus, DUI violates at least two rules about the animal mtDNA: the rule of uniparental inheritance and the rule of no-recombination. In turn DUI was assumed to be the «rule» in mussels. Yet, it has its own exceptions. From time to time an F genome may be transmitted through the sperm leading to males that contain two F-type molecules, one from the mother and one from the father (the latter is called masculinized F). Thus, DUI is the exception in animal mtDNA, and masculinization is the exception in DUI, providing a nice illustration of a «rule» about rules: that there is no rule without exceptions.

Relevant research of G.C.R. is funded by G.S.R.T. (PENED 01ED42)

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΦΥΤΙΚΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ (*Hedera helix* και *Paeonia suffruticosa)* ΣΤΟΝ ΠΕΡΟΝΟΣΠΟΡΟ ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΓΓΟΥΡΙΑΣ

Röhner E., Carabet A., Buchenauer H.

Institut für Phytomedizin, University of Hohenheim, Stuttgart, Germany

Σε κομμένα φύλλα φυτών τομάτας ελέγχθηκε η επίδραση αιθανολικών εκχυλισμάτων (20% σε χλωρά ουσία και 6% σε ξηρά) 20 διαφορετικών φυτικών ειδών κατά της έντασης της προσβολής από περονόσπορο. Εκχυλίσματα φύλλων των ειδών *Hedera helix* και *Paeonia suffruticosa* ήταν τα πιο αποτελεσματικά. Εφαρμογές πριν την μόλυνση (2-14 ημέρες) παρεμπόδισαν πλήρως την ανάπτυξη της ασθένειας. Η αποτελεσματικότητα μειωνόταν βαθμιαία όταν εφαρμόζονταν μικρότερες συγκεντρώσεις του εκχυλίσματος. Τα δυο εκχυλίσματα έδειξαν υψηλό επίπεδο αποτελεσματικότητας κατά του περονοσπόρου, όταν εφαρμόσθηκαν και σε ολόκληρα φυτά τομάτας.

Εφαρμογές εκχυλισμάτων (20 και 10%) των *H. helix* και *P. suffruticosa* πριν την τεχνητή μόλυνση, αποδείχθηκαν ιδιαίτερα αποτελεσματικές κατά του περονοσπόρου του αγγουριού (*Pseudoperonospora cubensis*). Η αποτελεσματικότητά τους μειωνόταν όταν εφαρμόζονταν μικρότερες συγκεντρώσεις του εκχυλίσματος. Η μείωσης της έντασης της προσβολής μετά από εφαρμογές των δύο εκχυλισμάτων, περιορίζονταν στα σημεία της φυλλικής επιφάνειας όπου εφαρμόζονταν. Τα εκχυλίσματα δεν είχαν διασυστηματική δράση. Και τα δύο εκχυλίσματα είχαν θεραπευτική δράση όταν εφαρμόζονταν 1- 4 ημέρες μετά την τεχνητή μόλυνση μειώνοντας δραστικά την ανάπτυξη των σποριαγγείων του μύκητα *P. infestans*.

Μελέτες *in vitro* έδειξαν ότι εκχυλίσματα του *P. suffruticosa* καθυστέρησαν αποτελεσματικά *την ανάπτυξη του μυκηλίου του* μύκητα *P. infestans,* ενώ το εκχύλισμα του *H. helix* δεν την επηρέασε. Από την άλλη πλευρά και τα δύο εκχυλίσματα παρεμπόδισαν σημαντικά την απελευθέρωση των ζωοσπορίων από τα σποριάγγεια και την βλάστηση των ζωοσπορίων του μύκητα.

Με μεθόδους χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας και βιοαυτογραφίας με οργανισμό ελέγχου τον μύκητα *Cladosporium cucumerinum* διαπιστώθηκαν *τρεις αντιμυκητικές ζώνες* του *εκχυλίσματος H. helix*, ενώ στο εκχύλισμα του *P. suffruticosa* βρέθηκε μία ζώνη αναστολής του μύκητα *P. infestans*.

EFFECTIVENESS OF PLANT EXTRACTS (*Hedera helix* AND *Paeonia suffruticosa*) TO LATE BLIGHT OF TOMATO AND DOWNY MILDEW OF CUCUMBER

Röhner E., Carabet A., Buchenauer H.

Institut für Phytomedizin, University of Hohenheim, Stuttgart, Germany

The effects of ethanolic extracts (20% per fresh weight or 6% per dry weight) of 20 different plant species have been tested against late blight (*Phytophthora infestans*) severity on detached tomato leaves. Most effective were the extracts from leaf material of *Hedera helix* and *Paeonia suffruticosa*. Preinfectional treatments (2-14 days before inoculation (dbi)) completely suppressed disease development. The activity decreased gradually when lower extract concentrations were applied. Both extracts also exhibited a high degree of activity against late blight on intact tomato plants.

Preinfectional treatments (2 dbi) of *H. helix* and *P. suffruticosa* extracts (20 and 10 %) proved to be highly active in inhibiting downy mildew (*P. cubensis*) development of cucumber. The effectiveness declined when lower extract concentrations were applied. The disease reducing activity of both extracts was confined to the site of applications within the leaf area and the extracts induced no systemic resistance in higher inserted leaves. Both extracts exhibited curative effects when applied 1-4 days after inoculation; sporangia development of *P. cubensis* was drastically reduced. *In vitro* studies showed that *P. suffruticosa* extracts effectively retarded mycelium growth of *P. infestans,* the *H. helix* extract was not active. On the other hand, both extracts markedly inhibited release of zoospores from sporangia and germination of zoospores of *P. infestans*.

Thin layer chromatography and bioautography methods using *Cladosporium cucumerinum* as test organism revealed three antifungal zones in extracts of *H. helix* and the *P. suffruticosa* extract exhibit an inhibition zone to *P. infestans*.

ΜΙΑ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΜΕ ΣΥΝΔΕΔΕΜΕΝΟ ΓΡΑΦΗΜΑ ΜΕ ΒΑΡΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΟΣΗΣ ΙΩΝ

Σαλίχος Λ., Μπουγιούκος Κ., Λαγκουβάρδος Η., [2]Σούρδη Α.

Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας Γ.Π.Α., [2]University of Leeds

Παρουσιάζεται μια μέθοδος ανακατασκευής του μονοπατιού διάδοσης των ιων, ως ένα συνδεδεμένο γράφημα με βάρη G=(V,E). Τα στοιχεία του V είναι σημεία (ασθενείς) και τα στοιχεία του E είναι διανύσματα που καταδεικνύουν την μετάδοση των ιων μεταξύ των ασθενών. Αντιστοιχήσαμε ως βάρος d(X,Y) ενός τέτοιου διανύσματος έναν εκτιμητή της γενετικής απόστασης των ιών μεταξύ των consensus ακολουθιών των ιϊκών υπο-ειδών X και Y. Για n άτομα ο αριθμός τών γραφημάτων που χρειάζεται για την αναπαράσταση της διάδοσης είναι ίσος με τον αριθμό των αρχικών πηγών της μόλυνσης (k). Για παράδειγμα το ιστορίκο διάδοσης [A→C→B→D→E] και το ιστορικό [B→A→C, A→D→E] αναπαρίστανται από ένα συνδεδεμένο γράφημα (k=1), αφού η προέλευση της μόλυνσης μπορεί να αποδοθεί σε ένα άτομο, ενώ δυο γραφήματα χρειάζονται για το ιστορικό [C→A→D, B→E] (k=2). Θεωρητικά υπάρχουν $T_n=S_{1,n}+S_{2,n}+\ldots+S_{n,n}=(n+1)^{n-1}$ διαφορετικοί τρόποι μόλυνσης (γραφήματα) για ένα σύνολο n ατόμων, όπου $S_{k,n}$ είναι ο αριθμός των μολύνσεων για μια συγκεκριμένη τιμή του k. Όλα αυτά τα γραφήματα σχηματίζουν ένα σύνολο συνδετικών δέντρων.. Δεχόμαστε ως το πιο πιθανό σενάριο το ελάχιστό συνδετικό δέντρο, αυτό που έχει το μικρότερο άθροισμα των βαρών των διανυσμάτων.

A WEIGHTED, DIRECTED GRAPH APPROACH ON VIRAL PROPAGATION

Salichos L., Bouyioukos C., Lagouvardos I., [2]Sourdi A.

Department of Agricultural Biotechnology, A.U.A., [2]University of Leeds

We tried to develop a method to reconstruct the exact pathway of viral outbreaks, as a weighted directed graph G=(V,E). The elements of V are points (patients) and the elements of E are arrows indicating the viral transmission between the patients. We assign a weight d(X,Y) to the arrow E as an estimator of the genetic viral distance between the constructed consensus sequences of viral quasi-species of X and Y. For n individuals the number of graphs needed to represent the history of transmission is equal to the number of the initial sources of infection (k). For example, history [A→C→B→D→E] is represented by a single connected graph (k=1), since the infection can be traced back to a single individual, whereas two graphs are needed to represent the history [C→A→D, B→E] (k=2). Theoretically, there are $T_n=S_{1,n}+S_{2,n}+\ldots+S_{n,n}=(n+1)^{n-1}$ different ways of infections (graphs) for a group of n individuals, where $S_{k,n}$ is the number of infections for a specific value of k. All of these graphs form the set of spanning trees for all of n individuals. A spanning tree is a graph without loops that connects a set of points. We accept as the most probable scenario the minimum spanning tree, which is formed by the graph of the minimum sum of weights of the edges (genetic viral distances).

ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΚΗ ΔΟΜΗ ΤΗΣ DNA ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ ΑΠΟ ΤΟ ΑΡΧΑΙΟΒΑΚΤΗΡΙΟ *Sulfolobus solfataricus*

[1]Savino C., [2]Ναστόπουλος Β., [1]Federici L., [1]Johnson K.A., [3]Pisani F., [3]Rossi M., [1,4]Τσερνόγλου Δ.

[1]Dipartimento di Scienze Biochimiche, Università di Roma 'La Sapienza', P.le A. Moro 5, 00185 Roma, [2]Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 265 04 Πάτρα, [3]Istituto di Biochimica delle Proteine ed Enzimologia, CNR, Via Marconi 10, 80125 Napoli και [4]Τμήμα Επιστημών της Θάλασσας, Πανεπιστήμιο Αιγαίου, 81100 Μυτιλήνη

Οι οργανισμοί παράγουν μεγάλη ποικιλία DNA πολυμερασών[1] οι οποίες παίζουν κρίσιμο ρόλο στη σωστή αντιγραφή και επιδιόρθωση του DNA και ταξινομούνται, βάσει της προέλευσης και των ομοιοτήτων της πρωτοταγούς δομής τους, σε τέσσερις οικογένειες (A, B, C και X). Κρυσταλλώθηκε η DNA πολυμεράση[2] από το θερμοφιλικό αρχαιοβακτήριο *Sulfolobus solfataricus* (Ss DNA pol), η οποία ανήκει στην οικογένεια B, και η τριδιάστατη δομή της προσδιορίστηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων X με τη μέθοδο της μοριακής αντικατάστασης σε διακριτική ικανότητα 2.4 Å (R=23.98%, R_{free}=29.60%). Στο ένζυμο αυτό[3,4], αποτελούμενο από μία πολυπεπτιδική αλυσίδα 883 αμινοξέων, εντοπίζονται δύο δράσεις: δράση πολυμερισμού και διορθωτική δράση 3'→5' εξωνουκλεάσης. Η Ss DNA pol έχει μορφή δίσκου με μία κοιλότητα στο κέντρο και συγκροτείται από τρεις δομικές περιοχές: την N-τελική περιοχή, την περιοχή με δραστικότητα 3'→5' εξωνουκλεάσης και την περιοχή με δραστικότητα πολυμερισμού. Όπως στις άλλες πολυμεράσες γνωστής τριδιάστατης δομής, η δομική περιοχή πολυμερισμού της Ss DNA pol μοιάζει με ένα δεξί χέρι το οποίο απαρτίζεται από τις υποπεριοχές της παλάμης, των δακτύλων και του αντίχειρα. Η Ss DNA pol διαθέτει μετά το N-τελικό άκρο ένα επιπλέον τμήμα από δύο α-έλικες οι οποίες δημιουργούν κατ' αυτόν τον τρόπο μια επαφή μεταξύ της περιοχής της εξωνουκλεάσης και του πολυμερισμού και το γεγονός αυτό πιστεύεται ότι παίζει ρόλο στη λειτουργία του ενζύμου.

Η μελέτη έγινε με την υποστήριξη του Istituto Pasteur Fondazione Cenci Bolognetti και του CNR. Ευχαριστούμε τον Καθ. M. Brunori για το ενδιαφέρον του στην εργασία μας και τις χρήσιμες συμβουλές του.

Βιβλιογραφία

1. Kornberg, A. & Baker, T.A. (1992) *DNA Replication*, 2nd ed. New York: Freeman.
2. Nastopoulos, V., Pisani., F.M., Savino, C., Federici, L., Rossi, M. & Tsernoglou, D. (1998) *Acta Cryst*. D**54**, 1002-1004.
3. Pisani, F.M., De Martino, C. & Rossi, M. (1992) *Nucleic Acids Res*. **20**, 2711-2716.
4. Pisani, F., Manco, G., Carratore, V. & Rossi, M. (1996) *Biochemistry* **35**, 9158-9166.

THREE-DIMENSIONAL STRUCTURE OF DNA POLYMERASE FROM THE ARCHAEON *Sulfolobus solfataricus*

[1]Savino C., [2]Nastopoulos V., [1]Federici L., [1]Johnson K.A., [3]Pisani F., [3]Rossi M., [1,4]Tsernoglou D.

[1]Dipartimento di Scienze Biochimiche, Università di Roma 'La Sapienza', P. le A. Moro 5, 00185 Roma, [2]Department of Chemistry, University of Patras, 26504 Patras, [3]Istituto di Biochimica delle Proteine ed Enzimologia, CNR, Via Marconi 10, 80125 Napoli and [4]Department of Marine Sciences, University of the Aegean, 81100 Mytilene

DNA polymerases are essential for the accurate duplication and maintenance of the genetic information[1] since they are involved in DNA replication (synthetic function) and repair (exonuclease activity) and have been classified into four major families (A,B, C and X). We have crystallized[2] and determined the three-dimensional structure of the family B DNA polymerase from the thermoacidophilic archaeon *Sulfolobus solfataricus* (Ss DNA pol). This enzyme[3,4] is composed of a single polypeptide chain of 883 aa and possesses thermophilic and thermostable DNA polymerase and 3'→5' exonoclease activities. The X-ray structure of Ss DNA pol was determined by molecular replacement method to a resolution of 2.4 Å and refined to an *R*-factor of 23.98% (R_{free}= 29.60%). The overall shape of the enzyme can be described as a disc with a central hole and is folded into three structural domains: the N-terminal domain, 3'→5' exonuclease and polymerase domains. Like in the other polymerases of known structure, the polymerase domain resembles a right hand divided into the sub-domains fingers, palm and thumb. Some residues, lying in regions of poorly or completely not defined electron density, are not traced in the model. Compared to the DNA polymerases of known structure, the Ss DNA pol shows at the end of the N-terminal subdomain, just before the exonuclease domain, two extra α-helices, roughly parallel to each other, positioned at the external site of the fingers domain. In this way an unusual contact zone between the exonucleasic and the polymerasic domains is formed that is thought to have both structural and functional relevance.

This work was supported by the Istituto Pasteur Fondazione Cenci Bolognetti and CNR. We thank Prof. M. Brunori for expert advice and encouragement.

References

1. Kornberg, A. & Baker, T.A. (1992). *DNA Replication,* 2nd ed. New York: Freeman.
2. Nastopoulos, V., et al. (1998) *Acta Cryst*. D**54**, 1002-1004.
3. Pisani, F., De Martino, C. & Rossi, M. (1992) *Nucleic Acids Res*. **20**, 2711-2716.
4. Pisani, F., Manco, G., Carratore, V. & Rossi, M. (1996) *Biochemistry* **35**, 9158-9166.

ΣΥΝΔΡΟΜΟ TURNER: ΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΕΣ ΚΑΙ ΧΡΩΜΟΣΩΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΛΛΑΓΕΣ ΤΟΥ ΣΥΝΔΡΟΜΟΥ

Σεκερλή Ε., Τσίγκα Α., Σιώμου Ε., Γκατζόλα Μ., Βογιατζής Ν.

Εργαστήριο Κυτταρογενετικής Β' Παιδιατρικής Κλινικής Α.Π.Θ., Νοσοκομείο Α.Χ.Ε.Π.Α., Θεσσαλονίκη

Κατά το χρονικό διάστημα 1980-2002 προσήλθαν για εξέταση καρυότυπου στο Εργαστήριο Κυτταρογενετικής της Β' Παιδιατρικής Κλινικής Α.Π.Θ. του Νοσοκομείου Α.Χ.Ε.Π.Α. Θεσσαλονίκης, 132 άτομα ύποπτα για σύνδρομο Turner. Όλα προέρχονταν από Μακεδονία, Θεσσαλία και Θράκη. Η μελέτη των χρωμοσωμάτων έγινε με την τεχνική των ζωνώσεων G. Η ηλικία των ατόμων κυμαινόταν από 5 ημέρες έως 57 χρόνια. Ανάλογα με την ηλικία, το υλικό μας χωρίστηκε σε τρεις ομάδες. Η πρώτη ομάδα περιελάμβανε 7 νεογνά (1-30 ημερών). Παθολογικούς καρυότυπους βρήκαμε σε 6 νεογνά. Πιο συγκεκριμένα, 4 είχαν καρυότυπο 45,X, ένα είχε καρυότυπο 46,X,i(Xq) και ένα νεογνό είχε καρυότυπο 45,X/46,XY. Η δεύτερη ομάδα περιελάμβανε 37 άτομα, ηλικίας 1 μηνός έως 14 χρόνων. Παθολογικοί καρυότυποι βρέθηκαν σε 9 άτομα. Βρέθηκαν 7 άτομα με καρυότυπο 45,X, ένα άτομο με καρυότυπο 45,X/46,XX και ένα άτομο με καρυότυπο 45,X/46,XX/46,X,i(Xq). Η τρίτη ομάδα περιελάμβανε 88 άτομα. Παθολογικούς καρυότυπους βρήκαμε σε 22 άτομα. Τα 9 είχαν καρυότυπο 45,X, 5 άτομα είχαν καρυότυπο 45,X/46,XX, 4 είχαν καρυότυπο 46,Xi(Xq), 2 είχαν καρυότυπο 46,XXp-, ένα είχε καρυότυπο 46,XX,del(X)(q13→qter) και ένα άτομο είχε καρυότυπο 45,X/46,X,i(Xq) /47,X,i(Xq)i(Xq). Συγκρίνοντας την ποσοστιαία αναλογία των χρωμοσωμικών παραλλαγών του συνδρόμου Turner που βρήκαμε, μ' αυτή της διεθνούς βιβλιογραφίας, διαπιστώνουμε ότι συμφωνεί παρόλο που είχαμε μικρό δείγμα για σύγκριση. Όσον αφορά το φαινότυπο των ατόμων αυτών, σημειώνουμε τα εξής: από την 1η ομάδα των νεογνών, μόνο το περιστατικό με καρυότυπο 45,X/46,XY δεν παρουσίαζε κλινική εικόνα συνδρόμου Turner, αλλά έγινε καρυότυπος στο νεογνό αυτό, γιατί παρουσίαζε αμφίβολα έξω γεννητικά όργανα. Από τις δύο άλλες ομάδες, τυπική εικόνα του συνδρόμου Turner δεν παρουσίαζαν δύο γυναίκες με μωσαϊκισμό, καθώς και η γυναίκα με καρυότυπο 46,XX,del(X)(q13→qter).

TURNER SYNDROME: PHENOTYPIC AND CHROMOSOME VARIATIONS OF THE SYNDROME

Sekerli E., Tsiga A., Siomou E., Gatzola M., Voyiatzis N.

Cytogenetics Laboratory of the 2nd Dept. Pediatrics of Aristotle University, AHEPA Hospital, Thessaloniki

A cytogenetic study involving 132 females suspected for Turner syndrome was carried out in Cytogenetics Laboratory of the 2nd Dept. Pediatrics of Aristotle University of Thessaloniki (A.H.E.P.A Hospital) during the period 1980 – 2002. All patients came from Macedonia, Thessaly and Thrace. Chromosomes were studied using the G- banding technique. The age of our patients ranged from 5 days to 57 years old. According to their age, the patients were divided into 3 groups; the first group included 7 newborns (aged from 1 to 30 days). Abnormal karyotype was found in 6 newborns. Four newborns had a 45,X karyotype, one had a 46,X, i(Xq) karyotype and one newborn had a 45,X/46,XY karyotype. The second group included 37 individuals, aged from 1 month to 14 years old. Abnormal karyotypes were found in 9 patients. Seven patients bore 45,X karyotype, one patient had a 45,X/46,XX karyotype and one had a 45,X/46,XX/46,X,i(Xq). The third group included 88 individuals. Abnormal karyotypes were detected in 22 individuals. Nine of them had a 45,X karyotype, 5 of them had a 45,X/46,XX karyotype, 4 had a 46,X,i(Xq) karyotype, 2 had a 46,XXp- karyotype, one had a 46,XX,del(X)(q13→qter) karyotype and one had a 45,X/46,X,i(Xq)/47,X,i(Xq)i(Xq). Our percentages of the chromosome variations are in accordance with the ones mentioned in the international bibliography, although our sample was limited. As far as the patients' phenotype is concerned, we make the following remarks: from the first group of newborns, the only incident that did not present the clinical features of Turner syndrome was the one bearing the 45,X/46,XY karyotype. Cytogenetic analysis was carried out because the newborn had ambiguous external genitalia. From the other two groups, the typical phenotype of Turner syndrome was not observed in 2 women with mosaicism and in the woman bearing the 46,XX,del(X)(q13→qter) karyotype.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΕΝΟΣ Τ ΚΛΩΝΟΥ ΕΙΔΙΚΟΥ ΓΙΑ ΤΟ ΠΑΘΟ-ΓΟΝΙΚΟ ΠΕΠΤΙΔΙΟ p2340 ΤΗΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ ΘΥΡΕΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ

Σκοπελίτη Μ.[1,2], Ε. Καρράς[1], Ο. Τσιτσιλώνη[2], Π. Λυμπέρη[1]

[1]Εργαστήριο Ανοσολογίας, Τμήμα Βιοχημείας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ και [2]Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Σε προηγούμενες μελέτες είχαμε διαπιστώσει την παθογονικότητα του πεπτιδίου της ανθρώπινης θυρεοσφαιρίνης (hTg), p2340 (2340-2359), το οποίο προκαλεί πειραματική αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα (EAT) σε AKR/J ποντίκια. Κατασκευάσαμε Τ κυτταρικά υβριδώματα ειδικά για το p2340, με σκοπό να τα χρησιμοποιήσουμε σε μελέτες αντιγονοπαρουσίασης του πεπτιδίου και για την ταυτοποίηση του Τ-επιτόπου στο p2340. Σκοπός της εργασίας είναι ο χαρακτηρισμός ενός Τ κλώνου που να αναγνωρίζει το p2340. Αρχικά, από τις Τ υβριδικές κυτταρικές σειρές που προέκυψαν, η AD2 ήταν η πιο ευαίσθητη για το p2340 με ελάχιστη συγκέντρωση ενεργοποίησης 5 μg/ml. Με κυτταρομετρία ροής διαπιστώθηκε ότι μόνο το 25% των κυττάρων της σειράς εκφράζει TCR. Για το λόγο αυτό υποβάλαμε την AD2 σε υποκλωνισμό, με σκοπό την απομόνωση ενός αμιγούς πληθυσμού. Τέσσερις κλώνοι, οι A1, A2, A11 και B1 ελέγχθηκαν για την ειδικότητα και την ευαισθησία τους στο p2340. Έγιναν κυτταροκαλλιέργειες κάθε υβριδώματος, με APCs (LK352) παρουσία του p2340 και πεπτιδίου ελέγχου. Τα υπερκείμενα που συλλέχθηκαν από τις κυτταροκαλλιέργειες, ελέγχθηκαν για την παρουσία IL-2 χρησιμοποιώντας την κυτταρική σειρά CTLL (IL-2 εξαρτώμενη). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μόνο ο κλώνος A11 είναι ειδικός για το p2340 με ελάχιστη συγκέντρωση ενεργοποίησης 2,5 μg/ml. Με κυτταρομετρία ροής, το ποσοστό έκφρασης του TCR από τον κλώνο A11 έφτασε το 99% του πληθυσμού και επιβεβαιώθηκε η έκφραση του μορίου CD4. Για να εξακριβώσουμε τον MHC περιορισμό της αναγνώρισης του p2340, επαναλήφθηκαν οι κυτταροκαλλιέργειες παρουσία μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι των IA^k και IE^k μορίων MHC τάξης II. Φάνηκε ότι το p2340 είναι IE^k περιοριζόμενο, αφού παρουσία anti-IE^k παρατηρείται 75% αναστολή της ενεργοποίησης. Στη συνέχεια, θα γίνει ταυτοποίηση της ελάχιστης αλληλουχίας του Τ-επιτόπου και ο προσδιορισμός της Vβ οικογένειας του TCR του κλώνου A11.

CHARACTERIZATION OF A T-CELL CLONE SPECIFIC FOR THE PATHOGENIC PEPTIDE p2340 OF HUMAN THYROGLOBULIN

Skopeliti M.[1,2], **E. Karras**[1], **O. Tsitsilonis**[2], **P. Lymberi**[1]

[1]*Immunology Laboratory, Dept. of Biochemistry, Hellenic Pasteur Institute and* [2]*Dept. of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens*

We have previously described the pathogenicity of the human thyroglobulin peptide p2340 (aa 2340-2359) that induces experimental autoimmune thyroiditis (EAT) in AKR/J mice. Specific T-cell hybridomas for the peptide p2340 were generated in order to be used in antigen presentation and epitope mapping studies. The purpose of this study was the delineation of a T-cell clone specific for the p2340 peptide. One of the T-cell hybridomas generated, AD2, was selected as the most sensitive for p2340, with minimum concentration of activation at 5 μg/ml. Using flow cytometry we observed that only 25% of the cells expressed TCR. Towards the isolation and identification of a sensitive population, we sub-cloned AD2 hybridoma. Four clones, A1, A2, A11 and B1, were tested for specificity and sensitivity against p2340. Cell cultures were set for each hybridoma, using LK352 as antigen presenting cells (APCs) in the presence of p2340 or an irrelevant peptide. Production of IL-2 in the collected supernatants, was tested using the CTLL line (IL-2 dependent). Clone A11 was found to be the only specific clone for p2340 peptide, with minimum concentration of activation at 2,5 μg/ml. Furthermore; by flow cytometry we observed that the $CD4^+$ A11 clone has an average of 99% TCR expression. Finally, to determine the MHC restriction, we performed individual cell cultures for each clone, in the presence of monoclonal antibodies against the IA^k and IE^k MHC class II molecules. It was shown that p2340 is IE^k-restricted, since the presence of anti-IE^k inhibited T-cell clone activation by 75 %. In future studies, A11 clone will be used in T-cell epitope mapping of the p2340 peptide and in the characterization of its Vβ gene family.

ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ cis-ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΩΝ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ ΣΤΑ ΠΡΩΙΜΑ ΓΟΝΙΔΙΑ ΤΟΥ ΧΟΡΙΟΥ ΣΤΟ *Bombyx mori*

Σουρμελή Σ., Κραβαρίτη Λ., Λεκανίδου Ρ.

Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 157 01 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. Με βάση το αναπτυξιακό στάδιο της χοριογένεσης στο οποίο εκφράζονται, διακρίνονται σε πρώιμα, ενδιάμεσα και όψιμα. Οι μηχανισμοί που υπαγορεύουν τη χρονοειδική έκφρασή τους δεν είναι επαρκώς γνωστοί. Η παρούσα εργασία αποσκοπεί στον εντοπισμό και τη μελέτη των υπευθύνων *cis*-στοιχείων που ρυθμίζουν τη χρονοειδική έκφραση των πρώιμων γονιδίων. Πειράματα *in vitro* ανάλυσης οδήγησαν στον εντοπισμό ενός νέου *cis*-στοιχείου με συναινετική αλληλουχία $T^{T}/_{G}NNG^{T}/_{C}AA^{T}/G/_{C}$. Η αλληλουχία αυτή αλληλεπιδρά με μία πρωτεΐνη μοριακού μεγέθους 70 kD (pX2), η οποία πιστεύεται ότι ανήκει στην οικογένεια των CCAAT/enhaner binding protein (C/EBP) μεταγραφικών παραγόντων. Η πρόσδεση της pX2 πρωτεΐνης ακολουθεί συγκεκριμένο αναπτυξιακό πρότυπο: δεσμεύεται με μεγαλύτερη ένταση στα πρώιμα στάδια της χοριογένεσης, εν συγκρίσει με τα όψιμα, πιθανότατα εξαιτίας της μεγαλύτερης συγκέντρωσής της στα στάδια αυτά. Μία δεύτερη περιοχή στους υποκινητές των εν λόγω γονιδίων είναι υπεύθυνη για την πρόσδεση ενός GATA παράγοντα. Η GATA πρωτεΐνη εμφανίζει αντίστροφο αναπτυξιακό πρότυπο. Προσδένεται με μεγαλύτερη συγγένεια, στους υπό μελέτη υποκινητές, στα όψιμα απ' ότι στα πρώιμα χοριογενετικά στάδια. Πιθανές συνεργατικές ή ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ της GATA και της υποθετικής C/EBP πρωτεΐνης συμβάλλουν στη ρύθμιση της μεταγραφής των πρώιμων γονιδίων του χορίου.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτείται από τον Ε.Λ.Κ.Ε.

IDENTIFICATION AND ANALYSIS OF *cis*-REGULATORY ELEMENTS IN EARLY CHORION GENES OF THE SILKMOTH *Bombyx mori*

Sourmeli S., Kravariti L., Lecanidou R.

Department of Biochemistry and Mol. Biology, Faculty of Biology, University of Athens, 157 01 Athens

In the silkmoth *Bombyx mori* the genes that code for chorion proteins are expressed solely in the follicular cells surrounding the oocyte, following a temporal-specific pattern. According to their developmental stage of expression, chorion genes are characterized as early, middle and late. The mechanisms which are responsible for their transcriptional regulation are not adequately clarified. The present study aims at identifying and analysing *cis* regulatory elements responsible for the specific expression of early genes. A new cis-element, $T^{T}/_{G}NNG^{T}/_{C}AA^{T}/G/_{C}$, was identified using *in vitro* experiments. This sequence interacts with a 70 kD protein (pX2); there is strong evidence that pX2 belongs to the CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP) family of transcription factors. pX2 binding exhibits a characteristic developmental profile, showing greater affinity in the early stages of choriogenesis than in later stages. This may be a consequence of its higher concentration during these stages. A second regulatory site on the early chorion gene promoters is responsible for GATA protein binding. Its binding exhibits an opposite developmental pattern with major intensity in late stages rather than early choriogenic stages. We conclude that potential synergistic or antagonistic interactions between GATA and C/EBP factors are implicated in the transcriptional regulation of early chorion genes.

This research is supported by ELKE funds.

ΣΤΡΕΣ ΞΗΡΑΣΙΑΣ ΣΤΟ ΣΙΤΑΡΙ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΑΚΑ

Σπερδούλη Η., Μουστάκας Μ.

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη

Το CO_2 εισέρχεται στα φύλλα μέσω των στομάτων, τα οποία μεταβάλλουν το άνοιγμά τους, ανάλογα με την ένταση του φωτός, τη συγκέντρωση του CO_2 και την υδατική οικονομία του φύλλου. Σε έντονο φωτισμό όταν τα στόματα είναι ανοιχτά, η αφομοίωση του CO_2 είναι έντονη και τα καλλιεργούμενα φυτά αναπτύσσονται καλά. Ταυτόχρονα όμως, αρκετό ποσό ύδατος εξατμίζεται από τα φύλλα. Το ποσοστό της εξάτμισης εξαρτάται από τις ατμοσφαιρικές συνθήκες και την ακτινοβολία, όπως επίσης και από την αντοχή των φύλλων.

Η προμήθεια νερού στα φύλλα εξαρτάται από το ποσό του νερού στο έδαφος και την απορροφητική δύναμη του εδάφους και της ρίζας. Όταν μειώνεται η πρόσληψη νερού το φυτό χάνει την κατάσταση σπαργής του μειώνοντας την αύξηση των φύλλων, απορροφώντας λιγότερη φωτεινή ακτινοβολία και κλείνοντας τα στόματα με αποτέλεσμα την μείωση της αφομοίωσης του CO_2. Αποτέλεσμα όλων αυτών είναι η μείωση της αύξησης των φυτών.

Τι συμβαίνει στο μεταβολισμό των φυτών

Το στρες της ξηρασίας αυξάνει το ποσοστό της αναπνοής στο σιτάρι και μειώνει το ποσοστό της 'καθαρής' φωτοσύνθεσης σε σχέση με την αφομοίωση του CO_2. Το στρες ξηρασίας αυξάνει επίσης την εσωτερική συγκέντρωση του CO_2 και τη σκοτεινή αναπνοή.

Το σημείο αντιστάθμισης του CO_2 αυξάνει με το στρες της ξηρασίας, ενώ χαμηλή συγκέντρωση O_2 η οποία μειώνει σημαντικά τη φωτοαναπνοή δεν μπορεί να την εμποδίσει. Η αγωγιμότητα των στομάτων και των κυττάρων του μεσοφύλλου μειώνεται επίσης από την έλλειψη ύδατος.

Ύψηλότερες συγκεντρώσεις CO_2 δεν μπορούν να αυξήσουν την αφομοίωση του CO_2 σε χαμηλό υδατικό δυναμικό γιατί διαταράσσεται ο μεταβολισμός.

Συμπέρασμα: Το κλείσιμο των στομάτων μειώνει την αφομοίωση του CO_2 και αυξάνει τη φωτοαναπνοή ως ποσοστό της αφομοίωσης και μειώνει τη βιομάζα των φυτών όπως το σιτάρι, δηλ. στα C_3 φυτά.

CARBON METABOLISM AND WATER STRESS

Sperdouli E., Moustakas M.

Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece

CO_2 enters the leaf through stomata, which change their resistance according to light intensity, CO_2 supply and water balance of the leaf. When stomata are open in strong light, CO_2 fixation is rapid and crops grow well. However, considerable amounts of water evaporate from the leaves. The rate of evaporation depends on atmospheric conditions and radiation, as well as the leaf resistance.

Water supply to the leaf depends on the amount of water in the soil and its potential, the rate at which water moves to the root surfaces and therefore the amount of root and volume of soil exploited. When the water supply decreases the plant loses turgidity, slowing growth of the leaves, which absorb less radiation, and closing stomata, so less CO_2 is assimilated. These events cause slower growth.

What happens to the plant's metabolism

Water stress increases the proportion of respiration in wheat and decreases net photosynthesis when compared with assimilation. Water stress increases CO_2 evolution into CO_2 free air and dark respiration.

Compensation concentration increases with water stress and low O_2 that greatly decreases photorespiration does not prevent it. Stomatal and "mesophyll" conductances decrease with stress.

A greater external CO_2 concentration cannot stimulate assimilation at low water potential because metabolism is damaged.

Conclusion: Closing stomata decreases carbon fixation and increases photorespiration as a proportion of assimilation and depletes reserves of plants such as wheat e.g. C_3 plants.

ΑΝΟΣΟΕΝΤΟΠΙΣΗ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ NF-200 (200Kd) ΤΩΝ ΝΕΥΡΟΪΝΙΔΙΩΝ ΣΤΗ ΜΕΛΑΙΝΑ ΟΥΣΙΑ ΤΟΥ ΜΕΣΕΓΚΕΦΑΛΟΥ ΧΡΟΝΙΩΝ ΑΛΚΟΟΛΙΚΩΝ

Σπηλιόπουλος Π., Μ. Χρυσάνθου-Πιτερού, Μ. Ισιδωρίδου-Ράδοβιτς

Ερευνητική Μονάδα Ιστοχημείας και Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας, Ψυχιατρική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Αιγινήτειο Νοσοκομείο

Προηγούμενες μελέτες σε νεκροτομικό υλικό εγκεφάλων χρόνιων αλκοολικών (Chrysanthou-Piterou & Issidorides, 1999) έδειξαν την παρουσία της ουμπικουιτίνης (UBQ) κατά μήκος της μεμβράνης των ντοπαμινικών (DA) νευρώνων της μέλαινας ουσίας (SN) του μεσεγκεφάλου. Η UBQ ανήκει στις πρωτεΐνες του στρες και έχει ως κύριο ρόλο την προστασία του κυττάρου από μη αναστρέψιμες μετα-βολικές βλάβες. Η παρουσία της στη κυτταρική μεμβράνη των DA νευρώνων δηλώνει σημαντική δυσλειτουργία στη συναπτική δραστηριό-τητα των κυττάρων αυτών, που είναι η βασική πηγή παραγωγής ντοπαμίνης, νευροδιαβιβαστού που παίζει σημαντικό ρόλο στο «σύστημα αμοιβής» του εγκεφάλου (reward system). Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η ταυτοποίηση της πρωτεΐνης που έχει υποστεί μεταβολικές βλάβες, από την κατάχρηση του αλκοόλ, και προκαλεί την εμφάνιση της UBQ στους ντοπαμινικούς νευρώνες. Δεδομένου ότι, σε πειραματικά μοντέλα ζώων, το αλκοόλ επιδρά στις πρωτεΐνες των νευροϊνιδίων (Nestler et al., 1994) επιλέξαμε να μελετήσουμε την εντόπιση της πρωτεϊνικής υπομονάδος 200 kD των νευροϊνιδίων στο μεσεγκέφαλο χρόνιων αλκοολικών. Μελετήθηκε η SN σε νεκροτομικό υλικό μεσεγκεφάλων 10 χρόνιων αλκοολικών και 5 φυσιολογικών μαρτύρων. Σε τομές παραφίνης εφαρμόστηκε το πολυκλωνικό αντίσωμα anti-neurofilament 200kD σε συγκέντρωση 1:200, σύμφωνα με τη μέθοδο βιοτινυλιωμένου δευτερογενούς αντισώματος – στρεπταβιδίνης – αλκαλικής φωσφατάσης. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν άτυπες συσσωρεύσεις της ανοσοαντίδρασης στο περικάρυο των DA νευρώνων καθώς και σε άξονες της περιοχής SN των χρόνιων αλκοολικών. Το εύρημα της άτυπης συγκέντρωσης των νευροϊνιδίων στο περικάρυο δηλώνει ότι εμποδίζεται η φυσιολογική αξοπλασματική ροή και εξ'αυτού η κανονική συναπτική δραστηριότητα των DA νευρώνων, με αποτέλεσμα την αποδιοργάνωση της λειτουργίας του «συστήματος αμοιβής» στον χρόνιο αλκοολισμό.

IMMUNOLOCALIZATION OF THE NEUROFILAMENT PROTEIN NF-200 (200kD) IN THE SUBSTANTIA NIGRA OF THE MIDBRAIN OF CHRONIC ALCOHOLICS

Spiliopoulos P., M. Chrysanthou-Piterou, M. Issidorides-Radovich

Research Unit of Histochemistry & Electron Microscopy, Department of Psychiatry, University of Athens, Eginition Hospital

Previous studies of postmortem material from brains of chronic alcoholics (Chrysanthou-Piterou & Issidorides, 1999) have shown the presence of ubiquitin (UBQ) located along cytoplasmic membranes of the dopaminergic (DA) neurons of substantia nigra (SN) of the midbrain. UBQ belongs to the group of stress proteins and its main role is the protection of the cell from irreversible metabolic damage. Its presence along the cell membrane of the DA neurons implies significant dysfunction of synaptic activity in these neurons, which are the main source of synthesis of dopamine, the neurotransmitter of the brain's «reward system». The purpose of our present study is the identification of the protein whose metabolic damage, from the abuse of alcohol, induces the emergence of UBQ. Since, in experimental animal models, alcohol interacts with the proteins of neurofilaments (Nestler et al., 1994), we chose to study the localization of the neurofilament subunit 200kD in SN of chronic alcoholics. The material consisted of postmortem tissue from 10 chronic alcoholics and 5 control subjects. In paraffin sections we applied the polyclonal antibody anti-neurofilament 200kD in the concentration 1:200, according to the biotinylated secondary antibody - streptavidine - alkaline phosphatase method. Our results showed irregular, atypical concentrations of the immunoreaction in the perikarya of the DA neurons, and in axons in the neuropil of the SN area of chronic alcoholics. The finding of an atypical concentration of neurofilaments in the perikarya of the DA neurons implies interference with their normal axoplasmic flow and, as a corollary, of the normal synaptic activity at their terminals resulting in disruption of the function of the «reward system» in chronic alcoholism.

TMRPres2D: ΕΝΑ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΟ ΕΡΓΑΛΕΙΟ ΔΙΣΔΙΑΣΤΑΤΗΣ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗΣ ΔΙΑΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Σπυρόπουλος Ι.Χ., Λιακόπουλος Θ.Δ., Μπάγκος Π.Γ., Χαμόδρακας Σ.Ι.

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 01

Η αποπεράτωση πολλών από τις φιλόδοξες εργασίες ανάλυσης γονιδιωμάτων, συμπεριλαμβανομένου και του «Human Genome Project», έχει διαθέσει στην επιστημονική κοινότητα ένα μεγάλο αριθμό διαμεμβρανικών πρωτεϊνικών ακολουθιών. Η αδυναμία εύρεσης της τρισδιάστατης δομής τους σε ατομικό επίπεδο, τονίζει την ανάγκη ύπαρξης ενός τρόπου αφαιρετικής απεικόνισης, η οποία θα ικανοποιούσε τις εποπτικές ανάγκες τόσο της εκπαίδευσης, όσο και της έρευνας. Το TMRPres2D αυτοματοποιεί τη δημιουργία ομοιόμορφων δισδιάστατων απεικονίσεων, υψηλής ανάλυσης, οποιασδήποτε ακολουθίας διαμεμβρανικής πρωτεΐνης. Η πληροφορία για τα διαμεμβρανικά τμήματα και την τοπολογία των πρωτεϊνών, μπορεί να προέρχεται από γνωστές βάσεις πρωτεϊνικών ακολουθιών (Swissprot ή PIR) είτε από προγνωστικούς αλγορίθμους, ή ακόμα να καθορίζεται από το χρήστη. Ένα σύνολο από σημαντικές βιολογικές και φυσικές ιδιότητες είναι δυνατόν να ενσωματωθούν στην γραφική απεικόνιση. Τέτοιες είναι, πέραν της ίδιας της ακολουθίας, η υδροφοβικότητα και το ηλεκτρικό φορτίο των αμινοξικών καταλοίπων, το τυχόν πεπτίδιο οδηγητής, οι ολιγοσακχαριτικές προσθετικές ομάδες, οι μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις και οι θέσεις δέσμευσης χημικών μορίων. Το εργαλείο έχει γραφτεί στη γλώσσα Java και ως εκ τούτου είναι ανεξάρτητο λειτουργικού συστήματος. Έχει αναπτυχθεί ως αυτόνομη εφαρμογή, ενώ διατίθεται για χρήση και από το διαδίκτυο.

TMRPres2D: A COMPUTATIONAL TOOL FOR TWO-DIMENSIONAL REPRESENTATION OF TRANSMEMBRANE PROTEINS

Spyropoulos I.C., Liakopoulos Th.D., Bagos P.G., Hamodrakas S.J.

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 157 01

The completion of many ambitious genome projects, including "The Human Genome Project", has provided to the scientific community numerous transmembrane protein sequences. The lack of high-resolution three-dimensional structures for membrane proteins emphasizes the importance of producing abstractive depictions for them; these would satisfy the supervisory needs of both education and research. The 'TransMembrane protein RePresentation in 2 Dimensions' (TMRPres2D) tool, automates the creation of uniform, two dimensional, high resolution 'pictures', for any transmembrane protein sequence. The information about transmembrane regions and topology is either fetched from public protein knowledge bases (Swissprot or PIR), or emanates from predictive algorithms or may even be defined by the user. Some important biological and physical sequence attributes can be embedded in the graphic of representation. Such attributes, apart from the aminoacid sequences, include the hydrophobicity and charges of the residues, along with the presence of potential signal peptides, oligosaccharide attachments, post-translational modifications and binding sites for chemical molecules. The tool is written in the Java programming language and, consequently, is platform independent. It has been developed as a stand-alone application and is also available for use via the web.

ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΕΝΟΣ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΠΟΥ ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΕΙ ΠΙΘΑΝΟ ΑΝΤΙΜΕΤΑΦΟΡΕΑ NA^+/H^+ ΣΤΟ *Synechococcus* SP. PCC 7942

Σταματάκης Κ., Σοφιανοπούλου Β.

Ινστιτούτο Βιολογίας Ε. ΚΕ. ΦΕ "Δημόκριτος" 15310, Αγ. Παρασκευή, Αττικής

Το κυανοβακτήριο του γλυκού νερού *Synechococcus* sp. PCC 7942 εισάγει παθητικά NaCl και αποβάλλει ενεργητικά ιόντα Na^+. Η ενεργητική αποβολή των ιόντων Na^+ από το κυτταρόπλασμα επιτυγχάνεται μέσω της δράσης αντιμεταφορέων Na^+/H^+ (1, 2). Οι αντιμεταφορείς Na^+/H^+ καταλύουν την ανταλλαγή ιόντων Na^+ με H^+ διαμέσου της κυτταρικής μεμβράνης και η δράση τους εμπλέκεται σε διάφορες κυτταρικές λειτουργίες (3). Τα πρόσφατα απομονωθέντα γονίδια που κωδικοποιούν αντιμεταφορείς Na^+/H^+ από το κυανοβακτήριο *Synechocystis* sp. PCC 6803 έχουν ομόλογα στα φυτά (SOS1 και AtNHX1 από το *Arabidopsis thaliana*), στα θηλαστικά (NHEs από τον άνθρωπο) και στα βακτήρια (nhaP από το *Pseudomonas auerengiosa*) (4). Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται η κλωνοποίηση ενός γονιδίου που κωδικοποιεί πιθανό αντιμεταφορέα Na^+/H^+ από το κυανοβακτήριο *Synechococcus* sp. PCC 7942 και πειράματα που αφορούν το μοριακό χαρακτηρισμό του γονιδίου αυτού.

1. Stamatakis K, Ladas NP, Alygizaki-Zorba A, and Papageorgiou GC (1999). *Arch.Biochem. Biophys*. 370: 240-249.
2. Papageorgiou GC, Alygizaki-Zorba A, Maniou VG, and Stamatakis K (2001). Proceedings of the 12th International Congress of Photosynthesis, Brisbane, Australia.
3. Blumwald E, Aharon GS, Apse MP (2000). *Biochim Biophys Acta* 1465:140-151
4. Inaba M, Sakamoto A, and Murata N (2001). *J. Bacteriol.* 183(4): 1376-84.

CLONING AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF A GENE ENCODING A PUTATIVE NA^+/H^+ ANTIPORTER IN *Synechococcus* SP. PCC 7942

Stamatakis K., Sophianopoulou V.

Institute of Biology, NCSR "Demokritos"Aghia Paraskevi, 15310, Greece

Freshwater cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7942 imports NaCl passively and exports Na^+ actively. Na^+ extrusion mechanisms include Na^+ ion translocation and Na^+/H^+ exchange through the function of Na^+/H^+ antiporters (1, 2). Such proteins catalyze the exchange of Na^+ for H^+ across membranes and they are involved in a variety of cellular function (3). The recently isolated Na^+/H^+ antiporter genes from cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 shown to have homologues in plants (SOS1 and AtNHX1 from *Arabidopsis*), mammals (NHEs from human) and bacteria (nhaP from *Pseudomonas*) (4). In the present work we report the cloning of a gene encoding a putative Na^+/H^+ antiporter from *Synechococcus* sp. PCC 7942 and its molecular characterization.

1. Stamatakis K, Ladas NP, Alygizaki-Zorba A, and Papageorgiou GC (1999). *Arch.Biochem. Biophys*. 370: 240-249.
2. Papageorgiou GC, Alygizaki-Zorba A, Maniou VG, and Stamatakis K (2001). Proceedings of the 12th International Congress of Photosynthesis, Brisbane, Australia.
3. Blumwald E, Aharon GS, Apse MP (2000). *Biochim Biophys Acta* 1465:140-151
4. Inaba M, Sakamoto A, and Murata N (2001). *J. Bacteriol.* 183(4): 1376-84.

ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΜΕΛΑΝΟΦΟΡΩΝ ΕΚΤΡΕΦΟΜΕΝΩΝ ΦΑΓΚΡΙΩΝ (*Pagrus pagrus*, ΤΕΛΕΟΣΤΕΟΙ: ΣΠΑΡΟΕΙΔΗ) ΣΕ ΑΔΡΕΝΕΡΓΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ

[1,2]Στεριώτη Α., [2]Δερμών Κ.Ρ., [2]Ζαμπετάκη Μ., [1,2]Παυλίδης Μ., [1]Divanach P., [1,2]Κεντούρη Μ.

[1]Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας Κρήτης, Ηράκλειο
[2]Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Βιολογίας, Ηράκλειο, Κρήτη

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να μελετήσει την συγκέντρωση / διασπορά της μελανίνης λειτουργικών μελανοφόρων, στα λέπια ενήλικων φαγκριών, παρουσία μιας σειράς α- και β-αδρενεργικών αγωνιστών και ανταγωνιστών ουσιών *in vitro*.

Οι α-αγωνιστές που χρησιμοποιήθηκαν είναι η νοραδρεναλίνη, η κλονιδίνη και η φαινυλεφρίνη και οι β-αγωνιστές, μεταπροτερενόλη, φενοτερόλη, τερβουταλίνη, ισοπροτερενόλη και σαλβουταμόλη. Ως α-ανταγωνιστές χρησιμοποιήθηκαν οι: τολαζολίνη και υοχιμβίνη και ως β-ανταγωνιστές οι: προπρανολόλη και ατενολόλη. Η δράση των αγωνιστών και ανταγωνιστών μελετήθηκε στην συγκέντρωση των 10^{-5} M και 10^{-6}M, αντίστοιχα, για 15 min. Στην συνέχεια προστέθηκε νοραδρεναλίνη (10^{-5} M) για 15 min, με στόχο τον προσδιορισμό της ειδικότητας των φαρμακολογικών παραγόντων. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται αφορούν στο μέσο εκατοστιαίο ποσοστό απόκρισης έξι ραχιαίων λεπιών δύο διαφορετικών ατόμων.

Συγκέντρωση της χρωστικής των μελανοφόρων των λεπιών παρατηρήθηκε κατά την παρουσία της νοραδρεναλίνης (42%) καθώς και των α-αγωνιστών (μέγιστο: 55%, φαινυλεφρίνη). Αντίθετα, διασπορά της χρωστικής (πάνω από 95%) παρατηρήθηκε υπό την επίδραση του συνόλου των β-αγωνιστών, σε 5 min. Επίσης, παρατηρήθηκε ότι τόσο οι α- όσο και οι β-ανταγωνιστές προκαλούν διασπορά των μελανοσωμάτων σε ποσοστό πάνω από 75% των κυττάρων σε 5 min. Η προσθήκη νοραδρεναλίνης είχε σαν αποτέλεσμα τη συγκέντρωση της μελανίνης κατά 15% (φαινοτερόλη) και 42% (σαλβουταμόλη) για τους "β-αγωνιστές" και μεταξύ 59% (υοχιμβίνη) και 87% (ατενολόλη) για τους ανταγωνιστές, σε 15 min.

Τα αποτελέσματα προτείνουν ότι το νοραδρενεργικό σύστημα παίζει σημαντικό ρόλο στον έλεγχο του χρώματος του φαγκριού, μέσω των α και β αδρενεργικών υποδοχέων, ενώ η συγκέντρωση της μελανίνης των κυττάρων προκαλείται κυρίως από τους α υποδοχείς.

RESPONSE OF REARED RED PORGY (*Pagrus pagrus*, TELEOSTEI: SPARIDAE) MELANOPHORES ON ADRENERGIC DRUGS

[1,2]Sterioti A., [2]Dermon C.R., [2]Zampetaki M., [1,2]Pavlidis M., [1]Divanach P., [1,2]Kentouri M.

[1]I.M.B.C., P.O. Box 2214, GR-71003, Heraklion, Crete, [2]Department of Biology, University of Crete, P.O Box 2208, GR-71409 Heraklion, Crete, Greece

The aim of this study is to examine the melanin-aggregation/ dispersion response of the adult red porgy innervated scale melanophores to a series of α- and β-adrenergic agonist and antagonist drugs *in vitro*.

A-agonists used were norepinephrine-HCl, clonidine-HCl, L-phenylephrine-HCl and as β-agonists were used: metaproterenol hemisulfate fenoterol-HBr, terbutaline-hemisulfate, isoproterenol bitartrate and salbutamol at concentration of 10^{-5} M. As α-antagonists were used the drugs: tolazoline-HCl, yohimbine-HCl and as β-antagonists: propranolol-HCl, atenolol at concentration of 10^{-6} M. Both, agonists and antagonists were applied for 15 min. The previous treatments were immediately followed by another 15 min application with 10^{-5} M norepinephrine-HCl to arouse the maximal pigment aggregation in order to determine the specificity of the pharmacologic agents. The results presented as mean percentage response of six dorsal scales of two different individuals.

The melanin-aggregating action of scale melanophores was observed by norepinephriine (41%) and α-agonists (max: 55% to phenylephrine) while melanin-dispersing action (more than 95 %) was observed in presence of all β-agonists, at 5 min. Also, both α- and β-antagonists were found to disperse melanosomes in more than 75 % of the melanophores in 5 min. The melanophore aggregation (%) following norepinephrine application ranged between 15% (fenoterol) and 42% (salbutamol) for "beta-agonists" and between 59% (yohimbine) and 87% (atenolol) for beta antagonists, in 15 min.

These results indicate that skin coloration of red porgy (*P. pagrus*) is under the influence of noradrenergic system, via activation of alpha and beta adrenergic receptors, although it seems that mainly alpha receptors mediate melanin-aggregation response of the melanophores.

ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ ΤΗΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΗΣ ΤΟΥ ΧΟΡΙΟΥ ΤΗΣ *Ceratitis capitata*

Στεφανίδου Δ., Κωνσταντή Ο., Κενούτης Χ., Παπασιδέρη Ι., Μαργαρίτης Λ.Χ.

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Παν/μιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολις, Τ.Κ. 15784, Αθήνα

Οι υπεροξειδάσες καταλύουν τον καταβολισμό του υπεροξειδίου του υδρογόνου με στόχο την προστασία των οργανισμών από την υπεροξείδωση. Οι υπεροξειδάσες των εντόμων ανήκουν στην υποομάδα των υπεροξειδασών των ζώων με αισθητά μικρότερο αριθμό ισοενζύμων από τα φυτά. Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες του εργαστηρίου μας, ένας από τους ρόλους των υπεροξειδασών στα έντομα είναι η σκλήρυνση του χορίου μέσω της δημιουργίας δεσμών δι- και τριτυροσίνης. Η χοριογένεση κατά την οποία δημιουργείται το χόριο, λαμβάνει χώρα κατά τα στάδια 11-14 της ωογένεσης. Η παρουσία μίας υπεροξειδάσης στο χόριο της *Ceratitis capitata* έχει πρηγούμενα αποδειχθεί με βιοχημικές και ιστοχημικές μελέτες. Στην παρούσα μελέτη το ενδιαφέρον μας εστιάζεται στην μελέτη του γονιδίου που κωδικοποιεί για την υπεροξειδάση του χορίου στο έντομο αυτό και το οποίο αναφέρεται με την ονομασία. CcPO (*Ceratitis capitata* PerOxidase). Το mRNA του γονιδίου ανιχνεύθηκε με RT-PCR σε μήτρα mRNA ωοθυλακίων χοριογενετικών σταδίων (11-14). Το γονίδιο υπάρχει σε μονό αντίγραφο στο γονιδίωμα και δεν ακολουθεί το χοριονικό πρότυπο της γονιδιακής επέκτασης, όπως διαπιστώθηκε με Southern ανάλυση γονιδιωματικού DNA. Το μέγιστο της ποσότητας του mRNA του μετάγραφου του γονιδίου εντοπίζεται στο στάδιο 13 και 14 με τη μέθοδο της ημιποσοτικοποιημένης RT-PCR ενώ ανιχνεύεται στα θυλακοκύτταρα των ωοθυλακίων σε όλα τα χοριογενετικά στάδια με in situ υβριδισμό. Η ανάλυση κατά Western έδειξε διασταυρούμενη αντίδραση του anti-AePO (αντίσωμα έναντι της ομόλογης πρωτεΐνης του κουνουπιού *Aedes aegypti*) με μία ζώνη 55 kDa στο χοριονικό πρωτεϊνικό δείγμα. Τα αποτελέσματα συμφωνούν με προηγούμενες μελέτες στη *D. melanogaster* και στον *B. oleae*

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από το ερευνητικό πρόγραμμα TMR Nº ERB4061PL970047 στον καθ. Λ. Χ. Μαργαρίτη

THE GENE OF THE *Ceratitis capitata* CHORION PEROXIDASE

Stefanidou D., Konstandi O., Kenoutis C., Papassideri I., Margaritis L.H.

Dept. of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology, Univ. of Athens, Panepistimiopolis, Athens, GR-15784, Greece

Peroxidases protect organisms from oxidation by catalyzing hydrogen peroxide. Insect peroxidases are a subgroup of the mammalian peroxidases and they have less isoenzymes than the plant peroxidases. According to previous studies in our laboratory, one of the roles of the insect peroxidase is chorion hardening via the formation of di- and trityrosine bonds. The chorion is formed during choriogenesis that take place in the stages 11 to 14 of oogenesis. The presence of a peroxidase in the chorion of *ceratitis capitata* has previously been proved via biochemical and histochemical studies. In this study we were interested in studying the gene that codes for the chorion peroxidase in *C. capitata* and it is referred as CcPO gene (*Ceratitis capitata* PerOxidase). The gene has been identified via RT-PCR on follicles mRNA from choriogenic stages (11-14). The CcPO is a single copy gene and no gene amplification is occurred as determined after Southern analysis on genomic DNA. The mRNA is accumulated in stages 13 and 14 via semi-quantitative RT-PCR while it is detected in follicle cells of all choriogenic stages follicles. According to Western analysis the antiAePO (raised against the homologue protein in the mosquito, *Aedes aegypti*) a 55kDa band is observed in the chorion protein sample. Those results are in accordance with previous studies in *D. melanogaster* and *B. oleae*.

This work was supported by a TMR grant N° ERB4061PL970047 to Prof. L.H. Margaritis

ΕΠΟΧΙΑΚΗ ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΤΗΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΤΟΥ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΣΕ ΥΠΟΘΑΛΑΣΣΙΟ ΙΖΗΜΑ ΤΟΥ ΗΦΑΙΣΤΕΙΑΚΟΥ ΟΙΚΟΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΤΗΣ ΣΑΝΤΟΡΙΝΗΣ

Στραϊτούρης Α., Μεϊντάνης Χ., Καραγκούνη Α.Δ.

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 15781, Αθήνα

Το ηφαιστειακό σύμπλεγμα των νησιών της Σαντορίνης είναι το πλέον ενεργό τμήμα του ηφαιστειακού τόξου στο Νότιο Αιγαίο. Η τελική μορφή του νησιωτικού συμπλέγματος, που υπάρχει σήμερα, έχει διαμορφωθεί από παλιότερες εκρήξεις, ενώ αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι τα νησιά Παλαιά και Νέα Καμένη έχουν δημιουργηθεί από τη λάβα του ηφαιστείου. Στις θαλάσσιες περιοχές γύρω από αυτά τα δυο νησιά υπάρχουν κολπίσκοι που παρουσιάζουν πολύ υψηλές θερμοκρασίες, λόγω των υποθαλάσσιων θερμών πηγών, ενώ παράλληλα η περιεκτικότητα σε θείο και σίδηρο είναι πολύ υψηλή. Στους κρατήρες του ηφαιστείου υπάρχουν περιοχές που παρουσιάζουν πολύ μεγάλες θερμοκρασίες (85 – 95 ^{0} C), ενώ η συγκέντρωση του θείου είναι επίσης πολύ υψηλή. Περιβάλλοντα όπως η περιοχή της Σαντορίνης, που σημειωτέον είναι ένα από τα τρία που υπάρχουν παγκοσμίως, με τόσο ιδιαίτερα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά αποτελούν οικοθέσεις μικροοργανισμών οι οποίοι παρουσιάζουν βιοτεχνολογικό ενδιαφέρον, όπως θερμόφιλα βακτήρια, υπερθερμόφιλα αρχαία, θειοβακτήρια και σιδηροβακτήρια.

Από το υποθαλάσσιο ίζημα του κόλπου του Αγίου – Νικολάου στην Παλαιά Καμένη, συλλέχθηκαν 5 δείγματα κατά τη διάρκεια διαδοχικών εποχικών δειγματοληψιών, από το Μάιο του 2000 έως τον Οκτώβριο του 2001. Συνολικά 144 μεσόφιλα βακτηριακά στελέχη απομονώθηκαν και διαχωρίστηκαν σε επίπεδο είδους με βάση τα πρότυπα στελεχών όπως προκύπτουν από Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης (PCR) όπου ενισχύονται τα τμήματα που βρίσκονται μεταξύ των BOX περιοχών του προκαρυωτικού γονιδιώματος. Στην συνέχεια μελετήθηκε η εποχική κατανομή των βακτηριακών στελεχών που έδωσαν διαφορετικά πρότυπα.

SEASONAL SHIFTS OF THE BACTERIAL POPULATION IN A VOLCANIC SEDIMENT

Straitouris A., Meintanis C., Karagouni A.D.

Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, 15781, Athens

The volcanic complex of Santorini is the most active part of the South Aegean Volcanic Arc. The recent face of the complex were formed by past volcanic bursts, while Palea and Nea Kameni were created by lava. In marine sediments around those two islands there are small gulfs of very high temperature due to submarine hot springs. Sulfur and iron concentrations are very high as well. At the caldera of the volcano sediments reach temperatures as high as 95° C while sulfur concentration is very high too. The volcanic complex of Santorini is one among three environments worldwide having such special physical and chemical characteristics. Consequently, they are inhabited by microorganisms of biotechnological interest such as thermophilic bacteria, hyper thermophilic archaea, sulfobacteria and ironbacteria.

In this study we report the recovery of bacterial isolates from the submarine sediment at Agios Nikolaos gulf, Palea Kameni. We used five samples collected during May 2000 to October 2001. A total of 144 were distinguished using BOX – PCR genomic fingerprint patterns. Afterwards, the seasonal distribution of the bacterial strains that gave a different profile was studied.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΣΤΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΗΣ ΠΕΨΗΣ ΣΤΑ ΕΝΔΗΜΙΚΑ ΕΙΔΗ *Podarcis peloponnesiaca* ΚΑΙ *Podarcis gaigae* (*SAURIA: LACERTIDAE*)

Σωζόπουλος Η., Παφίλης Π. & Σ. Βαλάκος

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Πανεπιστήμιο Αθηνών,157 84 Πανεπιστημιούπολη Ζωγράφου

Η θερμοκρασία σώματος (Tb) έχει άμεση επίδραση στις φυσιολογικές λειτουργίες των εξώθερμων. Ο χρόνος διέλευσης της τροφής από τον πεπτικό σωλήνα (gut passage time, GPT) ελαττώνεται σημαντικά με την άνοδο της Tb. Εξετάζοντας τη φαινομενική πεπτική αποδοτικότητα (apparent digestibility efficient, ADE) για τα επιμέρους συστατικά της τροφής (πρωτεΐνες, σάκχαρα, λιπίδια) έχει διαπιστωθεί ότι υπάρχει εξάρτηση της ADE από την Tb , η οποία ποικίλει ανάλογα με το θρεπτικό συστατικό.

Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε η επίδραση της θερμοκρασίας στη δραστικότητα των πεπτικών ενζύμων ώστε να δικαιολογηθούν οι τιμές της ADE για τα διάφορα θρεπτικά συστατικά. Το είδος *Podarcis peloponnesiaca* προέρχεται από την Πελοπόννησο ενώ το είδος *Podarcis gaigae* από τη Σκύρο. Η δραστικότητα των ενζύμων του πεπτικού σωλήνα εξετάστηκε στις ίδιες θερμοκρασίες (20, 25 και 30ºC) που μελετήθηκαν οι ADE και GPT. Οι διαφορές στη θερμική βιολογία των δύο ειδών αντικατοπτρίζονται στα αποτελέσματα των δισακχαριτασών, κατά τα οποία εξετάστηκε η δραστικότητά της σε θερμοκρασίες από 20 μέχρι 60°C. Η μέγιστη δράση του ενζύμου για την *Podarcis gaigae* εμφανίζεται σε θερμοκρασία μεγαλύτερη από την αντίστοιχη της *Podarcis peloponnesiaca* (55°C έναντι 50°C).

Προκειμένου να εξετάσουμε αν ο παράγοντας που έχει τον κυρίαρχο ρόλο στον καθορισμό της ADE, είναι η δραστικότητα των ενζύμων ή ο GPT, πραγματοποιήθηκαν επιπλέον πειράματα για τις πρωτεάσες στα οποία για τους χρόνους επώασης λάβαμε υπόψη και τους χρόνους διέλευσης κάθε είδους. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων έδειξαν ότι η δραστικότητα στους 20°C φτάνει τα επίπεδα της ενζυμικής δράσης των 30°C, όταν ο χρόνος επώασης αποτελεί κλάσμα του GPT των 30ºC.

Σε όλες τις περιπτώσεις η μέγιστη δραστικότητα για τα πεπτικά ένζυμα παρατηρείται στο δωδεκαδάκτυλο, σε πολύ μικρότερο βαθμό στο στομάχι και σε σχεδόν μηδενικά επίπεδα στο έντερο. Σε σχέση με την θερμοκρασία η μέγιστη απόδοση παρατηρείται στους 30ºC ,ενώ η χαμηλότερη στους 20ºC. (οι χρόνοι επώασης για τους 20ºC σαν κλάσματα χρόνου των GPT στους 30ºC).

Μέρος της έρευνας χρηματοδοτήθηκε από τον Ε.Λ.Κ.Ε. του Ε. & Κ. Πανεπιστημίου Αθηνών

STUDY OF TEMPERATURES` EFFECT ON DIGESTION PROCEDURE FOR THE ENDEMIC SPECIES *Podarcis peloponnesiaca* AND *Podarcis gaigae* (*SAURIA: LACERTIDAE*)

Sozopoulos H., Pafilis P. & S. Valakos

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

Body temperature (Tb) has a direct impact on the physiology of lizards. Gut-passage time (GPT, the time from feeding to first defecation) shows negative temperature dependence. Apparent digestibility efficient (ADE, the percentage of ingested energy that is absorbed through the gut) varies in respect to the nutrient component in question (lipids, proteins and sugars) and Tb. ADE for sugars increases with increasing temperature in reverse to protein ADE that shows negative temperature relation.

In the present study we tried to approach temperatures` effect on the performance of peptic enzymes in order to explain the differences on ADE for each nutrient component for the two species in issue. Podarcis peloponnesiaca derives from Peloponnisos whereas P. gaigae lives at the insular habitat of Skyros. Digestion truck from individuals of both species was removed and separated to main parts: stomach, duodenum and intestine. Enzyme's activity was calculated for each part.

The experiment was carried out in the same thermal conditions as in experiments concerning ADE and GPT (20, 25 and 30°C) so as to compare the results. Differences concerning the thermal biology of the two species reflect on the results. The activity of the enzyme was calculated through out a range of temperatures (20 to 60°C). For P. gaigae the enzyme has maximum performance at higher temperature than in P. peloponnesiaca (55°C for P. gaigae in contrary to 50°C for P. peloponnesiaca).

In all cases the maximum performance was found in the duodenum and in much lower level in the stomach. Intestine activity was close to zero. In order to determine the factor that influences more the ADE between enzyme activity and GPT, we have carried out experiments on proteases at which the incubation time was adjusted according to the GPT. Enzyme activity at 20°C was almost level to the activity at 30°C, when the incubation time was changed as indicated by the fraction of the GPT.

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΒΑΣΗΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪ-ΝΩΝ ΓΝΩΣΤΗΣ ΤΡΙΣΔΙΑΣΤΑΤΗΣ ΔΟΜΗΣ, ΓΙΑ ΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΤΟ ΣΥΣΧΕΤΙΣΜΟ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΩΝ ΑΚΟΛΟΥΘΙΑΣ, ΔΕΥΤΕΡΟ-ΤΑΓΟΥΣ ΔΟΜΗΣ ΚΑΙ ΤΟΠΟΛΟΓΙΑΣ ΔΙΑΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ ΤΜΗΜΑΤΩΝ

Τζαβάρας Ν.Θ., Λιακόπουλος Θ.Δ., Χαμόδρακας Σ.Ι.

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 01

Οι μεμβρανικές πρωτεΐνες παίζουν βασικούς ρόλους στην κυτταρική λειτουργία και στη φυσιολογία του οργανισμού. Μελέτες υποδεικνύουν ότι ποσοστό της τάξης του 30% των γονιδίων κωδικοποιούν μεμβρανικές πρωτεΐνες, ενώ αυτές αποτελούν και στόχο των περισσότερων φαρμάκων. Ωστόσο, ο προσδιορισμός της τρισδιάστατης δομής μεμβρανικών πρωτεϊνών είναι δυσχερής εξαιτίας της δυσκολίας ανάπτυξης κατάλληλων κρυστάλλων. Αυτό είναι σημαντικό μειονέκτημα για τους αλγορίθμους πρόγνωσης της δευτεροταγούς δομής και τοπολογίας μεμβρανικών πρωτεϊνών που βασίζονται μόνο στην ακολουθία: τα σύνολα δεδομένων που χρησιμοποιούνται στην εκπαίδευσή τους βασίζονται σε ελεγχόμενης αξιοπιστίας πληροφορία. Από την άλλη, η αξία των αλγορίθμων αυτών είναι επιβεβαιωμένη και γίνεται μεγαλύτερη εξαιτίας του μεγέθους και του είδους της πληροφορίας που προκύπτει από τα προγράμματα των γονιδιωμάτων. Με κίνητρο τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας αυτών των μεθόδων δημιουργήσαμε μια βάση δεδομένων από καλά χαρακτηρισμένες μεμβρανικές πρωτεΐνες. Χρησιμοποιήσαμε όλες τις μεμβρανικές πρωτεΐνες με γνωστή τρισδιάστατη δομή κατατεθειμένη στη βάση δεδομένων PDB. Περιλάβαμε δεδομένα και σχολιασμό τόσο από τις καταχωρήσεις της PDB, όσο και από αντίστοιχες υπάρχουσες βάσεις, καθώς και αποτελέσματα διαφόρων αλγορίθμων (πχ PRED-TMR, BLAST, DSSP). Επιπλέον πραγματοποιήσαμε μελέτες της δομής και της κατανομής των αμινοξέων στα διαμεμβρανικά και μη τμήματα των πρωτεϊνών της βάσης. Όλα τα αποτελέσματα προσφέρονται σε μορφή εύκολα επεξεργάσιμη και από υπολογιστή, αυξάνοντας έτσι την εν γένει χρησιμότητα της βάσης. Η βάση δεδομένων, καθώς και εργαλεία ανάλυσης που αναπτύχθηκαν κατά την κατασκευή της, σύντομα θα είναι διαθέσιμα στο διαδίκτυο από τον ιστότοπο του εργαστηρίου μας.

DEVELOPMENT OF A DATABASE TO STUDY SEQUENCE DATA, SECONDARY STRUCTURE AND TOPOLOGY OF TRANS-MEMBRANE SEGMENTS IN MEMBRANE PROTEINS OF KNOWN 3D-STRUCTURE

Tzavaras N.Th., Liakopoulos Th.D., Hamodrakas S.J.

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 157 01

Membrane proteins play various key roles in cellular function and organism physiology. Recent studies suggest that more than 30% of the known genes may encode for membrane proteins. Furthermore, most prescription drugs target these proteins. However, structure determination of membrane proteins is difficult, due to the difficulty of growing suitable membrane protein crystals. This presents a great challenge for algorithms trying to predict membrane protein secondary structure and topology utilizing sequence data alone: the datasets that have so far been used to train such algorithms were based on questionable data. On the other hand the value of such prediction methods is imperative, due to the excess and type of data being harvested from the various genome projects. Motivated by the need to improve the efficiency of those methods a database of well-characterized membrane proteins has been developed. The database utilizes all the up to date membrane proteins with a known 3D structure deposited at PDB. It contains data and annotation from the PDB entries themselves, also from previous works on the same subject (e.g. TMPDB, MPtopo) and results of various algorithms (such as PREDTMR, BLAST, DSSP). In addition, the structure and amino acid distribution in transmembrane and non-transmembrane segments of the proteins in the database have been studied. All the results are presented in easily parsable files to improve the overall avail of the database. The database along with several analysis tools developed, will soon be available on the Internet from our lab server.

ΣΤΟΜΑΧΙΚΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΗΣ ΒΑΘΥΒΙΑΣ ΓΑΡΙΔΑΣ *Aristeomorpha foliacea* (RISSO, 1827) (DECAPODA, ARISTEIDAE) ΑΠΟ ΤΟ ΝΟΤΙΟ ΑΙΓΑΙΟ

[1]Τζώμος Θ, [1]Χαρτόσια Ν, [1]Κίτσος Μ-Σ, [2]Τσελεπίδης Α, [3]Λεονάρδος Ι, [1]Ασλάνογλου Χ, [1]Κούκουρας Α

[1]Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 541 24, Θεσσαλονίκη. [2]Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας Κρήτης, Τ.Θ. 2214, 710 03, Ηράκλειο. [3]Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 451 10, Ιωάννινα

Έγινε ανάλυση του στομαχικού περιεχομένου ενός σημαντικού αριθμού ατόμων (68 ♀♀, 132 ♂♂) του *Aristeomorpha foliacea* (Risso, 1827), τα οποία συλλέχθηκαν με συρόμενα δίχτυα το Φεβρουάριο του 2000, σε βάθη 623 - 627 m στο Κρητικό Πέλαγος.

Οι κατηγορίες λείας που αναγνωρίστηκαν είναι: Algae, Algae (Chrysophyta), Foraminifera, Porifera, Hydrozoa, Anthozoa, Mollusca (Aplacophora, Gastropoda, Bivalvia, Cephalopoda), Annelida (Oligochaeta, Polychaeta), Crustacea (Ostracoda, Nebaliacea, Decapoda Natantia, Decapoda Reptantia, Decapoda Anomura, Decapoda Brachyura, Mysidacea, Amphipoda, Cumacea, Tanaidacea), Bryozoa, Echinodermata (Echinoidea, Holothuroidea) και Chordata (Ascidiacea, Pisces).

Τα αποτελέσματα συζητούνται και συγκρίνονται με τα αντίστοιχα για το είδος αυτό από άλλες περιοχές της Μεσογείου.

STOMACH CONTENT OF THE BATHYAL SHRIMP *Aristeomorpha foliacea* (RISSO, 1827) (DECAPODA, ARISTEIDAE) FROM THE SOUTHERN AEGEAN SEA

[1]Tzomos Th., [1]Chartosia N., [1]Kitsos M.-S., [2]Tselepides A., [3]Leonardos I., [1]Aslanoglou Ch., [1]Koukouras A.

[1]Department of Zoology, School of Biology, Aristoteleio University of Thessaloniki, 541 24, Thessaloniki, Greece. [2]Institute of Marine Biology of Crete, P.O. Box 2214, 710 03, Iraklio, Greece. [3]Department of Biological Applications and Technology, University of Ioannina, 451 10, Ioannina, Greece

Stomach content analysis was carried out in a significant number of individuals (68 ♀♀, 132 ♂♂) of *Aristeomorpha foliacea* (Risso, 1827), which were collected with otter trawl in February 2000, at depths of 623 - 627 m, in the Cretan Sea.

The prey categories identified are: Algae, Algae (Chrysophyta), Foraminifera, Porifera, Hydrozoa, Anthozoa, Mollusca (Aplacophora, Gastropoda, Bivalvia, Cephalopoda), Annelida (Oligochaeta, Polychaeta), Crustacea (Ostracoda, Nebaliacea, Decapoda Natantia, Decapoda Reptantia, Decapoda Anomura, Decapoda Brachyura, Mysidacea, Amphipoda, Cumacea, Tanaidacea), Bryozoa, Echinodermata (Echinoidea, Holothuroidea) and Chordata (Ascidiacea, Pisces).

The results are discussed and compared with the corresponding, for this species, from other Mediterranean areas.

ΣΤΟΜΑΧΙΚΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΗΣ ΒΑΘΥΒΙΑΣ ΓΑΡΙΔΑΣ *Aristeus antennatus* (RISSO, 1816) (DECAPODA, ARISTEIDAE) ΑΠΟ ΤΟ ΝΟΤΙΟ ΑΙΓΑΙΟ

[1]Τζώμος Θ., [1]Χαρτόσια Ν., [1]Καράνη Ε., [1]Κυρμιτζόγλου Ι., [2]Τσελεπίδης Α., [1]Κούκουρας Α.

[1]Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 541 24, Θεσσαλονίκη. [2]Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας Κρήτης, Τ.Θ. 2214, 710 03, Ηράκλειο

Αναλύθηκε το στομαχικό περιεχόμενο 192 ατόμων (154 ♀♀, 38 ♂♂) του είδους *Aristeus antennatus* (Risso, 1816). Τα δείγματα συλλέχθηκαν με συρόμενα δίχτυα το Φεβρουάριο του 2000, σε βάθη 623 - 627 m, στο Κρητικό Πέλαγος.

Η ανάλυση του στομαχικού περιεχομένου αποκάλυψε τις παρακάτω κατηγορίες λειών: Algae (Chrysophyta), Foraminifera, Porifera, Sipuncula, Mollusca (Aplacophora, Gastropoda, Bivalvia, Cephalopoda), Annelida (Polychaeta), Crustacea (Ostracoda, Decapoda Natantia, Decapoda Brachyura, Mysidacea, Amphipoda, Cumacea, Isopoda, Tanaidacea), Bryozoa, Echinodermata (Echinoidea, Holothuroidea), Chordata (Ascidiacea, Pisces) και Απροσδιόριστα.

Οι πληροφορίες που αποκτήθηκαν συζητούνται και συγκρίνονται με τις αντίστοιχες για το είδος αυτό από άλλες περιοχές της Μεσογείου.

STOMACH CONTENT OF THE BATHYAL SHRIMP *Aristeus antennatus* (RISSO, 1816) (DECAPODA, ARISTEIDAE) FROM THE SOUTHERN AEGEAN SEA

[1]Tzomos Th., [1]Chartosia N., [1]Karani I., [1]Kirmitzoglou I., [2]Tselepides A., [1]Koukouras A.

[1]Department of Zoology, School of Biology, Aristotlean University of Thessaloniki, 541 24, Thessaloniki, Greece. [2]Institute of Marine Biology of Crete, P.O. Box 2214, 710 03, Iraklio, Greece

The stomach content of 192 individuals (154 ♀♀, 38 ♂♂) of the species *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) was analysed. The specimens were collected with otter trawl in February 2000, at depths of 623 - 627 m, in the Cretan Sea.

The stomach content analysis revealed the following prey categories: Algae (Chrysophyta), Foraminifera, Porifera, Sipuncula, Mollusca (Aplacophora, Gastropoda, Bivalvia, Cephalopoda), Annelida (Polychaeta), Crustacea (Ostracoda, Decapoda Natantia, Decapoda Brachyura, Mysidacea, Amphipoda, Cumacea, Isopoda, Tanaidacea), Bryozoa, Echinodermata (Echinoidea, Holothuroidea), Chordata (Ascidiacea, Pisces) and Unidentified.

The acquired information is compared and discussed with the corresponding, for this species, from other Mediterranean areas.

ΣΧΕΣΕΙΣ - ΔΟΜΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΣΤΟΥΣ ΜΕΤΑΦΟΡΕΙΣ ΠΟΥΡΙΝΩΝ UAPA & AZGA ΣΤΟΝ *Aspergilus nidulans*

Τουρναβίτη Σ., Διαλλινάς Γ.

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, 15781 Αθήνα. E-mail: diallina@biol.uoa.gr

Ο μεταφορέας ουρικού οξέος-ξανθίνης, UapA του *A.nidulans* είναι μέλος μιας οικογένειας μεταφορέων πουρινών-ασκορβικού (NAT) συντηρημένης από τα βακτήρια μέχρι τον άνθρωπο. Σε αυτήν την εργασία, εξετάζουμε το ρόλο της G452 της UapA, που είναι απόλυτα συντηρημένη στην οικογένεια NAT. Τα κατάλοιπα Gly προσδίδουν ελευθερία κίνησης στις α-έλικες, βασική για τη λειτουργία καναλιών ιόντων. Επιπλέον, το G452 βρίσκεται δίπλα στα Q449 και N450, που εντοπίζονται σε μια β-στροφή αναρροϊκά του 9ου διαμεμβρανικού τμήματος (TMS9) και φέρονται να παίζουν ρόλο στις επαφές με πουρίνες Οι αντικαταστάσεις, G452A, G452V και G452P δημιουργήθηκαν με κατευθυνόμενη μεταλλαξιγένεση. Πλασμίδια που έφεραν τα αντίστοιχα αλλήλια εισήχθησαν σε ένα στέλεχος *uapA*$^-$ και επιλεγμένα μετασχηματισμένα στελέχη αναλύθηκαν περαιτέρω. Η G452V είναι μια μεταλλαγή ολικής απώλειας λειτουργίας. Η G452A φαίνεται να οδηγεί σε μια λειτουργική UapA πρωτεΐνη. Ωστόσο, αναλυτικότερες φυσιολογικές και κινητικές μελέτες υποδεικνύουν ότι το UapA-G452A έχει τροποποιημένα κινητικά χαρακτηριστικά. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η παρουσία Gly στη θέση 452 δεν είναι βασική για τη λειτουργία του UapA αλλά πιθανόν να επιτρέπει εναλλακτικές επαφές με τη θέση 8 ή 9 του πουρινικού δακτυλίου. Η μεταλλαγή G452P είναι ακόμα υπό μελέτη. Ο AzgA είναι ένας άλλος μεταφορέας πουρινών του *A.nidulans*, εξειδικευμένος για την πρόσληψη αδενίνης, γουανίνης και υποξανθίνης, ο οποίος δε θεωρείται μέλος της NAT οικογένειας. Κατά τη διάρκεια ενός πειράματος μετασχηματισμού, απομονώσαμε τυχαία ένα χιμαιρικό μεταφορέα, αποτελούμενο από τμήματα AzgA και UapA. Θα προσπαθήσουμε να κλωνοποιήσουμε το χιμαιρικό γονίδιο και να ταυτοποιήσουμε τις περιοχές που είναι υπεύθυνες για τη λειτουργία και την εξειδίκευση του AzgA.

STRUCTURE-FUNCTION ANALYSIS IN UAPA & AZGA PURINE TRANSPORTERS OF *Aspergilus nidulans*

Tournaviti S., Diallinas G.

Faculty of Biology, Department of Botany, University of Athens, Panepistimioupolis, Athens 15781, Greece. Email: diallina@biol.uoa.gr

UapA, a highly specific uric acid-xanthine transporter in *Aspergillus nidulans,* is a member of a ubiquitous family of nucleobase-ascorbate transporters (NAT). In this work, we examine the role of G452 in UapA, a residue that is absolutely conserved in the NAT family. Gly residues have the unique feature of providing backbone flexibility in a-helices, acting as molecular hinges. Such a property has been shown to be critical for the functioning of an ion channel. Moreover, G452 lies next to Q449 and N450, which are located in a β-turn upstream transmembrane segment 9 (TMS9) and are proposed to play a role in contacts with purine substrates. We have made by site directed mutagenesis the following substitutions: G452A, G452V and G452P. Plasmids carrying these mutations were introduced into a *uapA*$^-$ strain and selected transformants were analyzed. G452V is a total loss-of-function mutation. Using the UapA-GFP system efforts are in progress to identify whether G452V affects the topogenesis or the function of uapA. Substistution G452A seems to result in an apparently functional UapA molecule. However, a more detailed physiological and kinetic analysis suggests that UapA-G452A has an altered kinetic behavior towards its substrates. These results suggest that although the motional property of G452 is not essential for gross UapA function, its presence might provide active site flexibility for allowing alternative contacts with position 8 of the purine ring where uric acid has a keto group.

AzgA is another purine transporter of *A. nidulans*, which transports adenine-guanine-hypoxanthine and does not belong to the NAT family. We have isolated a chimeric transporter consisting of AzgA and UapA parts. This transporter has a high capacity for hypoxanthine and guanine, and moderate capacity for adenine, uric acid and xanthine. We will discuss efforts to clone the chimeric gene and identify domains in AzgA function and specificity.

ΜΩΣΑΪΚΑ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΑ ΜΟΡΙΑ ΣΕ ΑΡΣΕΝΙΚΑ ΑΤΟΜΑ ΤΟΥ ΜΥΔΙΟΥ *Mytilus galloprovincialis*

[1]Τσαούσης Α., [1]Θεολογίδης Γ., [1]Λαδουκάκης Μ., [1,2]Ζούρος Ε.

[1]Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, 714 09 Ηράκλειο, Κρήτη, [2]Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας Κρήτης

Στα είδη Mytilidae (μύδια) συνυπάρχουν ένα μητρικώς (F) και ένα πατρικώς (M) διαβιβαζόμενο μιτοχονδριακό DNA (mtDNA) (φαινόμενο της Διπλής Μονογονικής Κληρονομικότητας, ΔΜΚ). Η διαπίστωση ότι το mtDNA του μυδιού ανασυνδυάζεται έθεσε το ερώτημα της ύπαρξης «μωσαϊκών» μορίων στον πληθυσμό (μόρια που σε μερικές περιοχές είναι M και σε άλλες F). Η υπόθεση αυτή ελέγχθηκε στο M μόριο αρσενικών ατόμων του *Mytilus galloprovincialis* εξετάζοντας τέσσερις περιοχές (COI, COIII, 16S rRNA, ND5) που καταλαμβάνουν διαφορετικά σημεία στο κυκλικό μόριο του mtDNA με τη μέθοδο RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) του προϊόντος της PCR. Διαπιστώθηκε ότι η πλειοψηφία (70%) των μορίων ήταν αμιγή M, ένα ποσοστό (10%) ήταν μωσαϊκά και τα υπόλοιπα (20%) είχαν την αλληλουχία F σε όλες τις περιοχές που εξετάσθηκαν. Τα αποτελέσματα αυτά: (α) αποδεικνύουν ότι ανασυνδυασμός γίνεται ακόμα και μεταξύ «τυπικών» F και M μορίων, όπου το ποσοστό διαφοροποίησης είναι μεγαλύτερο του 20%, (β) υποδεικνύουν την πιθανότητα ότι ένα M μόριο μπορεί να είναι λειτουργικό και όταν ακόμη κάποιες περιοχές του είναι τύπου F, και (γ) θέτουν το ερώτημα αν είναι δυνατή η μετατροπή ενός F μορίου σε M (και τανάπαλιν) με μεταφορά, μέσω ανασυνδυασμού, συγκεκριμένων τμημάτων από το ένα μόριο στο άλλο.

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

MOSAIC MOLECULES IN *Mytilus galloprovincialis* MALES

[1]Tsaousis A., [1]Theologidis I., [1]Ladoukakis E., [1,2]Zouroç E.

[1]Department of Biology, University of Crete, 714 09, Heraklion, Crete,
[2]Institute of Marine Biology of Crete

Species of the family Mytilidae (mussels) contain a maternally (F) and a paternally (M) transmitted mitochondrial genome (the phenomenon of Doubly Uniparental Inheritance, DUI). The observation that the mussel mtDNA recombines raises the possibility of presence in the population of mosaic mtDNA molecules (molecules containing pieces of sequences from both types). The possibility was tested in male gonads by examining four regions (COI, COIII, 16S rRNA, ND5) at disjoint parts of the circular molecule through RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) scoring of the PCR product. We found that the majority (70%) of molecules were pure M type, about (10%) were mosaics and the remaining (20%) had the F RFLP type in all regions examined. There results: (a) provide evidence that homologous recombination occurs even among "typical" F and M molecules whose sequences differ by more than 20%, (b) suggest that an M molecule is functional even if it contains F type sequences in several of its genes, and (c) raise the question of whether it is possible to reverse the mode of transmission of an F or an M genome through the transfer, via recombination, of specific motifs from one genome into the other.

This research is funded by G.S.R.T. (PENED 01ED42)

ΤΟ ΡΕΤΙΝΟΪΚΟ ΟΞΥ ΚΑΙ ΟΙ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΩΝ ΑΠΟΑΚΕΤΥ-ΛΑΣΩΝ ΤΩΝ ΙΣΤΟΝΩΝ ΣΤΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΙΣΤΟΝΗΣ Η1°

Τσάπαλη Δ.Σ., Σουρλίγκα Θ.Γ., Κυπραίου Κ.Π., Σέκερη-Παταργιά Κ.Ε.

Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ», Ινστιτούτο Βιολογίας

Η ιστόνη Η1° ένας ειδικός υπότυπος που ανήκει στην οικογένεια Η1 των ιστονών του συνδέτου, συσσωρεύεται κατά την τερματική διαφοροποίηση, και θεωρείται ως ένας παράγων που συμμετέχει στην αναδιαμόρφωση της χρωματίνης. Μελέτες του εργαστηρίου μας έχουν επιπλέον συνδέσει τον υπότυπο αυτό τόσο με την *in vitro* κυτταρική γήρανση όσο και με την απόπτωση. Μεταξύ των cis ρυθμιστικών στοιχείων στον υποκινητή του γονιδίου της Η1°, εντοπίζεται και ένα στοιχείο απόκρισης στο ρετινοϊκό οξύ (RARE). Το γονίδιο επάγεται και κάτω από συνθήκες υπερακετυλίωσης των ιστονών των νουκλεοσωμάτων. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της συντονισμένης δράσης του ρετινοϊκού οξέος και των αποακετυλασών των ιστονών στην έκφραση του γονιδίου της Η1°. Ως σύστημα μελέτης επιλέγεται η λευχαιμική μονοκυτταρική σειρά U937 καθώς και τα φυσιολογικά ανθρώπινα λεμφοκύτταρα περιφερικού αίματος. Οι πληθυσμοί των κυττάρων επωάζονται με ρετινοϊκό οξύ ή/και αναστολείς των αποακετυλασών των ιστονών για 24 ώρες και στη συνέχεια ακολουθεί ανοσοεντόπιση της Η1° με ειδικό μονοκλωνικό αντίσωμα. Παράλληλα γίνεται ηλεκτροφορητική ανάλυση των ακετυλιωμένων μορφών της ιστόνης Η4 ενώ μετράται και η μιτωτική ικανότητα των πληθυσμών έπειτα από σήμανση με ^{3}Η-θυμιδίνη. Τα αποτελέσματα δείχνουν πως δεν υπάρχει αύξηση στη σύνθεση της Η1° μετά από την δράση του ρετινοϊκού οξέος όπως αυτή που παρατηρείται μετά από την δράση των αναστολέων των αποακετυλασών των ιστονών. Επιπλέον η ταυτόχρονη χορήγηση ρετινοϊκού οξέος και αναστολέων των αποακετυλασών των ιστονών στην λευχαιμική κυτταρική σειρά όχι μόνο δεν οδηγεί σε περαιτέρω ενίσχυση στην έκφραση της Η1° αλλά λειτουργεί ανταγωνιστικά. Δεδομένου ότι τόσο το ρετινοϊκό οξύ όσο και οι αναστολείς των αποακετυλασών των ιστονών καθώς και ο συνδυασμός τους χορηγούνται ως φάρμακα σε περιπτώσεις οξείας μυελογενούς λευχαιμίας με στόχο το σταμάτημα του κυτταρικού κύκλου και την διαφοροποίηση των κυττάρων, έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον τα αποτελέσματα που αναφέρονται στην παρούσα μελέτη και αφορούν στη ρύθμιση της έκφρασης της ειδικής ιστόνης της διαφοροποίησης.

REGULATION OF HISTONE H1° EXPRESSION BY RETINOIC ACID AND HISTONE DEACETYLASE INHIBITORS

Tsapali D.S., Sourlingas T.G., Kypreou K.P., Sekeri-Pataryas K.E.

N.C.S.R. "DEMOKRITOS", Institute of Biology

Histone H1° is a specific linker histone subtype known to accumulate in terminally differentiating cell and/or tissue systems and is believed to be one of the many factors involved in chromatin remodeling events that occur during this process. Previous studies from our laboratory have shown a similar pattern of H1° regulation in *in vitro aging* as well as in apoptosis where extensive chromatin remodeling events are also required. H1° gene expression is regulated by a number of cis elements including a retinoic acid responsive element (RARE). In addition H1° gene transcription is also induced under conditions of chromatin hyperacetylation. The aim of this work was to study the effects of retinoic acid along with histone deacetylase inhibitors on the levels of expression of H1°. Cell cultures of the leukemic line U937 as well as freshly isolated human lymphocytes were treated with retinoic acid and/or histone deacetylase inhibitors for 24 hours and H1° was detected by Western analysis. In addition, the acetylated forms of histone H4 were analyzed using a gel electrophoresis system, which optimally separated the histone H4 acetylated forms. Moreover ^{3}H-thymidine labeling was used in order to quantitate the mitotic capacity of the cell populations. The results obtained so far do not show an increase in H1° synthesis after retinoic acid treatment. On the other hand, H1° is increased under conditions of chromatin hyperacetylation. Moreover treatment of U937 with both retinoic acid and with the histone deacetylase inhibitors led to a down regulation of H1°. The results of this study involving this unique linker histone variant closely associated with the process of differentiation are of special interest since combinations of both these agents are currently being used for treatment of certain types of leukemia in order to induce cell cycle arrest along with cell differentiation.

ΠΟΛΛΑΠΛΗ ΑΝΑΒΛΑΣΤΗΣΗ ΤΩΝ ΣΚΛΗΡΩΤΙΩΝ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *Sclerotinia sclerotiorum*

Τσαπικούνης Φ.Α., Χριστιάς Χ.

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500 Ρίο, Πάτρα

Ο μύκητας Sclerotinia sclerotiorum προσβάλλει περί τα 360 είδη φυτών που ανήκουν σε 295 οικογένειες. Σχηματίζει μαύρα, συνήθως σφαιρικά αναπαραγωγικά σωμάτια, τα σκληρώτια, με τα οποία επιβιώνει στο έδαφος για πολλά χρόνια. Η βλάστηση των σκληρωτίων, που μπορεί να είναι καρπογενής ή μυκηλιογενής, είναι συνάρτηση αρκετών παραγόντων αλλά κυρίως της υγρασίας, της θερμοκρασίας, και της παρουσίας σε μικρή απόσταση ενός υποψήφιου ξενιστή. Ένα ερώτημα που παραμένει αναπάντητο είναι εάν και κατά πόσο τα σκληρώτια έχουν την ικανότητα μιας ή πολλαπλής βλάστησης. Εάν δηλαδή ένα ήδη βλαστημένο σκληρώτιο μπορεί, κάτω από ευνοϊκές συνθήκες, να επαναλάβει την διαδικασία της βλάστησης και εάν ναι, για πόσες φορές.

Χρησιμοποιήθηκαν 100 ισομεγέθη σκληρώτια πέντε σε κάθε τρυβλίο με ελάχιστο θρεπτικό υλικό χωρίς καμία πηγή άνθρακα (minimal medium). Μετά την βλάστηση τους τα σκληρωτια μεταφέρονταν σε καινούργια τρυβλίο με το ίδιο υλικό. Η βλάστηση εθεωρείτο ολοκληρωμένη όταν κάθε σκληρώτιο σχημάτιζε αποικία διαμέτρου ενός εκατοστού. Τα πειράματα διήρκεσαν 420 ημέρες και έγιναν συνολικά 41 αλλαγές. Την 360 ημέρα (37η μεταφορά), και όταν όλα τα σκληρώτια ήταν μαλακά, τοποθετήθηκαν σε θρεπτικό υλικό PDA.

Από την 30η ημέρα (5η μεταφορά) μερικά σκληρώτια που παρήγαγαν πυκνό μυκήλιο έγιναν πολύ μαλακά. Την 81η ημέρα (14η μεταφορά) ένα ποσοστό 5% άρχισαν να διαλύονται. Την 120η ημέρα (21η μεταφορά) εμφανίστηκαν δευτερογενή σκληρώτια, την 129η ημέρα (22η μεταφορά) βλεννώδεις μάζες, ενώ την 142η ημέρα (23η μεταφορά) αποθήκια. Μετά την 252η ημέρα (31η μεταφορά) το 90% των σκληρωτίων ήσαν μαλακά. Την 360η ημέρα (37η μεταφορά) μεταφέρθηκαν σε PDA και επωάστηκαν στους 25 °C για 20 ημέρες και στην συνεχεία σε ελάχιστο θρεπτικό υλικό χωρίς παραπέρα βλάστηση.

Είναι φανερό ότι τα σκληρώτια είναι σε θέση να βλαστήσουν ασυνήθιστα πολλές φορές. Δεν έχουν όμως την ικανότητα "επαναφόρτισης" με την πρόσληψη νέων θρεπτικών ουσιών από πλούσια σε θρεπτικές ουσίες υποστρώματα για επιμήκυνση της βιωσιμότητα τους. Αυτή τους η ικανότητα πολλαπλής βλάστησης έχει σοβαρές επιπτώσεις στη βιολογία και την παθογόνο δύναμη του φυτοπαθογόνου αυτού μύκητα στη φύση.

MULTIPLE REGERMINATION OF SCLEROTIA OF THE FUNGUS *Sclerotinia sclerotiorum*

Tsapikounis F.A., Christias Ch.

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

The fungus *Sclerotinia sclerotiorum* infects more than 360 species of plants belonging to 295 families. It produces black, usually globose reproductive bodies, the sclerotia, by means of which it survives for many years in the ground. The germination of sclerotia, either carpogenic or myceliogenic, is influenced by such factors as humidity, temperature, and the presence of a near by candidate host.

Regarding sclerotium germination, a question still unanswered has to do with their ability, or lack of it, of multiple vegetation. That is to say, the ability of one already germinated sclerotium to repeat the process of germination, under favourable conditions, and if yes, for how many times. One hundred sclerotia were placed, five in each Petri dish, with minimal medium. Following germination they were transferred into new Petri dishes with the same medium. The germination was considered completed when each sclerotium formed a colony of one centimeter diameter. The experiments lasted for 420 days for a total of 41 transfers. After 360 days, (37th transfer), when all sclerotia were soft, they were placed on potato dextrose agar medium (PDA).

As early as 30 days from the inception of the experiments (5th transfer) certain sclerotia produced dense mycelium and became very soft. Eightyone days later (14th transport) a percentage 5% began to be disorganized. This disorganization of sclerotia proceeded gradually during the next 252 days when 90% of the sclerotia were soft.

About one year later (37th transport) they were transferred onto PDA and incubated at 25°C for 20 days, then transferred onto a minimal medium without further germination.

It is obvious that sclerotia are able to germinate many times. However they do not have the ability to be "recharged" by absorption of new nutrients from rich substrates in order to prolong their viability. This ability of multiple sclerotial vegetation has serious implications for the biology and the pathogenicity of this phytopathogenic fungus in nature.

ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΔΥΟ ΜΟΝΙΜΟΠΟΙΗΤΩΝ ΚΑΙ 10 ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΣΥΝΔΥΑΣΜΩΝ ΣΕ ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΜΕ ΣΚΛΗΡΩΤΙΑ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *Sclerotinia sclerotiorum*

Τσαπικούνης Φ.Α., Κεφαλιακού-Μπουρδοπούλου Μ., Χριστιάς Χ.

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500 Ρίο, Πάτρα

Το πρώτο βήμα σε μια ιστοχημική ή ιστοπαθολογική μελέτη είναι η μονιμοποίηση που σαν σκοπό έχει να σταματήσει τον κυτταρικό μεταβολισμό αφενός και να προστατέψει από μετέπειτα αλλοιώσεις αφετέρου. Στην προσπάθεια μας να διαπιστώσουμε ποιο είναι το καλύτερο για τα σκληρώτια χρησιμοποιήσαμε, τα περισσότερο χρησιμοποιούμενα, φορμαλδεΰδη (ΦΑ) και γλουταρική αλδευδη (ΓΑ) σε δέκα διαφορετικούς συνδυασμούς.

Οι παραπάνω συνδυασμοί περιελάμβαναν έναν ή και τους δυο μονιμοποιητές κάθε φορά , τοποθέτηση του ιστού από το προηγούμενο βράδυ με ή χωρίς φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα (ΦΡΔ), την τοποθέτηση του ιστού σε μονιμοποιητή για 2-4 ώρες στους 4^0 με ή χωρίς φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα (ΦΡΔ), επίσης χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω χρωστικές, μπλε του μεθυλενίου, αιματοξυλίνη, εωζίνη και η PAS.

Παρατηρώντας για αναδιπλώσεις, διαραγές στο φλοιό, διάσπαρτα κομμάτια και την εικόνα της εσωτερικής δομής του σκληρωτίου διαπιστώσαμε πως σε γενικές γραμμές και οι δυο μονιμοποιητές όπως και όλοι οι συνδυασμοί και χρωστικές έδωσαν καλά αποτελέσματα. Όμως τα καλύτερα αποτελέσματα έδωσαν η τοποθέτηση στους 4^0 για 2-4 ώρες και τα χειρότερα η φορμαλδεΰδη 3.7 και 10% με τοποθέτηση του ιστού από το βράδυ χωρίς ΦΡΔ.

Η κατάταξη από το καλύτερο προς το χειρότερο έχει ως εξής, ΓΑ 6.5% σε ΦΡΔ στους 4° για 2 ώρες, ΦΑ 4% σε ΦΡΔ στους 4° για 2ωρες, ΦΑ 4% σε ΦΡΔ για 12-15 ώρες, ΓΑ 6.5% για 12-15 ώρες, ΦΑ (15%) συν ΓΑ (2%) για 12-15 ώρες, ΦΑ (10%) συν ΓΑ (2%) για 12-15 ώρες, ΦΑ 15% για 12-15 ώρες, ΦΑ 10% για 12-15 ώρες και ΦΑ 3.7% για 12-15 ώρες.

Αναφορικά με τις χρώσεις καλύτερη εικόνα δίνει ο συνδυασμός αιματοξυλίνης και εωζίνης.

COMPARATIVE EVALUATION OF TWO FIXATIVES AND 10 DIFFERENT COMBINATIONS IN ISTOPATHOLOGIC STUDIES IN *Sclerotinia sclerotiorum* SCLEROTIA

Tsapikounis F.A., Kefaliakou-Bourdopoulou M., Christias Ch.

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

The first step in a istochemical or istopathological study is the fixation that as aim it has to stop the cellular metabolism and to protect from later alterations and infections. In our effort to establish the better for the sclerotia, we used formaldehyde (FA) and gloutaraldehyde (GA) in ten different combinations.

The combinations included one or both fixatives each time, placement of the tissue for 12-15 hours within the fixative with or without phosphate buffer (PB) in room temperature, the placement of tissue in fixative for 2-4 hours in 4^0C with or without phosphate buffer (PB) and were used as well as the following staining methylene blue, hematoxylin, eosin and PAS.

Anadiplosis of the tissue, ruptures in the rind, scattered pieces and the picture of the internal structure of the sclerotium were the criteria have been used. In general both fixatives and all the combinations and staining gave good results. However the better results gave the placement in the 4^0C for 2-4 hours and the worse the formaldehyde 3.7 and 10% with placement of the tissue for 12-15 hours without phosphate buffer.

The classification from best to the worst has as follows, GA 6.5% in PB in 4^oC for 2 hours, FA 4% in PB in 4^oC for 2 hours, FA 4% in PB for 12-15 hours, GA 6.5% for 12-15 hours, FA (15%) plus GA (2%) for 12-15 hours, FA (10%) plus GA (2%) for 12-15 hours, FA 15% for 12-15 hours, FA 10% for 12-15 hours and FA 3.7% for 12-15 hours.

In regard to the staining better results gave the combination hematoxylin and eosin.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΑΚΡΑΙΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΗΝ ΒΛΑΣΤΗΣΗ ΤΩΝ ΣΚΛΗΡΩΤΙΩΝ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *Sclerotinia sclerotiorum*

Τσαπικούνης Φ.Α., Χριστιάς Χ.

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500 Ρίο, Πάτρα

Τα σκληρωτια είναι ανθεκτικές αναπαραγωγικές δομές που επιτρέπουν στους μύκητες να διαχειμάζουν και να ξεπερνούν δυσμενείς συνθήκες εξασφαλίζοντας έτσι την επιβίωση και διαιώνιση τους. Είναι ένα σύνολο στενά συνυφασμένων υφών που στο εξωτερικό του φέρει ένα στρώμα διαφοροποιημένων κύτταρων γνωστό σαν φλοιό. Στα κύτταρα του φλοιού υπάρχει έντονη εναπόθεση μελανίνης που έχει προστατευτικό ρόλο ενάντια στην ακτινοβολία και τις προσβολές από μυκοπαράσιτα.

Η ακτινοβολία, τα μυκοπαράσιτα, περίοδοι ξηρασίας ακολουθούμενες από περιόδους διύγρανσης, η μικροχλωρίδα και η μικροπανίδα του εδάφους συμβάλλουν σημαντικά στην μείωση της βιωσιμότητας και κατ' επέκταση στο μολυσματικό δυναμικό τους. Η επίδραση άμεσης επαφής με φλόγα, των πολύ υψηλών θερμοκρασιών, του σοβαρού τραυματισμού στην βιωσιμότητα και βλάστηση των σκληρωτίων δεν έχουν μελετηθεί μέχρι τώρα. Η μελέτη αυτή έχει ιδιαίτερη σημασία δεδομένου ότι στην φύση τέτοιες ακραίες συνθήκες δεν είναι σπάνιες, όπως φυσικές και μη πυρκαγιές και προσβολή των σκληρωτίων από μυκοπαράσιτα και ζώα του εδάφους.

Υψηλή θερμοκρασία μικρής σχετικά διάρκειας και τραυματισμός του φλοιού με υαλόχαρτο δεν επηρέασαν την βιωσιμότητα αλλά αύξησαν τον ρυθμό βλάστησης των σκληρωτίων και την μετέπειτα ταχύτητα ανάπτυξης του μυκηλίου. Επίσης αύξησαν τον αριθμό, το μέγεθος και το χρόνο εμφάνισης των εξιδρωμάτων καθώς και την πυκνότητα του μυκηλίου.

Έκθεση των σκληρωτίων στους 100 ^{o}C για οκτώ ώρες δεν μείωσε το ποσοστό βλάστησης, ενώ έκθεση για 10 ώρες στην ίδια θερμοκρασία μείωσε το ποσοστό βλάστησης κατά 60%. Τα αποτελέσματα αυτά έδειξαν ότι τα σκληρώτια έχουν σημαντική ικανότητα επιβίωσης κάτω από ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες και ότι αυτό πρέπει να λαμβάνεται πάντα υπόψη σε προγράμματα ολοκληρωμένης καταπολέμησης των σκληρωτιογόνων φυτοπαθογόνων μυκήτων.

EFFECT OF EXTREME NATURAL FACTORS ON THE GERMINATION OF SCLEROTIA OF THE FUNGUS *Sclerotinia sclerotiorum*

Tsapikounis F.A., Christias Ch.

Department of Biology, University Patrases, 26500 Rio, Patras

Sclerotia are resistant, asexual reproductive structures by means of which the fungi survive for long periods of unfavorable conditions in nature. They are composed of closely interwoven hyphae surrounded by a surface layer of differentiated cells known as the rind. The rind cells are highly melanized in order to acquire further protection against radiation and mycoparasites.

Radiation, Mycoparasites, periods of drought followed from periods of wetting, soil microflora and microfauna reduce considerably the viability and the inoculum potential of the soil fungi. The effect of such extreme factors as direct contact with flame, of very high temperatures, and of serious wounding on sclerotial viability and germination have not been studied up to now. This study, therefore, is of particular importance since such extreme conditions as natural or man-set fires and attacks of the sclerotia by mycoparasites and soil animals are not infrequent in nature.

High temperature of relatively short duration and wounding of the rind with abrassives did not influence the viability but increased the rate of germination and the speed of mycelial development. The above factors also increased the number, the size and the time of appearance of exudates as well as the density of mycelium.

Exposure of sclerotia at 100°C for eight hours did not decrease the germination percentage, while exposure for 10 hours in the same temperature decreased the germination percentage by 60%. These results showed that fungal sclerotia have an inherent ability to survive under extreme environmental conditions and that this should always be taken into consideration in integrated control programs designed for the control of soil borne, sclerotium-forming phytopathogenic fungi.

ΑΡΙΘΜΗΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΔΟΜΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ ΤΩΝ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΦΥΛΟΥ ΣΕ ΑΤΟΜΑ ΜΕ ΦΑΙΝΟΤΥΠΟ ΑΡΡΕΝΟΣ

Τσίγκα Α., Σεκερλή Ε., Σιώμου Ε., Ρούσσο Ι., Βογιατζής Ν.

Εργαστήριο Κυτταρογενετικής Β' Παιδιατρικής Κλινικής Νοσοκομείο Α.Χ.Ε.Π.Α., Θεσσαλονίκη

Κατά το χρονικό διάστημα 1980-2002 μελετήθηκαν τα χρωμοσώματα 3470 ατόμων που προσήλθαν στο εργαστήριο Κυτταρογενετικής της Β' Παιδιατρικής Κλινικής Α.Π.Θ. του Νοσοκομείου Α.Χ.Ε.Π.Α. Από τα άτομα που μελετήθηκαν, 308 ήταν ύποπτα για ανωμαλίες των φυλετικών χρωμοσωμάτων (ποσοστό 8,9%). Από αυτά, τα 132 είχαν φαινότυπο θήλεος και ελέγχθηκαν για σύνδρομο Turner ή άλλη ανωμαλία των φυλετικών χρωμοσωμάτων που αφορά άτομα με φαινότυπο θήλεος, τα 164 είχαν φαινότυπο άρρενος και ελέγχθηκαν για σύνδρομο Klinefelter και τα υπόλοιπα 12 ήταν νεογνά που προσήλθαν στο εργαστήριο για καθορισμό φύλου επειδή είχαν αμφίβολα έξω γεννητικά όργανα. Από τα 164 άτομα που ελέγχθηκαν για σύνδρομο Klinefelter, παθολογικός καρυότυπος βρέθηκε σε 39 άτομα. Σε δύο από αυτά βρέθηκε δακτυλιοειδές χρωμόσωμα Χ [47, Χ,r(Χ)Υ]. Επίσης αριθμητικές ανωμαλίες φυλετικών χρωμοσωμάτων βρήκαμε και σε άτομα που προσήλθαν στο εργαστήριο για άλλες αιτίες, όπως σύνδρομο Down (48,ΧΧΥ+21), ψυχοκινητική καθυστέρηση (47, ΧΥΥ), στειρότητας ή λόγω πολλαπλών αποβολών των συζύγων τους (47,ΧΧΥ και 47,ΧΥΥ). Από τα 12 νεογνά που προσήλθαν για καθορισμό φύλου, τα 5 είχαν δηλωθεί ως άρρενα και βρέθηκε να έχουν καρυότυπο 46, ΧΧ. Στα 2 από αυτά, ο φαινότυπος άρρενος οφειλόταν σε συγγενή υπερπλασία του φλοιού των επινεφριδίων. Σ' όλες τις περιπτώσεις, η μελέτη των χρωμοσωμάτων έγινε με την τεχνική των ζωνώσεων G. Στις περιπτώσεις ανδρών με καρυότυπο 46, ΧΧ, male, έγινε περαιτέρω μοριακή ανάλυση, η οποία περιελάμβανε τον έλεγχο 12 γονιδιακών τόπων του χρωμοσώματος Υ.

NUMERICAL AND STRUCTURAL ABNORMALITIES OF SEX CHROMOSOMES IN PATIENTS WITH MALE PHENOTYPE

Tsiga A., Sekerli E., Siomou E., Rousso I., Voyiatzis N.

Cytogenetics Laboratory of the 2nd Dept. Pediatrics of Aristotle University, AHEPA Hospital, Thessaloniki

During the period 1980-2002 we studied the chromosomes of 3470 patients in the Cytogenetics Laboratory of the 2nd Dept. Pediatrics of Aristotle University of Thessaloniki (A.H.E.P.A Hospital). Among these cases, 308 were suspected for sex chromosome abnormalities, representing an overall percentage of 8,9%. 132 patients had a female phenotype and were examined for Turner syndrome, or any other sex chromosome abnormality that concerns patients with a female phenotype. 164 patients had a male phenotype and were examined for Klinefelter syndrome. The last 12 incidents were newborns with ambiguous external genitalia and were cytogenetically examined for determination of the sex. Among the 164 patients who were examined for Klinefelter syndrome, 39 bore an abnormal karyotype. Two of them had a ring chromosome X [47, X,r(X)Y]. Numerical abnormalities of sex chromosomes were also detected in male patients who proceeded in the laboratory with other indications such as, Down syndrome (48, XXY+21), psychokinetic retardation (47, XYY), infertility or because of habitual miscarriages of their wives (47, XXY and 47, XYY). Among the 12 newborns examined for sex determination, 5 had a 46, XX karyotype, although they were declared as males. In 2 of these patients, the male phenotype was due to the congenital hyperplasia of adrenals' phloem. In all cases, chromosomes were studied using the G- banding method. An additional examination, which included the molecular analysis of 12 genetic loci on chromosome Y, was carried out in patients with a 46, XX karyotype.

ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΕΤΡΑΣΩΜΙΑΣ Χ (48,XXXX) ΔΙΕΓΝΩΣΜΕΝΗ ΚΑΤΑ ΤΟΝ ΠΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟ ΕΛΕΓΧΟ

[1]Τσίγκα Α., [1]Σεκερλή Ε., [2]Πράπα Σ., [1]Βογιατζής Ν.

[1]Εργαστήριο Κυτταρογενετικής Β΄ Παιδιατρικής Κλινικής Α.Π.Θ., Νοσοκομείο Α.Χ.Ε.Π.Α., Θεσσαλονίκη. [2]Διαγνωστικό Κέντρο «Ιάκεντρο», Αγ. Βασιλείου 4, Χαριλάου, Θεσσαλονίκη

Οι ανωμαλίες των φυλετικών χρωμοσωμάτων εμφανίζονται σε αναλογία 1/400 γεννήσεις και περιλαμβάνουν τις γνωστές σε όλους μας καταστάσεις όπως 47,XXX, 47,XXY, 47,XYY, 45,X. Οι πληροφορίες μας για τις περιπτώσεις αυτές προέρχονται από την αναφορά μεμονωμένων περιστατικών που αναφέρονται στη βιβλιογραφία. Στην εργασία αυτή αναφέρουμε μια περίπτωση τετρασωμίας Χ, η οποία διεγνώσθη προγεννητικά με αμνιοπαρακέντηση. Πρόκειται για μια γυναίκα ηλικίας 42 ετών, η οποία είχε δύο υγιή κορίτσια, ηλικίας 12 και 14 χρόνων και υπεβλήθη σε αμνιοπαρακέντηση, λόγω ηλικίας, στο τέλος της 17ης εβδομάδας της κύησης. Μελετήθηκαν περίπου 45 μεταφάσεις με την τεχνική G-banding. Όλες οι μεταφάσεις είχαν 48 χρωμοσώματα, τα δύο δε επιπλέον χρωμοσώματα ήταν Χ. Ο καρυότυπος δηλαδή του εμβρύου ήταν 48,XXXX. Την 20η εβδομάδα έγινε διακοπή της κύησης. Έχουν περιγραφεί περίπου 40 περιπτώσεις ασθενών με τετρασωμία Χ. Τα άτομα αυτά δεν έχουν συγκεκριμένα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά. Το ύψος τους ποικίλλει συνήθως είναι άνω του μέσου όρου. Οι φαινοτυπικές ανωμαλίες του προσώπου είναι συνήθως ελάσσονες. Οι πιο συχνές σκελετικές ανωμαλίες είναι η συνδακτυλία και η συνοστέωση κερκίδας-ωλένης, αλλά μπορεί να είναι και πιο σοβαρές. Τα γεννητικά όργανα είναι φυσιολογικά, αλλά ενδέχεται να υπάρχει έλλειψη των δευτερογενών χαρακτήρων του φύλου. Η έμμηνος ρύση και η γονιμότητα ποικίλλουν. Έχουν αναφερθεί τρεις περιπτώσεις γυναικών με τετρασωμία Χ που έχουν τεκνοποιήσει. Η νοητική υστέρηση των γυναικών αυτών είναι χαρακτηριστική. Το διανοητικό τους πηλίκο (IQ) κυμαίνεται από 35 έως 75, αν και έχει αναφερθεί γυναίκα με μικρότερο IQ. Η περίπτωση που μελετήσαμε παρουσιάζεται λόγω της σπανιότητάς της. Στην προσιτή σε εμάς διεθνή βιβλιογραφία μέχρι το 1998, δεν υπάρχει δημοσιευμένη περίπτωση συνδρόμου 48,XXXX διαγνωσμένη προγεννητικά.

TETRASOMY X (48,XXXX): A CASE REPORT PRENATALLY DIAGNOSED

[1]Tsiga A., [1]Sekerli E., [2]Prapa S., [1]Voyiatzis N.

[1]Cytogenetics Laboratory of the 2nd Dept. Pediatrics of Aristotle University, A.H.E.P.A Hospital, Thessaloniki, [2]"IAKENTRO" Diagnostic Center, Ag. Vasiliou 4, Harilaou, Thessaloniki

Sex chromosome abnormalities occur in 1 in every 400 births. They include the familiar incidences 47,XXX, 47,XXY, 47,XYY, 45,X. Our information originate from cases reported in international bibliography. In this study, we report a case of tetrasomy X, that has been prenatally diagnosed by amniocentesis. This case refers to a 42-year-old woman who had already two healthy girls aged 12 and 14 years old. She was submitted in amniocentesis because of her age, at the end of 17th week of pregnancy. We analyzed approximately 45 metaphases using the G-banding technique. All metaphases had 48 chromosomes and the two additional chromosomes were X, which indicates that the embryo's caryotype was 48,XXXX. The pregnancy was terminated during the 20th week. 40 cases of tetrasomy X have been reported. Patients with tetrasomy X do not carry specific phenotypic features. Stature is variable; above average height is common. Facial abnormalities are usually minor. Skeletal abnormalities often consist of clinodactyly and radioulnar synostosys, but they can also be more severe. Genitalia are normal but there may be incomplete development of secondary sex characteristics. Menarche and fertility are variable; three 48,XXXX women are known to have reproduced. Mental retardation of 48,XXXX females is characteristic, the reported IQ range is 35-75. One instance of low average intelligence in an adult woman has been documented. The present case is reported due to its rareness. Until 1998, there were no reports of prenatally diagnosed 48,XXXX girl in international bibliography.

ΑΥΤΟΣΥΓΚΡΟΤΗΣΗ ΚΑΨΙΔΙΩΝ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C ΜΕΣΩ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΩΝ ΙΙΚΩΝ ΟΧΗΜΑΤΩΝ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΠΟΥ ΒΑΣΙΖΟΝΤΑΙ ΣΤΟΝ ΙΟ ΤΟΥ ΑΠΛΟΥ ΕΡΠΗΤΑ ΤΥΠΟΥ-1

Τσίτουρα Π., Γεωργοπούλου Ο., Κακκανάς Α., Μαυρομαρά Π.

Εργαστήριο Μοριακής Ιολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ
127 Βασ. Σοφίας, 115 21 Αθήνα

Ο ιός της ηπατίτιδας C (HCV) είναι ο κύριος παράγοντας οξείας ηπατίτιδας και χρόνιας ηπατικής νόσου, που μπορεί να οδηγήσει σε κίρρωση και ηπατικό καρκίνο. Ο HCV είναι ιός του οποίου το καψίδιο περιβάλλεται από φάκελο και περιλαμβάνει RNA θετικής πολικότητας, περίπου 9600 νουκλεοτιδίων. Ανήκει στο γένος *Hepacivirus* στην οικογένεια των *Flaviviridae*. Κατά τη διάρκεια της μετάφρασης παράγεται μία πολυπρωτεΐνη που πρωτεολύεται από ιικές και κυτταρικές πρωτεάσες σε δομικές και μη δομικές πρωτεΐνες. Η καψιδιακή πρωτεΐνη core εντοπίζεται στο αμινοτελικό άκρο της πολυπρωτεΐνης του ιού, είναι μία πολυλειτουργική πρωτεΐνη που εμπλέκεται σε αρκετές κυτταρικές λειτουργίες και μονοπάτια μεταγωγής σήματος, αλλά η κύρια λειτουργία της είναι ο σχηματισμός του ιικού καψιδίου. Λίγα δεδομένα υπάρχουν σχετικά με τη δομή, τις φυσικοχημικές ιδιότητες και την πορεία αυτοσυγκρότησης του ιού, καθώς ο ιός δεν πολλαπλασιάζεται ικανοποιητικά σε κυτταρικές σειρές. Η μελέτη αυτή περιλαμβάνει την κατασκευή, χαρακτηρισμό και χρήση ιικών οχημάτων έκφρασης που βασίζονται στον ιό του απλού έρπητα τύπου 1 (HSV-1) και εκφράζουν την καψιδιακή πρωτεΐνη (core) του HCV ιού. Με τα συστήματα αυτά η καψιδιακή πρωτεΐνη εκφράζεται ικανοποιητικά σε κυτταρικές σειρές και αυτοσυγκροτείται σε «HCV–like» (HCV-LPs) ιικά σωμάτια που διαθέτουν παρόμοιες ιδιότητες με τα ιικά HCV σωμάτια που κυκλοφορούν στον ορό ασθενών. Τα HCV-LPs απομονώνονται σε κλίση σουκρόζης στα κλάσματα από 1.22-1.28 g/cm^3 και έχουν διάμετρο 35-50 nm. Το σύστημα αυτό προσφέρει νέες δυνατότητες στη διερεύνηση της ϊϊκής μορφογένεσης και των αλληλεπιδράσεων μεταξύ ιού και κυττάρου-ξενιστή.

SELF-ASSEMBLY OF NUCLEOCAPSID-LIKE PARTICLES FROM HCV CORE PROTEIN EXPRESSED BY HSV-1 BASED VECTORS

Tsitoura P., Georgopoulou U., Kakkanas A., Mavromara P.

Molecular Virology Laboratory, Hellenic Pasteur Institute,
127 Vas. Sofias Avenue, 115 21 Athens

The hepatitis C virus (HCV) is a leading cause of chronic liver disease. Most infections are with mild symptoms but the virus persists in almost 80% of all patients, leading to a high risk of developing severe liver damage such as liver cirrhosis or hepatocellular carcinoma. HCV is an enveloped positive–strand RNA virus belonging to the genus of *Hepacivirus* in the family of the *Flaviridae*. The genome of HCV encompasses a single ~9600 nucleotide RNA molecule carrying one large open reading frame that is flanked by nontranslated regions. All HCV proteins are generated from a polyprotein precursor that is cleaved by cellular and viral proteases into structural and non-structural proteins. The core protein – located in the N-terminal of the HCV polyprotein- is a multifunctional protein involved in many cellular processes and signal transduction pathways, but its primary function is the formation of the viral nucleocapsid. Little is known about the physicochemical properties, the structure and the assembly of the virus due to the lack of an efficient in vitro culture system for HCV. In this study we have generated Herpes Simplex Virus type-1 (HSV-1) based vectors expressing the HCV core protein, by inserting the HCV core coding region into the HSV viral genome or HSV amplicon plasmids. HCV core was efficiently expressed in different cell lines infected with the above vectors. Most importantly, we showed that HCV core protein assembled to form HCV-like particles (HCV-LPs) possessing properties similar to the ultrastructural properties of HCV non-enveloped virions circulating in human HCV infected sera. HCV-LPs showed a buoyant density of 1.22 to 1.28 g/cm^3 in a sucrose gradient and formed spherical particles 35 to 50 nm in diameter. This system opens up new possibilities for the investigation of viral morphogenesis and virus-host cell interactions.

Η ΥΠΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΟΥ NOTCH1 ΣΤΗ ΣΥΝΑΨΗ ΚΑΙ Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΕΣΙΝΙΛΙΝΗ 1

Φάσσα Α., Φωτεινοπούλου Α., Ευθυμιόπουλος Σ.

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Ένα από τα πρώτα κλινικά συμπτώματα της Νόσου του Alzheimer είναι η αξιοσημείωτη εξασθένηση της λειτουργίας της μνήμης. Από τα μέχρι σήμερα βιβλιογραφικά δεδομένα, προκύπτει ότι η νόσος εκδηλώνεται αρχικά με τροποποιήσεις της αποτελεσματικότητας των συνάψεων του ιππόκαμπου, οι οποίες προηγούνται του νευροεκφυλισμού και ότι η συναπτική δυσλειτουργία προκαλείται από τη συγκέντρωση δυσδιάλυτων συσσωματωμάτων του πεπτιδίου του β αμυλοειδούς (Αβ). Το Αβ παράγεται από την πρόδρομη αμυλοειδική πρωτείνη (APP) με διαδοχική δράση δύο πρωτεασών, της β- και γ-σεκρετάσης. Αρχικά, η β-σεκρετάση, μια μεμβρανοσυνδεόμενη ασπαρτική πρωτεάση, απελευθερώνει τη μεγάλη εξωκυτταρική περιοχή του APP. Το εναπομένον μεμβρανοσυνδεόμενο καρβοξυτελικό άκρο, C99, αποτελεί το υπόστρωμα της γ-σεκρετάσης, η οποία καταλύει την πρωτεόλυση μέσα στη διαμεμβρανική περιοχή που οδηγεί στην απελευθέρωση του Αβ και της κυτταροπλασματικής ουράς του APP. Η ετεροδιμερής PS1 περιέχει το καταλυτικό κέντρο της γ-σεκρετάσης. Όλες οι μεταλλαγές που οδηγούν στην Οικογενή Νόσο του Alzheimer και έχουν αναγνωριστεί μέχρι σήμερα, αφορούν είτε στο APP είτε στις πρωτεάσες που καταλύουν το τελικό στάδιο της παραγωγής Αβ (PSs/γ-σεκρετάση). Δεδομένα ηλεκτρονικής μικροσκοπίας αποκάλυψαν ότι η PS1 εκφράζεται στις συνάψεις. Επιπρόσθετα, υπάρχουν αποδείξεις ότι η σηματοδότηση του Notch1 πραγματοποιείται μέσω των συνάψεων. Προκειμένου να διερευνηθεί η αλληλεπίδραση μεταξύ PS1 και Notch1 στη σύναψη, μελετήσαμε με βιοχημικές μεθόδους, τη παρουσία PS1, Notch1 και του προσδέτη του Notch1, Jagged1, σε συναπτοσώματα και μετασυναπτικές πυκνότητες εγκεφάλων ποντικού. Στα συναπτοσώματα παρατηρήθηκε σημαντικός εμπλουτισμός ενός τμήματος 70 KDa έναντι της ενδοκυτταρικής περιοχής του Notch1, όχι όμως έναντι των τμημάτων της PS1. Βρέθηκε επίσης ότι η έκφραση του Notch1 συνεντοπίζεται με αυτή της synaptophysin. Συνολικά, τα αποτελέσματα αυτά προτείνουν ότι το Notch1 συγκεντρώνεται στις προσυναπτικές απολήξεις, ενώ όπως αναμενόταν, ο προσδέτης του Notch1, Jagged1, εμπλουτίζεται σημαντικά στις μετασυναπτικές πυκνότητες. Αυτό που παραμένει να διερευνηθεί, είναι κατά πόσον το 70 KDa τμήμα του Notch1 ταυτίζεται με την ενδοκυτταρική περιοχή του Notch1, η οποία προκύπτει από ένα, εξαρτώμενο από την PS1, πρωτεολυτικό κόψιμο μεταξύ των αμινοξέων 1743 και 1744 της διαμεμβρανικής περιοχής του Notch1.

THE SUBCELLULAR DISTRIBUTION OF NOTCH1 AT SYNAPSE AND ITS INTERACTION WITH PRESENILIN 1

Fassa A., Fotinopoulou A., Efthimiopoulos S.

Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens

In its earliest clinical phase, Alzheimer's disease (AD) characteristically produces a remarkably pure impairment of memory. Mounting evidence suggests that this syndrome begins with subtle alterations of hippocampal synaptic efficacy prior to frank neuronal degeneration, and that the synaptic dysfunction is caused by diffusible oligomeric assembles of the amyloid β protein. Aβ is produced from the amyloid-β precursor protein (APP) by the sequential action of two proteases, β- and γ-secretases. First, β-secretase, a membrane-anchored aspartyl protease, sheds the large luminal/extracellular ectodomain of APP. The remaining membrane-bound C-terminal fragment, C99, then serves as a substrate for γ-secretase, which catalyzes an unusual proteolysis within the transmembrane region of APP to release Aβ. PS1 constitutes the catalytic component of γ-secretase. All FAD-causing mutations identified to date are either in the APP or are in the proteases that catalyze the final step in Aβ generation (PSs/γ-secretase). Electron microscopy data suggest that the presenilin 1 (PS1) is expressed at the synapse. In addition, there is evidence that Notch1 signals via synapses. In order to examine the putative interaction between PS1 and Notch1 at synapses, we examined, by biochemical methods, the presence of PS1, Notch1 and its ligand, Jagged1, in mouse brain synaptosomal preparations and post-synaptic densities preparations (PSDs). We found a significant enrichment of a 70 KDa anti-Notch1 intracellular domain immunoreactive fragment in mouse brain synaptosomes but no enrichment of PS1 fragments. We also found that Notch1 immunoreactivity co-localizes with that of synaptophysin. Collectively, these data suggests that Notch1 concentrates at the presynaptic terminals. In accordance, we found that the Notch1 ligand Jagged1 is significantly enriched in PSDs. However, in contrast to the electron microscopy data, we did not detect PS1 fragments in PSDs. It remains to be investigated whether the 70 KDa Notch1 intracellular domain is identical to Notch1 intracellular domain that is produced by a PS1- dependent enzymatic activity.

ΒΙΟΜΕΤΡΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΜΗΡΙΑΙΟΥ ΚΑΙ ΚΝΗΜΙΚΟΥ ΟΣΤΟΥ: ΜΕΛΕΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΣΥΓΧΡΟΝΟΥ ΣΚΕΛΕΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΜΕ ΣΤΟΧΟ ΤΟΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟ ΤΟΥ ΕΝ ΖΩΗ ΑΝΑΣΤΗΜΑΤΟΣ

Φουντουλάκης Γ., Πετρουτσά Ε. και Σ.Κ. Μανώλης

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 81 Αθήνα. E-mail: smanol@biol.uoa.gr

Τα βιομετρικά δεδομένα προσφέρουν πολλές σημαντικές πληροφορίες στην ανθρωπολογική έρευνα δίνοντας πολύτιμα στοιχεία για τους υπό μελέτη πληθυσμούς. Τα μετρικά χαρακτηριστικά του μετακρανιακού σκελετού και κυρίως των μακρών οστών, όπως του μηριαίου και της κνήμης, είναι ιδιαίτερα χρήσιμα στον υπολογισμό του αναστήματος, καθώς και άλλων δημογραφικών παραμέτρων, όπως είναι ο καθορισμός του φύλου και ο υπολογισμός της ηλικίας (θανάτου).

Στη συγκεκριμένη εργασία μελετάται η συσχέτιση του ολικού μήκους του μηριαίου και της κνήμης με διάφορα τμήματα τους. Ο στόχος της έρευνας είναι ο υπολογισμός του ολικού μέγιστου μήκους των παραπάνω οστών χρησιμοποιώντας τη μέτρηση ενός μικρότερου τμήματος οστού. Η μέθοδος έχει εφαρμοστεί από άλλους ερευνητές, με σημαντικά αποτελέσματα στον υπολογισμό του αναστήματος, σε διάφορες σκελετικές σειρές από διαφορετικές χώρες.

Λαμβάνοντας υπόψη την υπάρχουσα ποικιλομορφία μεταξύ διαφορετικών πληθυσμών καθίσταται αναγκαίο να δοκιμαστεί μια ανάλογη μέθοδος χρησιμοποιώντας ως βάση την σύγχρονη ανθρώπινη σκελετική συλλογή-αναφοράς του Εργαστηρίου Βιολογικής Ανθρωπολογίας, ώστε στη συνέχεια τα αποτελέσματά της να εφαρμοστούν στη μελέτη των αρχαίων πληθυσμών του ελλαδικού χώρου.

Από την ανάλυση των βιομετρικών δεδομένων προέκυψαν μόνον δύο εξισώσεις, που μπορούν να υπολογίσουν την «πραγματική τιμή» ενός αποσπασματικού οστού με πιθανότητα πάνω από 90%. Έτσι θεωρούμε ότι θα μπορούμε να αξιοποιούμε όλα τα θραύσματα μακρών οστών τα οποία απαντώνται συνηθέστατα στις αρχαιολογικές συλλογές και να αποκομίζουμε πολύτιμες πληροφορίες για το ανάστημα, που αποτελεί μια σημαντική δημογραφική παράμετρο.

Μέρος της έρευνας χρηματοδοτήθηκε από τον Ε.Λ.Κ.Ε. του Ε. & Κ. Πανεπιστημίου Αθηνών

FEMORAL AND TIBIAL BIOMETRIC DATA: STUDY OF A MODERN SKELETAL MATERIAL SAMPLE FOR THE CALCULATION OF LIVING STATURE

Foudoulakis G., Petroutsa E., and S.K. Manolis

Department of Animal & Human Physiology, School of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, 15781 Athens. E-mail: smanol@biol.uoa.gr

Biometric data offer a lot of information in the anthropological research giving important elements for the under study population. The biometric traits of the postcranial skeleton and mainly of the long bones, as femur and tibia, are particularly useful in the stature estimation, as well other demographic parameters, such as sexing and aging.

In this work is studied the cross-correlation of total femur and tibia length with their various parts. The objective of research is the calculation of total biggest length of these bones using the measurement of smaller parts of the bones. The method has been applied by other researchers, with important results in the stature estimation, based on fragmentary long bones in various skeletal series of different geographic origin.

Taking into consideration the existing diversity between various populations it is rendered necessary to tried a analog method using as base the modern human skeletal collection of the Laboratory of Biological Anthropology, so that the results to be applied in the study of ancient Hellenic populations.

From the analysis of biometric data resulted two equations that can calculate the "real value" of fragmentary bones with a probability that is over 90%. Thus, we consider that we could utilize all the long bone fragments, which occurred very usually in the archaeological human collections and acquire valuable information on the stature, that constitutes an important demographic parameter.

ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΚΑΤΑΛΟΙΠΩΝ CYS148 ΚΑΙ SER122 ΣΤΟ ΚΕΝΤΡΟ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΤΗΣ ΔΙΑΠΕΡΑΣΗΣ ΜΕΛΙΒΙΟΖΗΣ (MELY) ΤΗΣ *E. cloacae*

[1]Φριλίγγος Ε., [2]Kaback H.R.

[1]Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων Ιατρική Σχολή, Ιωάννινα 45110, και [2]Howard Hughes Medical Institute, Departments of Physiology and Microbiology and Molecular Genetics, Molecular Biology Institute, University of California Los Angeles, Los Angeles, CA 90095-1662

Η διαπεράση μελιβιόζης (MelY) του *Enterobacter cloacae* είναι ομόλογη της διαπεράσης λακτόζης (LacY) της *Escherichia coli* (59% ταυτότητα καταλοίπων). Οι 2 πρωτεΐνες ανήκουν στην οικογένεια συμμεταφορέων ολιγοσακχαριτών-πρωτονίου (OHS family), που είναι μέλος της Major Facilitator Superfamily (MFS). Μεταφέρουν και οι 2 το α-γαλακτοσίδιο μελιβιόζη ή το β-γαλακτοσίδιο λακτόζη ή τον μονοσακχαρίτη γαλακτόζη. Ωστόσο, η MelY μεταφέρει μεθυλ-1-θειο-β-D-γαλακτοσίδιο (TMG) με εξαιρετικά χαμηλή απόδοση σε σχέση με την LacY. Βασιζόμενοι στις ιδιότητες μιας σειράς σημειακών μεταλλαγμάτων της MelY, καταθέτουμε εδώ στοιχεία ότι το κέντρο δέσμευσης γαλακτοσιδίων συντηρείται λειτουργικά μεταξύ LacY και MelY. Συγκεκριμένα, η Cys148, κατάλοιπο που γνωρίζουμε ότι αλληλεπιδρά υδροφοβικά με το υπόστρωμα στην LacY, προτείνεται ότι έχει όμοιο ρόλο και στην MelY, βάσει της ανάλυσης των φυσικού τύπου (wt), C148A και single-Cys148 MelYs, και της αλκυλιωτικής επίδρασης του *N*-αιθυλμηλεΐμιδίου (NEM) παρουσία ή απουσία υποστρώματος. Επιπρόσθετα, η Ser122 της MelY, κατάλοιπο που αντιστοιχεί στην Ala122 που έχει δειχθεί ότι αλληλεπιδρά με το μη-γαλακτοσιδικό τμήμα του υποστρώματος στην LacY, προτείνεται ότι λειτουργεί όμοια και στην MelY, βάσει των ιδιοτήτων των S122A, S122C, S122W, S122F και S122Y MelYs. Αντικατάσταση της Ser122 με Trp, Phe ή Tyr οδηγεί σε MelY που δεν μπορεί να μεταφέρει μελιβιόζη ή λακτόζη, αλλά μεταφέρει γαλακτόζη, ενώ αντικατάσταση της Ser122 με Cys ή Ala οδηγεί σε MelY που μεταφέρει τόσο μελιβιόζη/λακτόζη όσο και γαλακτόζη, υποδεικνύοντας ότι: αύξηση του πλευρικού όγκου στην θέση της Ser122 οδηγεί σε αποκλεισμό του μη-γαλακτοσιδικού τμήματος της μελιβιόζης ή λακτόζης, αλλά δεν επηρεάζει το γαλακτοσιδικό τμήμα.

THE BINDING SITE OF *E. cloacae* MELIBIOSE PERMEASE (MELY): EVIDENCE FOR THE ROLES OF CYS148 AND SER122

[1]Frillingos E., [2]Kaback H.R.

[1]Laboratory of Biological Chemistry, University of Ioannina Medical School, Ioannina GR-45110, and [2]Howard Hughes Medical Institute, Departments of Physiology and Microbiology and Molecular Genetics, Molecular Biology Institute, University of California Los Angeles, Los Angeles, CA 90095-1662

The melibiose permease (MelY) of *Enterobacter cloacae* is a close homologue of the lactose permease (LacY) of *Escherichia coli* (59% identity of residues). The two proteins belong to the oligosaccharide-H^+ symporter family (OHS family), a member of the Major Facilitator Superfamily (MFS). They both transport the α-galactoside melibiose or the β-galactoside lactose or the monosaccharide galactose. However, MelY tranports methyl-1-thio-β-D-galactoside (TMG) porly relative to LacY. Here, based on the properties of a series of site-directed mutants, we report evidence for functional conservation of the galactoside binding site between LacY and MelY. In particular, Cys148, a residue known tointeract hydrophobically with substrate in LacY, is postulated to retain the same role in MelY, based on transport analysis of wild-type (wt), C148A and single-Cys148 MelYs, and analysis of the effect of *N*-ethylmaleimide (NEM) in the presence or absence of ligand. Furthermore, Ser122 of MelY, a residue aligned with Ala122 that has been shown to interact with the non-galactosyl moiety of substrate in LacY, is postulated to have a similar role in MelY, based on the transport profiles of S122A, S122C, S122W, S122F and S122Y MelYs. Replacement of Ser122 with a bulky residue (Trp, Phe, or Tyr) completely abolishes lactose or melibiose transport, but not galactose transport, while replacement of Ser122 with Cys or Ala results in a MelY that transports both the 2 disaccharides and the monosaccharide galactose. These data are consistent with the interpretation that the inhibition caused by a bulky side-chain replacement at Ser122 is due to steric hinderance against the non-galactosyl part of lactose or melibiose, while the galactosyl part remains unaffected.

ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΕΝΩΝ ΜΟΡΦΩΝ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ BRI ΜΕ ΤΗ BACE

Φωτεινοπούλου Α., Πουλόπουλος Α., [1]Ghiso J., Ευθυμιόπουλος Σ.

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών. [1]Department of Psychiatry, University of New York, USA

Οι βρετανικού και δανέζικου τύπου άνοιες είναι δύο αυτοσωμικές επικρατείς ασθένειες που οφείλονται σε μεταλλαγή του γονιδίου *BRI2* (ή *Itm2*). Οι μεταλλαγές αυτές, ένας διπλασιασμός δέκα νουκλεοτιδίων και μία μεταλλαγή λήξης, οδηγούν σε έκφραση μεγαλύτερης πρόδρομης πρωτεΐνης και στη απελευθέρωση, μετά από πρωτεόλυση, των πεπτιδίων ADan και ABri, που συσσωρεύονται στον εγκέφαλο των ασθενών. Κατ' αυτό ομοιάζουν με άλλες νευροεκφυλιστικές ασθένειες (Alzheimer), όπου επίσης παρατηρείται συσσώρευση πεπτιδίων, που θεωρούνται ότι προκαλούν την εμφάνιση των ασθενειών αυτών. Η μελέτη της πρωτεΐνης BRI και των πεπτιδίων ADan και ABri, πιστεύεται ότι θα βοηθήσει στην κατανόηση των μηχανισμών ανάπτυξης και εξέλιξης νευροεκφυλιστικών ασθενειών καθώς και της σχέσης μεταξύ αμυλοειδογένεσης και νευρωνικής δυσλειτουργίας. Ως ένα πρώτο βήμα για τη μελέτη της πρωτεΐνης BRI και των μεταλλαγμένων μορφών της, σημάναμε τις πρωτεΐνες αυτές τοποθετώντας τον επίτοπο myc στο αμινοτελικό άκρο τους. Στη συνέχεια, μελετήσαμε την αλληλεπίδραση των BRI με τις πρωτεΐνες που εμπλέκονται στη νόσο Alzheimer όπως την πρόδρομη πρωτεΐνη του αμυλοειδούς (APP) και τη β-σεκρετάση (BACE). Πειράματα συν-ανοσοκατακρήμνισης έδειξαν ότι η φυσική και οι μεταλλαγμένες μορφές της BRI αλληλεπιδρούν με το APP. Επίσης βρέθηκε ότι μόνο η BRI που φέρει τη μετάλλαξη τύπου Δανίας αλληλεπιδρά με την BACE. Περαιτέρω μελέτες βρίσκονται σε εξέλιξη ώστε να διευκρινιστεί η φυσιολογική σημασία αυτών των αλληλεπιδράσεων και τελικά να διαλευκανθεί ο μηχανισμός νευρο-εκφυλισμού.

Αυτή η εργασία χρηματοδοτήθηκε από την American Health Assistance Foundation, την Ευρωπαϊκή κοινότητα (Ερευνητικό πρόγραμμα DIADEM), και το Πανεπιστήμιο Αθηνών (Ερευνητικό πρόγραμμα Καποδίστριας).

DIFFERENTIAL INTERACTION OF BRI MUTATED FORMS WITH BACE

Fotinopoulou A., Poulopoulos A., [1]Ghiso J., Efthimiopoulos S.

Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens. [1] Department of Psychiatry, University of New York, USA

Familial British (FBD) and Danish (FDD) dementias are two autosomal dominant neurodegenerative disorders associated with a mutation of the *BRI2* (or *Itm2*) gene. The mutations that cause these disorders are a decamer duplication and a stop codon mutation resulting in an extended precursor protein and the release of the amyloidogenic fragments ADan and ABri accumulating on patients brains. The latter is also seen in Alzheimer's disease, as well as other neurodegenerative disorders, where peptide deposition is believed to result in the appearance of these diseases. Understanding the behaviour of the BRI protein and the resulting peptides will shed light on the pathogenesis of neurodegenerative diseases and on the link between amyloidogenesis and neuronal dysfunction. A first step for studying BRI and its mutated forms, was to insert a myc tag on the amino-terminus of the BRI proteins. Next, we studied the interaction of BRI with Alzheimer's disease associated proteins and more specifically with amyloid precursor protein (APP) and β-secretase (BACE). Co-immuno-precipitation experiments showed that wild type and mutated forms of BRI interact with APP. We also found that only Danish Bri interacts with BACE. Further studies are being performed in order to elucidate the physiological role of the above interactions and clarify the neurodegeneration mechanism.

This work was funded by the American Health Assistance Foundation, European Union (DIADEM Research Project), and the University of Athens (Kapodistrias Research grant).

ΠΥΡΗΝΟΣΚΕΛΕΤΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΣΕ *in vitro* ΓΗΡΑΣΜΕΝΟΥΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥΣ ΙΝΟΒΛΑΣΤΕΣ

Χανδρής Π., Κλέτσας Δ.

Εργαστήριο Κυτταρικού Πολλαπλασιασμού και Γήρανσης, Ινστιτούτο Βιολογίας ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος, Αθήνα 15310

Η κυτταρική γήρανση *in vitro* είναι μια μη αντιστρεπτή κατάσταση αναστολής του κυτταρικού κύκλου η οποία συνοδεύεται από γενικευμένες αλλαγές τόσο της γονιδιακής έκφρασης, όσο και της κυτταρικής δομής. Ιδιαίτερα, οι πυρήνες των γηρασμένων ινοβλαστών παρουσιάζουν σημαντική απόκλιση από το τυπικό ελλειψοειδές σχήμα και χαρακτηρίζονται από μεγέθυνση, βαθιές αυλακώσεις του πυρηνικού φακέλου και περιπεπλεγμένη χρωματίνη. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η έκφραση πρωτεϊνών του πυρηνικού φακέλου σε μεταγραφικό, μεταφραστικό και μετα-μεταφραστικό επίπεδο. Συγκεκριμένα, εξετάσθηκαν οι μεταβολές στην έκφραση των λαμινών τύπου A/C και B, καθώς και πρωτεϊνών οι οποίες συνδέονται με αυτές και συγκεκριμένα των ισομορφών της πρωτεΐνης Lap2 (Lamina Associated Polypeptide 2). Η σύγκριση των γηρασμένων κυττάρων με ασύγχρονα πολλαπλασιαζόμενα νεαρά κύτταρα, κυττάρα που έχουν ανασταλλεί στη φάση Go του κύκλου, αλλά και καρκινικά κύτταρα (ινοσαρκώματος) κατέδειξε σημαντικές διαφορές στα επίπεδα έκφρασης των πρωτεϊνών αυτών καθώς και αλλαγές σε μετα-μεταφραστικό επίπεδο οι οποίες συνεισφέρουν στον μοναδικό γηρασμένο φαινότυπο. Τέλος, χρησιμοποιώντας χιμαιρικές κατασκευές με την πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη (GFP), μελετήθηκε η χωροχρονική κατανομή νεοσυντιθέμενων λαμινών A/C, B1 B2 καθώς και των πρωτεϊνών LBR (Lamin B Receptor) και της Lap2b και ο ρόλος τους στο φαινότυπο του γηρασμένου πυρήνα.

Η εργασία αυτή έχει υποστηριχθεί από το ΙΠΕ Κύπρου (πρόγραμμα 41/2001)

KARYOSKELETAL CHANGES IN REPLICATIVE SENESCENT HUMAN FIBROBLASTS

Handris P., Kletsas D.

Laboratory of Cell Proliferation and Ageing, Institute of Biology NCSR Demokritos, Agia Paraskevi Athens, Greece 15310

Replicative senescence is a cell cycle state where the cell commits itself to irreversible arrest. Senescence is accompanied by global changes in gene expression and also by dramatic alterations in cell and nuclear shape. Senescent fibroblastic nuclei appear malformed, deteriorating from the typical ovoid shape, with deep invaginations, lobulations and convoluted chromatin. In the present study, by using northern analysis, western blots in one and 2-dimensions and confocal microscopy, we examined the expression and biochemical status of nuclear envelope proteins, namely Lamins A/C and B and the Lamina-Associated Polypeptide 2 beta (Lap2b). By comparing asynchronous, Go arrested, and senescent fibroblasts, as well as fibrosarcoma cells, we have observed major differences on the expression of these proteins at the RNA and protein level, as well as on their posttranslational status, that attribute to the unique senescent phenotype. Finally, by using GFP chimeras, we investigated the spatiotemporal distribution of newly synthesized Lamins A/C, B, LBR (LaminB receptor) and Lap2b, as well as their effect upon the senescent nuclear phenotype.

This work was financially supported by Cyprus IPE (project 41/2001)

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ ecNOS4 ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ ΣΥΝΘΕΤΑΣΗΣ ΤΟΥ ΜΟΝΟΞΕΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΑΖΩΤΟΥ ΜΕ ΠΡΟΟΔΟ ΤΗΣ ΕΚΠΤΩΣΗΣ ΤΗΣ ΝΕΦΡΙΚΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΠΟΛΥΚΥΣΤΙΚΗ ΝΟΣΟ ΤΩΝ ΝΕΦΡΩΝ

[1]Χατζηπαναγή Δ., [1]Χρίστου Γ., [1]Βασιλάκου Μ., Γκανά Α., Κατσούρη Λ., [2]Ζηρογιάννης Π., [1]Λάμνησου Κ.

[1]Τομέας Γενετικής & Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα. [2]Νεφρολογική κλινική, Περιφερειακό Νοσοκομείο «Γ. Γεννηματάς»

Το μονοξείδιο του αζώτου (NO) το οποίο παράγεται από L-αργινίνη παρουσία της ενδοθηλιακής συνθετάσης του μονοξειδίου του αζώτου θεωρείται ότι αποτελεί σημαντικό παράγοντα στην νεφρική λειτουργία. Ένας πολυμορφισμός 4 ή 5 επαναλήψεων 27 ζευγών βάσεων στο εσώνιο 4 του γονιδίου ecNOS4 που κωδικοποιεί για την ενδοθηλιακή συνθετάση, έχει θεωρηθεί ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας. Στην εργασία αυτή μελετήσαμε τον πολυμορφισμό ecNOS4 σε ασθενείς με πολυκυστική νόσο των νεφρών οι οποίοι είχαν φτάσει σε τελικό στάδιο νεφρικής ανεπάρκειας (ΝΑ). Τα αποτελέσματα μας έδειξαν ότι οι συχνότητες των γονοτύπων aa, ab, bb του πολυμορφισμού ecNOS4 που παρατηρήθηκαν στους ασθενείς με ADPKD και σε υγιή άτομα του γενικού πληθυσμού δεν είναι σημαντικά διαφορετικές (έλεγχος X^2). Η συγκριτική μελέτη των γονοτύπων των ασθενών σε σχέση με την εξέλιξη της νεφρικής ανεπάρκειας (χρονικό διάστημα από την εμφάνιση της νεφρικής βλάβης μέχρι το τελικό στάδιο ΝΑ) έδειξε ότι τα άτομα που είναι φορείς του γονιδίου a φτάνουν πιο γρήγορα σε τελικό στάδιο ΝΑ. Συμπεραίνουμε ότι το αλληλόμορφο a του πολυμορφισμού ecNOS4 αποτελεί παράγοντα ρίσκου για πιο γρήγορη έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας σε ασθενείς με ADPKD.

Η εργασία χρηματοδοτήθηκε από το ΕΛΚΕ του Πανεπιστημίου Αθηνών

ENDOTHELIAL NITRIC OXIDE SYNTHASE INTRON 4 POLYMORPHISM INFLUENCE THE PROGRESSION OF RENAL DISEASE IN ADPKD PATIENTS

[1]Xajipanagi D., [1]Christou J., [1]Vasilakou M., [1]Gana A., [1]Katsouri L., [2]Ziroyiannis P., [1]Lamnissou K.

[1]Department of Genetics, Faculty of Biology, University of Athens, Greece.
[2]Dept of Nephrology "G. Gennimatas" Hospital, Athens

Nitric oxide (NO) is thought to be an important factor in the deterioration of renal function. A variable number tandem 27-bp repeat in intron 4 of the endothelial nitric oxide synthase (ecNOS) gene has been found to affect the plasma levels of NO metabolites. Two alleles are of varied frequencies in different populations (a and b). We studied the association of this polymorphism in ESRD patients with autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD). Our results indicate that ecNOS4 polymorphism does not show any association with the development of end-stage renal disease in this population. However, examination of the dada as regards progression to ESRD within five years or within longer than five years after clinical diagnosis of ADPKD patients who carried the a allele.

ΣΥΜΒΟΛΗ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΧΛΩΡΙΔΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΒΛΑΣΤΗΣΗΣ ΠΑΡΑΚΤΙΩΝ ΘΙΝΩΝ ΤΗΣ ΚΥΠΡΟΥ

[1]Χατζηχαμπής Α.Χ., [2]Baker R.M., [1]Δελλά Α.

[1]Ινστιτούτο Γεωργικών Ερευνών, Τ.Κ. 22016, 1516 Λευκωσία, Κύπρος
[2]University of Glamorgan, School of Applied Sciences, Pontypridd CF37 1DL, UK

Οι παράκτιες θίνες της Κύπρου έχουν υποστεί μεγάλες πιέσεις τις τελευταίες δεκαετίες κυρίως λόγω της ραγδαίας τουριστικής ανάπτυξης. Στην παρούσα εργασία αντικείμενο μελέτης αποτελεί το παράκτιο οικοσύστημα θινών του αγροκτήματος Αγίου Νικολάου, στη χερσόνησο Ακρωτηρίου, που είναι ένα από τα σημαντικότερα εναπομείναντα στην Κύπρο. Παρουσιάζει μια αξιόλογη χλωρίδα αλλά και βλάστηση. Η περιοχή έχει μελετηθεί με έρευνα πεδίου χρησιμοποιώντας τη μέθοδο δειγματοληψιών με τη βοήθεια εσχάρων συστηματικά χωροθετημένες σε κάθετες με την ακτογραμμή διατομές, την άνοιξη και το καλοκαίρι του 1998. Έχει καταγραφεί επίσης η γεωμορφολογία των διατομών. Για τη ανάλυση της ζώνωσης της βλάστησης τα αποτελέσματα των διατομών ταξινομήθηκαν σε ζώνες με τη βοήθεια στατιστικού πακέτου (SAS). Μέσα σε μια έκταση μόνο 5 ha αμμοθινών έχουν προσδιοριστεί 65 φυτικά taxa τα οποία ανήκουν σε 30 διαφορετικές οικογένειες και με άφθονη παρουσία 5 σπάνιων ειδών της κυπριακής χλωρίδας. Σύμφωνα με το δείκτη ποικιλότητας Shannon παρουσιάζεται μεγαλύτερη ποικιλότητα την άνοιξη σε σχέση με το καλοκαίρι αλλά και σημαντική εποχικότητα στο οικοσύστημα με τον υπολογισμό του συντελεστή ομοιότητας Sorensen. Η βλάστηση στο οικοσύστημα παρουσιάζει μια σημαντική ζώνωση που εξαρτάται από περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως είναι οι εναέριες εναποθέσεις αλάτων και η περιεκτικότητα του εδάφους σε θρεπτικά, σε συνδυασμό με τη γεωμορφολογία και τις φυσιολογικές προσαρμογές των διαφόρων φυτικών taxa. Η σχεδόν μονοσήμαντη διαφοροποίηση της βλάστησης από την ακτογραμμή προς το εσωτερικό φαίνεται ξεκάθαρα με την κατασκευή του τριγωνικού πίνακα του συντελεστή ομοιότητας Czekanowski. Τα φυτικά taxa έχουν ταξινομηθεί σε 3 ομάδες φυτών ανάλογα με την απόσταση τους από την ακτογραμμή. Τα είδη *Agropyron junceum* (L.) P. Beauv., *Echium angustifolium* Mill., *Pancratium maritimum* L., συσχετίζονται με τη χαρακτηριστική γεωμορφολογία των θινών των αρχικών σταδίων και όχι με την απόσταση από την ακτογραμμή. Η παρούσα εργασία είναι η πρώτη μελέτη της χλωρίδας και βλάστησης της συγκεκριμμένης περιοχής.

CONTRIBUTION TO THE KNOWLEDGE OF THE FLORA AND VEGETATION OF COASTAL SAND DUNES OF CYPRUS

[1]Hadjichambis A.Ch., [2]Baker R.M., and [1]Della. A.

[1]Agricultural Research Institute of Cyprus, P.O. 22016, 1516 Nicosia, Cyprus.
[2]University of Glamorgan, School of Applied Sciences, Pontypridd CF37 1DL, UK

The coastal sand dune ecosystem of the St. Nicolaos in the Akrotiri peninsula is one of the most significant remnants in Cyprus. It presents remarkable flora and vegetation. Transect approach was adopted in this study with systematic quadrat sampling in each transect situated from the tide mark inland. In order to analyse the zonation of the vegetation the results were categorised in zones using the statistical package SAS. In an area of only 5 ha, 65 species have been recorded belonging to 30 families. Five rare for Cyprus flora species were recorded as abundant. According to Shannon Diversity Index, there is greater diversity in spring than in summer but also significant seasoning of the ecosystem according to the Sorensen coefficient of similarity. The vegetation of the ecosystem presents a remarkable zonation, which depends on environmental factors such as the aeolian salt deposition and the availability of soil nutrients in combination with the geomorphology, the presence of competitive plants and the physiological characteristics of the plant taxa. The almost clear directional change of the vegetation, from the tide mark inland, can be seen in the similarity half-matrix of Czekanowskis coefficient. Depending on the distance from the tidemark the plant taxa were classified in 3 groups. *Agropyron junceum* (L.) P. Beauv., *Echium angustifolium* Mill. and *Pancratium maritimum* L., were correlated with the characteristic geomorphology of the initial stages of the dune systems and not with their distance form the tidemark. The present work is the first study related to the flora and vegetation of the particular area.

ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΑΠΕΙΛΟΥΜΕΝΩΝ ΑΜΜΟΘΙΝΙΚΩΝ ΟΙΚΟΤΟΠΩΝ ΤΗΣ ΚΥΠΡΟΥ

[1]Χατζηχαμπής Α.Χ., [2]Δημόπουλος Π., [3]Γεωργίου Κ.

[1]Ινστιτούτο Γεωργικών Ερευνών, Τ.Κ. 22016, 1516 Λευκωσία, Κύπρος
[2]Τμήμα Διαχείρισης Περιβάλλοντος και Φυσικών Πόρων, Σχολή Διαχείρισης Περιβάλλοντος & Επιχειρήσεων, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Σεφέρη 2, 30100 Αγρίνιο. [3]Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 15784

Οι παράκτιες θίνες της Κύπρου έχουν ελάχιστα μελετηθεί. Κατά τα τελευταία 3 χρόνια έγινε συστηματική εργασία πεδίου με σκοπό τον εντοπισμό των αμμοθινικών οικοτόπων και τη διενέργεια φυτοκοινωνιολογικών δειγματοληψιών. Παράκτιες θίνες εντοπίζονται σε 22 περιοχές της ελεύθερης Κύπρου και ταξινομούνται στους τύπους Mainland dunes (θίνες ανυψωμένων ακτών) και Lagoon-bay barrier dunes (επιμήκεις-φραγμώδεις θίνες) με βάση το σύστημα κατάταξης των Μεσογειακών θινών του van der Maarel, (-1995). Για την ανάλυση και περιγραφή των επιμέρους φυτοκοινοτήτων της αμμοθινικής βλάστησης και της οικολογίας και του δυναμικού τους σταδίου έγιναν συνολικά 388 φυτοληψίες με βάση τη φυτοκοινωνιολογική μέθοδο του Braun-Blanquet, ενώ καταγράφονταν και οι παρατηρούμενες πιέσεις και απειλές. Οι σημαντικότερες περιοχές αμμοθινικών συστημάτων στο ελεύθερο τμήμα της Κύπρου απαντούν στη χερσόνησο του Ακρωτηρίου, στη χερσόνησο του Ακάμα και στην περιοχή της Πόλις-Γιαλιάς. Στις διάφορες μονάδες βλάστησης που διακρίθηκαν στις παρακτίες θίνες της Κύπρου έχουν καταγραφεί 14 τύποι ανθρωπογενών δραστηριοτήτων. Στην πλειονότητά τους αποτελούν τοπικές ή εσωτερικές απειλές που παρατηρούνται στις περιοχές των αμμοθινικών οικοτόπων (π.χ. ποδοπάτημα, οδήγηση, βόσκηση), ενώ άλλες είναι εξωτερικές απειλές και αποτελούν πρακτικές και χρήσεις που εντοπίζονται μακρυά από τους οικοτόπους των θινών αλλά έχουν επιπτώσεις στη δομή και τις λειτουργίες τους (π.χ. αλλαγή υδατικών συνθηκών με την κατασκευή φραγμάτων). Στα επιμέρους συστήματα αμμοθινών παρατηρούνται διαφορές ως προς την αφθονία των απειλών που δέχονται, αλλά και ως προς τη συχνότητα και την ένταση των παρατηρούμενων απειλών. Η περιοχή του Lady's mile χαρακτηρίζεται από τη μεγαλύτερη αφθονία απειλών. Η απόθεση σκουπιδιών και μπάζων, το ποδοπάτημα και η οδήγηση θεωρούνται οι πιο σημαντικές απειλές στους οικότοπους των παρακτίων θινών. Η ερευνητική αυτή εργασία γίνεται στα πλαίσια της διδακτορικής διατριβής του πρώτου συγγραφέα με θέμα «Βιολογία διατήρησης απειλούμενων οικοτόπων της Κύπρου» που εκπονείται στο Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών από το 2000.

CONSERVATION BIOLOGY OF THREATENED COASTAL SAND DUNE HABITATS OF CYPRUS

[1]Hadjichambis A.Ch., [2]Dimopoulos P., [3]Georghiou K.

[1]Agricultural Research Institute of Cyprus, P.O. 22016, 1516 Nicosia, Cyprus.
[2]Department of Environmental and Natural Resources Management, School of Natural Resources and Enterprises Management, University of Ioannina, Seferi 2, GR-30100 Agrinio.
[3]Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 15784.

The coastal sand dunes of Cyprus have insufficiently been studied till now. The last three years following a plan of a systematic fieldwork, we worked on the localization and identification of the dunes all over the country, as well as on the phytosociological research of their vegetation. Coastal sand dunes are present in 22 sites taking into account the free Southern part of Cyprus, which can be classified in two types according to Van der Maarel' s (1995) classification system of the Mediterranean dunes. 388 relevés have been carried out for vegetation description and analysis, the identification of anthropogenic pressures and impacts as well. The most important sand dune ecosystems are occurring in Akrotiri peninsula, in Akamas peninsula and in the Polis-Yialia area. 14 types of anthropogenic pressures and impacts have been identified in the sand dune ecosystems of Cyprus, the majority of which are internal or topic activities and impacts on each site (e.g. trampling, driving and grazing) although others are external confined in distance from the dune site but able to affect their structure and processes (e.g. dam construction). The sand dune ecosystems of Cyprus differ on the abundance of impacts affecting them and in the frequency and intensity of the impacts as well. Lady's mile site is characterized by the highest abundance of impacts. Waste dumping, trampling and driving are considered as the most important impacts as far as concerns their frequency of occurrence and their intensity. This research is part of a PhD research project entitled as "Conservation Biology of threatened habitats of Cyprus" carried out in the University of Athens since 2000.

ΕΥΤΡΩΤΟΙ ΠΑΡΑΚΤΙΟΙ ΟΙΚΟΤΟΠΟΙ ΤΗΣ ΚΥΠΡΟΥ

[1]Χατζηχαμπής Α.Χ., [1]Παρασκευά-Χατζηχαμπή Δ., [1]Δελλά Α., [2]Δημόπουλος Π., [3]Γεωργίου Κ.

[1]Ινστιτούτο Γεωργικών Ερευνών, Τ.Κ. 22016, 1516 Λευκωσία, Κύπρος. [2]Τμήμα Διαχείρισης Περιβάλλοντος και Φυσικών Πόρων, Σχολή Δια-χείρισης Περιβάλλοντος & Επιχειρήσεων, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Σεφέρη 2, 30100 Αγρίνιο. [3]Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Ε & Κ Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 15784

Οι παράκτιοι οικότοποι (ενδιαιτήματα) στην Κύπρο χαρακτηρίζονται ως εύτρωτοι με βάση κριτήρια όπως είναι η σπανιότητα, το ποσοστό κάλυψης σε εθνικό και ευρωπαϊκό επίπεδο και η ένταση των ανθρωπογενών δραστηριοτήτων και επεμβάσεων με αρνητικές επιδράσεις όπως η τουριστική ανάπτυξη, η αμμοληψία, η υπερβόσκηση, οι πυρκαγιές, η διατάραξη της υδρολογικής ισορροπίας (π.χ. με την κατασκευή φραγμάτων), η κατάτμηση των οικοτόπων, καθώς επίσης φυσιολογικών ιδιαιτεροτήτων των ειδών, σε ορισμένες περιπτώσεις, έχει ως αποτέλεσμα την υποβάθμιση και απώλεια αρκετών παράκτιων φυσικών οικοτόπων. Αντικείμενο μελέτης στο παρόν ερευνητικό πρόγραμμα αποτελούν οι εύτρωτοι αμμοθινικοί και αλοφυτικοί οικότοποι της παράκτιας ζώνης της Κύπρου που χρήζουν άμεσης προτεραιότητας για προστασία και διατήρηση. Για την ανάλυση και περιγραφή της βλάστησης των εύτρωτων ενδιαιτημάτων της Κύπρου, ακολουθείται η φυτοκοινωνιολογική μέθοδος του Braun - Blanquet με τη διενέργεια δειγματοληψιών τη σύνθεση και τη συνταξινόμησή τους. Σε κάθε δειγματοληπτική επιφάνεια εκτιμάται η πληθοκάλυψη (αφθονία-κάλυψη) με βάση την 9-βαθμη κλίμακα κατά Braun-Blanquet. Η εκπόνηση πιλοτικού διαχειριστικού σχεδίου, η πρόταση σχεδίου παρακολούθησης της κατάστασης των οικοτόπων της περιοχής μελέτης, η δημιουργία της βάσης δεδομένων CYPRUS(VEG) για τη βλάστηση της Κύπρου, η πρόταση καθιέρωσης ενός Πρότυπου Ημιποσοτικού Συστήματος Διερεύνησης του Βαθμού Τρωτότητας, είναι μερικές από τις δέσμες εργασίας της έρευνας αυτής. Οικότοποι παρακτίων θινών εντοπίστηκαν σε 22 περιοχές στο ελεύθερο τμήμα της Κύπρου, ενώ αλοφυτικοί οικότοποι σε δύο μόνο περιοχές. Διαφορετικοί τύποι περιοριστικών παραγόντων έχουν καταγραφεί σε κάθε τύπο οικοτόπου.

Το ερευνητικό πρόγραμμα ΕΥΟΙΚΟ χρηματοδοτείται από το Ίδρυμα Προώθησης Έρευνας Κύπρου και διεξάγεται στις εγκαταστάσεις του Ινστιτούτου Γεωργικών Ερευνών.

VULNERABLE COASTAL HABITATS OF CYPRUS

Hadjichambis A.Ch., [1]Paraskeva-Hadjichambi D., [1]Della A., [2]Dimopoulos P., [3]Georghiou K.

[1]Agricultural Research Institute of Cyprus, P.O. 22016, 1516 Nicosia, Cyprus. [2]Department of Environmental and Natural Resources Mana-gement, School of Natural Resources and Enterprises Management, University of Ioannina, Seferi 2, GR-30100 Agrinio. [3]Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 15784

Coastal habitats in Cyprus can be characterised vulnerable considering their rarity, relative cover in national and European level and the great pressures and impacts affecting them. Anthropogenic impacts such as tourist development, habitat clearance, overgrazing, fires, changes in hydrological equilibrium (e.g. due to dam construction), habitat fragmentation as well as physiological characteristics of species, in some cases, cause the degradation and loss of a lot of coastal natural habitats. This research project is studying the vulnerable sand dune and salt marsh habitats of the coastal zone of Cyprus due to their priority for protection and conservation. The Braun - Blanquet phytosociological method is used for sampling the vegetation of the vulnerable habitats of Cyprus. A pilot management plan, a monitoring plan for a selected site, the construction of the CYPRUS(VEG) database for the vegetation of Cyprus and the proposal of a semi-quantitative system assessing the vulnerability value are some of the work packages of the project. Coastal sand dune habitats occur in 22 sites in the free part of Cyprus (Southern part), whereas salt marshes are present only in two sites. Several types of impacts identified in different habitat types. This project is funded by the Research Promotion Foundation of Cyprus and carried out in the Agricultural Research Institute of Cyprus.

ΚΥΡΙΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΠΡΩΤΕΑΣΩΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΓΗΡΑΝΣΗ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΙΝΟΒΛΑΣΤΩΝ: ΕΠΑΓΩΓΗ ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΥ ΓΗΡΑΝΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΝΑΣΤΟΛΗ ΤΟΥ ΚΑΙ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ

[1]Χονδρογιάννη Ν., [1]Τρουγκάκος Π.Ι., [2]Stratford F.L.L., [3]Friguet B., [2]Rivett A.J., [1]Γκόνος Ε.Σ.

[1]Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, Ινστιτούτο Βιολογικών Ερευνών και Βιο-τεχνολογίας, Εργαστήριο Μοριακής και Κυτταρικής Γήρανσης, Βασ. Κωνσταντίνου 48, Αθήνα 116 35. [2]Department of Biochemistry, University of Bristol, School of Medical Sciences, Bristol, BS8 1TD, United Kingdom. [3]Université Denis Diderot-Paris 7, Laboratoire de Biologie et Biochimie Cellulaire du Vieillissement, 2 Place Jussieu, Paris 75005, France

Οι ανθρώπινοι φυσιολογικοί ινοβλάστες πραγματοποιούν *in vitro* περιορισμένο αριθμό κυτταρικών διαιρέσεων και σταδιακά φτάνουν σε ένα στάδιο μη αναστρέψιμης παύσης του πολλαπλασιασμού, μια διαδικασία που ονομάζεται αναδιπλασιαστική γήρανση (replicative senescence). Το πρωτεάσωμα αποτελεί κύριο κυτταρικό πρωτεολυτικό μηχανισμό η λειτουργία του οποίου υφίσταται βλάβη κατά τη γήρανση, αν και τα ακριβή αίτια αυτής της υπολειτουργίας είναι ακόμα άγνωστα. Χρησιμοποιώντας WI38 ινοβλάστες ως μοντέλο κυτταρικής γήρανσης, παρατηρήθηκαν μειωμένα επίπεδα πρωτεασωμικών ενεργοτήτων που συνοδεύονταν από αυξημένα επίπεδα οξειδωμένων και ουμπικιτινομένων πρωτεϊνών στα γηρασμένα κύτταρα. Βρέθηκε πως οι καταλυτικές υπομονάδες του 20S συμπλόκου και οι υπομονάδες του 19S ρυθμιστικού συμπλόκου υποεκφράζονται στα γηρασμένα κύτταρα. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα και μειωμένα επίπεδα αντίστοιχα των 20S και 26S πρωτεασωμικών συμπλόκων. Αναστολή του πρωτεασώματος των νεαρών κυττάρων μέσω ειδικών αναστολέων επάγει την εμφάνιση φαινοτύπου γήρανσης, αποκαλύπτοντας έτσι τη σημασία του πρωτεασώματος στη διατήρηση της κυτταρικής ομοιοστασίας. Υπερέκφραση των β_1 και β_5 υπομονάδων οδηγεί σε υπερέκφραση των β_5 και β_1 υπομονάδων, αντίστοιχα. Τα επιμολυσμένα κύτταρα φέρουν αυξημένες πρωτεασωμικές ενεργότητες και κυρίως φέρουν αυξημένη ικανότητα ανταπόκρισης σε διάφορα είδη στρες. Εν κατακλείδι, η εργασία αυτή αποκαλύπτει τον κύριο ρόλο του πρωτεασώματος στην κυτταρική γήρανση και επιβίωση.

CENTRAL ROLE OF THE PROTEASOME IN SENESCENCE AND SURVIVAL OF HUMAN FIBROBLASTS: INDUCTION OF A SENESCENCE-LIKE PHENOTYPE UPON ITS INHIBITION AND RESISTANCE TO STRESS UPON ITS ACTIVATION

[1]Chondrogianni N., [1]Trougakos I.P., [2]Stratford F.L.L., [3]Friguet B., [2]Rivett A.J., [1]Gonos E.S.

[1]National Hellenic Research Foundation, Institute of Biological Research and Biotechnology, 48 Vas. Constantinou Ave., Athens 116 35, Greece. [2]Department of Biochemistry, University of Bristol, School of Medical Sciences, Bristol, BS8 1TD, United Kingdom. [3]Université Denis Diderot- Paris 7, Laboratoire de Biologie et Biochimie Cellulaire du Vieillissement, 2 Place Jussieu, Paris 75005, France

Normal human fibroblasts undergo a limited number of divisions in culture and progressively they reach a state of irreversible growth arrest, a process termed as replicative senescence. The proteasome is the major cellular proteolytic machinery, the function of which is impaired during replicative senescence. However the exact causes of its malfunction in these conditions are unknown. Using WI38 fibroblasts as a model for cellular senescence we have observed reduced levels of proteasomal peptidase activities coupled with increased levels of both oxidized and ubiquitinated proteins in senescent cells. We have found the catalytic subunits of the 20S complex and subunits of the 19S regulatory complex to be down-regulated in senescent cells. This is accompanied by a decrease in the level of both 20S and 26S complexes. Inhibition of proteasomes in young cells caused by treatment with specific inhibitors induced a senescence-like phenotype, thus demonstrating the fundamental importance of the proteasome for retaining cellular maintenance and homeostasis. Stable overexpression of β_1 and β_5 subunits in WI38 established cell lines was shown to induce elevated expression levels of β_1 subunit in β_5 transfectants and vice-versa. Transfectants possess increased proteasome activities and most importantly, increased capacity to cope better with various stresses. In summary these data demonstrate the central role of the proteasome during cellular senescence and survival as well as provide insights towards a better understanding of proteasome regulation.

Η ΠΑΝΙΔΑ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΕΠΙΒΙΩΤΙΚΑ ΦΥΚΗ ΣΤΗΝ *Caretta caretta* (LINNAEUS, 1758)

[1]Χριστοδούλου Μ., [1]Κίτσος Μ.-Σ., [2]Καλπάκης Σ., [2]Νοΐδου Μ., [1]Κούκουρας Α.

[1]Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 541 24, Θεσσαλονίκη. [2]Ελληνικό Κέντρο Περίθαλψης Άγριων Ζώων, Ναυσικάς 9, Αμπελόκηποι, 561 21, Θεσσαλονίκη

Η υπάρχουσα πληροφορία για τους επιβιώτες της *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758) είναι πολύ περιορισμένη και διασπαρμένη (Kitsos et al., σε εκτύπωση). Στην εργασία αυτή παρουσιάζονται για πρώτη φορά τα επιβιωτικά φύκη στην *C. caretta* και η σχετιζόμενη με αυτά πανίδα.

Το υλικό που εξετάστηκε προέρχεται από 30 άτομα του *C. caretta* που είχαν εκβραστεί στο Θερμαϊκό κόλπο και τις ακτές της Χαλκιδικής. Τα επιβιωτικά φύκη βρέθηκε να ανήκουν σε 15 διαφορετικά είδη (Chlorophyta, Phaeophyta, Rhodophyta). Η ανάλυση της συσχετιζόμενης με τα φύκη πανίδας έδειξε ότι αυτή περιλαμβάνει είδη Crustacea (Amphipoda, Tanaidacea), Mollusca (Bivalvia), Annelida (Polychaeta, Oligochaeta) και Echinodermata (Ophiouroidea).

Ένας σημαντικός αριθμός από τα είδη των φυκών αυτών και των ζώων που σχετίζονται με αυτά, βρέθηκαν στην *C. caretta* για πρώτη φορά, όπως προκύπτει από την ανασκόπηση της σχετικής βιβλιογραφίας.

THE FAUNA ASSOSIETED WITH THE EPIBIOTIC ALGAE OF *Caretta caretta* (LINNAEUS, 1758)

[1]Christodoulou M., [1]Kitsos M.-S., [2]Kalpakis S., [2]Noidou M., [1]Koukouras A.

[1]Department of Zoology, School of Biology, Aristoteleio University of Thessaloniki, 541 24, Thessaloniki, Greece. [2]Hellenic Wildlife Hospital, Nafsikas 9, Ampelokipoi, 561 21, Thessaloniki, Greece

The existing information on the epibionts of *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758) is very limited and scattered (Kitsos et al., in press). In the present study the epibiotic algae of *C. caretta* and their associated fauna are presented for the first time.

The examined material was derived from 30 *C. caretta* individuals washed ashore at Thermaikos Gulf and shores of Chalkidiki peninsula. The epibiotic algae were found to belong to 15 different species (Chlorophyta, Pheophyta, Rodophyta).The analysis of the algae associated fauna showed that it contains species of Crustacea (Amphipoda, Tanaidacea), Mollusca (Bivalvia), Annelida (Polychaeta, Oligochaeta) and Echinodermata (Ophiouroidea).

The review of the relevant literature showed that a significant number of these algae species and of the animals associated with them, are reported for the first time on *C. caretta*.

ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΚΑΙ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΒΛΑΒΩΝ DNA ΣΕ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΩΝ ΟΜΑΔΩΝ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΗΛΙΚΙΩΝ

[1,2]Χριστόπουλος Γ., [1,2]Μαριδάκη Κ., [1,2]Καραναστάση Γ., [1,2]Αναγνωστάκης Ν., [2]Μεσσήνη-Νικολάκη Ν., [3]Κανιούρα Μ., [4]Ντουντουνάκης Σ., [1]Τσιλιμιγκάκη Σ., [1]Πιπεράκης Σ.Μ.

[1]Εργαστήριο Επιδιορθωτικών Μηχανισμών DNA, Ινστιτούτο Βιολο γίας, ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος, Αθήνα. [2]Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα. [3]Εργαστήριο Αιμοδυναμικής, Νοσοκομείο «Ευαγγελισμός», Αθήνα. [4]Τμήμα Ινοκυστικής, Νοσοκομείο «Αγία Σοφία», Αθήνα.

Στην παρούσα μελέτη εξετάσαμε την ευαισθησία του DNA ανθρωπίνων λεμφοκυττάρων μετά από έκθεση σε H2O2 καθώς και την επιδιορθωτική τους ικανότητα σε πληθυσμούς τεσσάρων διαφορετικών ηλικιακών ομάδων (1-5 ετών, 20-25 ετών, 40-50 ετών, και 60+ ετών).

Χρησιμοποιώντας την τεχνική του "comet assay" μπορέσαμε να υπολογίσουμε το ποσοστό των βλαβών και την επιδιόρθωση στις παραπάνω ομάδες.

Τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν ότι τα μεγαλύτερα σε ηλικία άτομα εμφανίζουν μεγαλύτερο ποσοστό ενδογενών βλαβών. Επιπλέον εμφανίζουν μικρότερη επιδιορθωτική ικανότητα σε σχέση με τα νεαρά άτομα.

DNA SENSITIVITY AND REPAIR EFFICIENCY IN HUMAN LYMPHOCYTES OF DIFFERENT AGE GROUPS

Christopoulos G.[1,2], K. Maridaki[1,2], G. Karanastasi[1,2], N. Anagnostakis[1,2], N. Messini-Nikolaki[2], M. Kanioura[3], S. Doudounakis[4], S. Tsilimigaki[1] and S. M. Piperakis[1]

[1]DNA Repair Laboratory, Institute of Biology, NCSR "Democritos", Athens, Greece. [2]Department of Cell Biology, University of Athens, Athens, Greece. [3]Hemodynamics Laboratory, Evangelismos Hospital, Athens, Greece. [4]Department of Cystic Fibrosis, Aghia Sophia Hospital, Athens, Greece.

Human lymphocytes from individuals of four different age groups (1-5, 20-25, 40-50 and 60+ years old) were exposed to increased concentrations of H2O2 and the amount of DNA damage and the repair efficiency were estimated.

For this the comet assay, a rapid and very sensitive method for detecting DNA damage and repair in individual cells was used.

Our results indicate that cells from older aged-groups have increased levels of basal DNA damage. They have also been found to have a lower repair efficiency.

ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΟΥ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ FMRP ΣΤΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΟΥ ΣΥΝΔΡΟΜΟΥ «ΕΥΘΡΑΥΣΤΟΝ Χ»

Χριστοφίδου Χ., Σοφοκλέους Χ., Φρυσίρα Ε., Κολιαλέξη Α., Μαύρου Α., Μεταξωτού Α.

Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστ. Αθηνών

Το σύνδρομο Εύθραυστον Χ (FXS), με συχνότητα 1:4000 αγόρια και 1:7000 κορίτσια, θεωρείται η δεύτερη πιο συχνή αιτία νοητικής υστέρησης (ΝΥ) στον άνθρωπο. Η μοριακή βλάβη που προκαλεί το σύνδρομο αφορά την επέκταση μιας επαναλαμβανόμενης αλληλουχίας CGG στο 5΄ άκρο του γονιδίου FMR-1 στα μακρά σκέλη του χρωμοσώματος Χ(q27.3). Φυσιολογικά ο αριθμός των επαναλήψεων ποικίλει από 6-50, ενώ επέκταση από 51-200 επαναλήψεις καλείται προμετάλλαξη (ΠρΜ) και χαρακτηρίζει τους φορείς. Επέκταση της αλληλουχίας>230 CGG καλείται πλήρης μετάλλαξη (ΠΜ) και ανιχνεύεται κυρίως σε ασθενείς. Η ΠΜ προκαλεί την μεθυλίωση μιας νησίδας CpG (περιοχή υποκινητή) και οδηγεί σε μεταγραφική απενεργοποίηση του γονιδίου και μη παραγωγή της πρωτεΐνης FMRP.

Η μοριακή διάγνωση του συνδρόμου περιλαμβάνει εφαρμογή Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης (PCR) και Ανάλυσης Μεταφοράς κατά Southern. Πρόσφατα περιγράφηκε μια ανοσοϊστοχημική διαγνωστική προσέγγιση η οποία στηρίζεται στην παρουσία ή απουσία της FMRP σε λεμφοκύτταρα περιφερικού αίματος φυσιολογικών ατόμων ή ασθενών με FXS αντίστοιχα.

Έγινε ποιοτικός προσδιορισμός της FMRP σε 500 άτομα (300 ασθενείς με ΝΥ και 200 μητέρες) ανοσοϊστοχημικά με τη χρήση του μονοκλωνικού αντισώματος Mouse Anti-FMRP.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι:

-Σε φυσιολογικά άτομα και φορείς προμετάλλαξης, 82-98% των λεμφοκυττάρων είναι FMRP+

-Σε ασθενείς με FXS, 0-10% των λεμφοκυττάρων είναι FMRP+

-Στις γυναίκες φορείς ΠΜ και σε ασθενείς με μωσαϊκισμό, 30-70% των λεμφοκυττάρων είναι FMRP+

Η μέθοδος είναι σχετικά εύκολη και γρήγορη και παρά την αδυναμία της να ανιχνεύει φορείς, εξασφαλίζει τη διάγνωση ασθενών ακόμη και στις περιπτώσεις όπου το σύνδρομο δεν οφείλεται σε τυπική επέκταση της αλληλουχίας CGG (~1% των ασθενών με FXS).

THE FMRP TEST IN FRAGILE X SYNDROME DIAGNOSIS

Christofidou Ch., Sofocleous Ch., Fryssira H., Mavrou A., Kolialexi A. and Metaxotou C.

Medical Genetics Laboratory, Medical School, Athens University

Fragile X Syndrome (FXS), affecting 1:4000 male and 1:7000 female, is regarded the second most common cause of Mental Retardation (MR). The disorder causing mutation is the amplification of a CGG repeat in the 5' untranslated region of FMR-1 gene located at Xq27.3. In the normal population the number of CGG varies between 6-50. CGG repeat numbers between 51-200 is called Premutation (PM) and is detected in unaffected carriers. Amplification of the repeat >230 CGG is called Full Mutation (FM) and is observed in patients. Due to the full mutation, transcription suppression through methylation of the promotor region (CpG island) of the gene occurs, resulting in the absence of the encoded FMRP protein.

Molecular diagnosis of the syndrome is performed via Southern Blot analysis and a PCR test. Recently, an immunocytochemical test is described to identify FXS patients. This test is based on the presence or absence of FMRP in lymphocytes of normal individuals or FXS patients respectively

The FMRP test was performed in 500 individuals (300 MR patients and 200 mothers) using a specific monoclonal Mouse Anti-FMRP antibody.

Our results showed that:

1. In normal individuals and premutation carriers, 82-98% of the lymphocytes is FMRP+
2. In FXS patients, 0-10% of lymphocytes is FMRP+
3. In female FM carriers and mosaic patients 30-70% of lymphocytes is FMRP+

This method is quite easy and fast and although not suitable for carrier detection, it is very reliable for patients diagnosis, even in those cases where the syndrome is not caused by the typical CGG expansion (~1% FXS patients).

ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΝΕΥΡΟΔΙΑΒΙΒΑΣΤΩΝ ΚΑΙ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

Χριστοφορίδης Χ.Σ., Λίτου Ζ.Ι., Παπανδρέου Ν.Χ., Χαμόδρακας Σ.Ι.

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 01

Οι μεμβρανικοί πρωτεϊνικοί υποδοχείς νευροδιαβιβαστών απαντώνται στα ευκαρυωτικά κύτταρα σε μεγάλη ποικιλία και αριθμό. Είναι υπεύθυνοι για αναγνώριση και μετάδοση πολλών ειδών ερεθισμάτων, ως ανταπόκριση της δέσμευσης των αντίστοιχων υποκαταστατών νευροδιαβιβαστών. Αποτελούν αντικείμενο έντονου ερευνητικού ενδιαφέροντος, καθώς όλο και αυξάνονται οι ενδείξεις για την ανάμειξή τους στην εκδήλωση γνωστών ασθενειών.

Προκειμένου να μελετήσουμε τις ασθένειες με τις οποίες συνδέεται ο κάθε υποδοχέας νευροδιαβιβαστών και τον μηχανισμό που τις προκαλεί, κυρίως για το ανθρώπινο είδος (*Homo sapiens*), χρησιμοποιήσαμε το διαδίκτυο, για την ανάσυρση εξειδικευμένων πληροφοριών από γνωστές βάσεις δεδομένων και δημοφιλείς ηλεκτρονικές βιβλιοθήκες.

Οι πρώτες ενδείξεις, από τα δεδομένα που συλλέχθηκαν, οδηγούν στο συμπέρασμα ότι πλήθος αιτίων, όπως η μετάλλαξη στο γονίδιο του υποδοχέα ή η παρουσία συναγωνιστικών ή ανταγωνιστικών μορίων, είναι υπεύθυνα για τη νοσογένεση. Διαφόρων ειδών καρκινώματα, καρδιαγγειακές και νευρομυικές παθήσεις αναφέρονται ως τα συνήθη συμπτώματα της ανώμαλης δράσης των υποδοχέων.

Συγκεκριμένα, οι υποδοχείς νευροδιαβιβαστών όπως της ντοπαμίνης, της υδροξυτρυπταμίνης (σεροτονίνης), του γ-αμινοβουτυρικού οξέος (GABA) και της ακετυλοχολίνης σχετίζονται με διάφορες παθήσεις, όπως η νόσος του Parkinson και του Alzheimer, η επιληψία, η σχιζοφρένεια, η κατάθλιψη, ο εθισμός σε ουσίες όπως το αλκοόλ, η αδυναμία συγκέντρωσης, οι ημικρανίες, και το αυτιστικό σύνδρομο. Γίνεται προσπάθεια για τη δημιουργία βάσεως δεδομένων υποδοχέων νευροδιαβιβαστών – ασθενειών ελεύθερα προσβάσιμης από το διαδίκτυο.

NEUROTRANSMITTER PROTEIN RECEPTORS AND DISEASE

Christoforidis C.S., Litou Z.I., Papandreou N.C., Hamodrakas S.J.

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 157 01

Neurotransmitter protein receptors are found in great numbers in several eukaryotic cells. They are responsible for sensing a staggering variety of structurally diverse neurotransmitters, with their activation resulting in the initiation of a variety of cellular signalling cascades. Recently, they have become the target point of intense scientific interest, as more and more clues imply their interference in the development and expression of many common diseases.

In order to detect the diseases which every single receptor is linked to and potentially in what way this is done, mainly for the human species (*Homo sapiens*), we made use of the Internet, to get specific information from well known data banks and electronic libraries.

The first indications from the collected data, lead to the conclusion that several reasons, like mutations in the receptor's gene or the presence of agonists or antagonists, are responsible for health impairment. Many kinds of cancer, cardiovascular, neural and muscular diseases are reported as the most common symptoms of abnormal receptors' function.

Specifically, dopamine, hydroxytryptamine (serotonin), gamma-aminobutyric-acid (GABA) and achetylocholine receptors cause various nerve-associated diseases, like Parkinson's and Alzheimer's disease, schizophrenia, epilepsy, depression, addiction liability, attention deficits, migraine and autistic disorder. A database of neurotransmitter protein receptors and associated diseases will be soon freely available at the web.

ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΤΗΣ ΦΩΣΦΟ-ΡΥΛΑΣΗΣ ΤΟΥ ΓΛΥΚΟΓΟΝΟΥ (GPb) ΜΕ ΜΙΑ ΝΕΑ ΤΑΞΗ ΕΝΩΣΕΩΝ, ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ, ΕΝ ΔΥΝΑΜΕΙ ΥΠΟΓΛΥΚΑΙΜΙΚΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ

[1]Χρυσίνα Ε.Δ., [1,2]Οικονομάκος Ν.Γ., [1]Κοσμοπούλου Μ.Ν., [1]Κωνσταντακάκη Μ.Ε., [1]Bischler N., [2]Λεωνίδας Δ.Δ., [3]Nagy V., [3]Somsák L., [4]Gergely P., [5]Praly J.-P.

[1]Ινστ. Οργανικής & Φαρμακευτικής Χημείας, [2]Ινστιτούτο Βιολογικών Ερευνών & Βιοτεχνολογίας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, Λεωφ. Βασ. Κωνσταντίνου 48, 116 35, Αθήνα, [3]Dept. of Organic Chemistry and [4]Dept. of Medical Chemistry, Univ. of Debrecen, Hungary. [5]Claude-Bernard Univ. Lyon 1, Villeurbanne, France

Η GPb καταλύει το πρώτο στάδιο της ενδοκυτταρικής αποικοδόμησης του γλυκογόνου και αποτελεί μοριακό στόχο για το σχεδιασμό ενώσεων, εν δυνάμει υπογλυκαιμικών φαρμάκων για την αντιμετώτηση του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Πρόσφατη εργασία έδειξε ότι η N-βενζοϋλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλουρία δρά ως συναγωνιστικός αναστολέας της GPb με K_i=4.6 μM. Η κρυσταλλική δομή του συμπλόκου GPb-βενζοϋλουρίας σε ευκρίνεια 1.8 Å [1] υπαγόρευσε το σχεδιασμό και τη σύνθεση πέντε νέων αναλόγων, συναγωνιστικών αναστολέων του ενζύμου. Η εισαγωγή μιας -NO_2 ομάδας στην παρα θέση του φαινυλικού δακτυλίου της προδρόμου ενώσεως οδήγησε σε ευνοϊκές αλληλεπιδράσεις με τα αμινοξέα του καταλυτικού κέντρου, ενώ η εισαγωγή ενός –OH ήταν λιγότερο ευνοϊκή. Η υποκατάσταση στην ίδια θέση με -NH_2 ομάδα οδήγησε σε μικρότερη συγγένεια. Η εισαγωγή μιας ναφθυλομάδας στη θέση 1 δεν αύξησε τη συγγένεια αν και ο διαθέσιμος χώρος στο β-κανάλι του καταλυτικού κέντρου είναι αρκετός. Ωστόσο, η ίδια υποκατάσταση στη θέση 2, οδήγησε στον ισχυρότερο, έως σήμερα, αναστολέα για το καταλυτικό κέντρο του ενζύμου με σταθερά αναστολής K_i=0.4 μM. Η σύνδεση και των πέντε παραγώγων στο καταλυτικό κέντρο προκαλεί δραματική μετατόπιση του βρόχου 280s (1.0-4.0 Å), ο οποίος εντοπίζεται στην είσοδο του κέντρου. Συνεπώς η μετατόπιση του βρόχου 280s πρέπει να ληφθεί υπ'όψιν στο μελλοντικό σχεδιασμό νέων ενώσεων με αυξημένη συγγένεια για την GPb.

[1]. Oikonomakos, N.G., Kosmopoulou, M., Zographos, S.E., Leonidas, D.D., Chrysina, E.D., Somsák, L., Nagy, V., Praly, J-P., Docsa, T., Tóth, b. & Gergely, P. Eur. J. Biochem. 269, 1684-1696 (2002).

CRYSTALLOGRAPHIC STUDIES OF GLYCOGEN PHOSPHORYLASE b (GPb) IN COMPLEX WITH A NEW CLASS OF INHIBITORS, POTENTIAL HYPOGLYCAEMIC DRUGS

[1]Chrysina E.D., [1,2]Oikonomakos N.G., [1]Kosmopoulou M.N., [1]Konstantakaki M.E., [1]Bischler N., [2]Leonidas D.D., [3]Nagy V., [3]Somsák L., [4]Gergely P., [5]Praly J.-P.

[1]Inst. of Organic and Pharmaceutical Chemistry, [2]Inst. of Biological Research & Biotechnology, National Hellenic Research Foundation, 48, Vas. Constantinou Ave. 116 35 Athens, Greece. [3]Dept. of Organic Chemistry and [4]Dept. of Medical Chemistry, Univ. of Debrecen, Hungary. [5]Claude-Bernard Univ. Lyon 1, Villeurbanne, France

GPb has been exploited as a potential molecular target for inhibitors that might prevent glycogenolysis under high glucose conditions in type 2 diabetes. A new compound was studied recently, the N-benzoyl-N'-β-D-glucopyranosyl urea, a potent competitive inhibitor of the enzyme (K_i=4.6 μM). The crystal structure of the GPb-benzoyl-urea complex at 1.8 Å resolution [1] dictated the design and synthesis of five new urea analogues, competitive inhibitors of the enzymes. Addition of a $-NO_2$ group in the para position of the benzoyl ring of the lead compound appeared to induce favourable interactions with the surrounding residues, while introduction of a -OH group seemed to be less effective. The compound with a $-NH_2$ was still a poorer inhibitor. Introduction of a naphthoyl group in position 1 did not improve the affinity, although there was enough space to be accommodated in the catalytic site without significant changes. However, the introduction of the naphthoyl group in position 2 resulted in an inhibitor with K_i=0.4 μM, the most potent inhibitor of GP known to date for the catalytic site. Binding of all five compounds at the catalytic site resulted in perturbation of the 280s loop located at the entrance of the catalytic site. Therefore, in the process of designing new compounds with enhanced features that would achieve tighter binding and better inhibition, the flexibility of the 280s loop should be taken into consideration.

[2]. Oikonomakos, N.G., Kosmopoulou, M., Zographos, S.E., Leonidas, D.D., Chrysina, E.D., Somsák, L., Nagy, V., Praly, J-P., Docsa, T., Tóth, b. & Gergely, P. Eur. J. Biochem. 269, 1684-1696 (2002).

ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ, ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ RGD-ΚΥΚΛΙΚΟΥ ΠΕΠΤΙΔΙΟΥ, ΕΠΙΣΗΜΑΣΜΕΝΟΥ ΜΕ Tc-99m, ΓΙΑ ΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗΣ ΣΕ ΠΡΩΤΟΓΕΝΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΣΤΑΤΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟ

[1]Ψημάδας Δ, [2]Πέτρου Χ, [3]Μπουζιώτη Π, [3]Φάνη Μ, [1]Ξανθόπουλος Σ, [3]Στράτης Ν, [2]Κορδοπάτης Π, [1]Αρχιμανδρίτης Σ, [1]Βαρβαρήγου Α

[1]Ινστιτούτο Ραδιοϊσοτόπων/Ραδιοδιαγνωστικών Προϊόντων, Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ». [2]Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Πάτρας. [3]Biomedica Life Sciences S.A

Αγγειογένεση ονομάζεται η ανάπτυξη νέων αιμοφόρων αγγείων από άλλα, προϋπάρχοντα. Έχει παρατηρηθεί ότι σε κάποιες παθολογικές καταστάσεις, με κυριότερη τον καρκίνο, το φαινόμενο της αγγειογένεσης γίνεται ιδιαίτερα έντονο. Εξάλλου, στα αρχικά στάδια σχηματισμού των όγκων παρατηρείται υπερέκφραση των ιντεγκρινών στα καρκινικά και στα ενδοθηλιακά κύτταρα, που έχει σαν σκοπό τον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και τη μετανάστευση των κυττάρων του ενδοθηλίου μέσω διακυτταρικών σημάτων, ώστε να σχηματισθεί πλέγμα αιμοφόρων αγγείων. Οι ιντεγκρίνες της οικογένειας α_v ($\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$), αναγνωρίζουν την αμινοξική αλληλουχία Arg–Gly–Asp (RGD). Παρεμπόδιση της προσδέσεως των ιντεργκρινών στους υποδοχείς τους δρα παρεμβατικά στην αγγειογένεση και συντελεί σε συρρίκνωση των όγκων. Ως ανταγωνιστής έχει χρησιμοποιηθεί το κυκλικό πεπτίδιο cRGDfK (Arg–Gly–Asp–D-Phe–Lys). Στόχο της μελέτης μας αποτελεί η επισήμανσή αυτού του πεπτιδίου με το ραδιονουκλίδιο Tc-99m το οποίο διαθέτει πυρηνικά χαρακτηριστικά ($T_{1/2}$: 6.08 ώρες, μονοενεργειακή ακτινοβολία-γ 140 KeV), τα οποία το καθιστούν ιδανικό για την σπινθηρογραφική απεικόνιση όγκων. Το επισημασμένο πεπτίδιο θα αποτελέσει μέσον διερευνήσεως του μηχανισμού δράσεως του ανταγωνισμού για τις ιντεργκρίνες της τάξεως α_v ενώ παράλληλα ενδέχεται να αποτελέσει διαγνωστικό παράγοντα σε περιπτώσεις μεταστάσεως. Το πεπτίδιο συντέθηκε σε στερεή φάση εφαρμόζοντας Fmoc/tBu μεθοδολογία με στερεό υπόστρωμα τη 2-χλωροτριφαινυλομεθυλο-ρητίνη. Μετά τον αρχικό καθαρισμό με χρωματογραφία μοριακού αποκλεισμού σε Sephadex G-15, το πεπτίδιο απομονώθηκε σε καθαρή κατάσταση με χρωματογραφία υψηλής απόδοσης ανάστροφης φάσης (RP-HPLC) σε ημιπαρασκευαστική στήλη, και ταυτοποιήθηκε με ηλεκρονική φασματοσκοπία μάζας (ES-MS). Η επισήμανσή του έγινε μέσω του χηλικού παράγοντα S-Bz-MAG3 (S-βενζόϋλο-μερκαπτοακετυλο-τριγλυκίνη). Για τον προσδιορισμό της αποδόσεως της αντιδράσεως, την ταυτοποίηση της ραδιοχημικής μορφής και τη μελέτη της σταθερότητας του ραδιοεπισημασμένου παραγώγου χρησιμοποιήθηκαν ραδιοαναλυτικές τεχνικές (RP-HPLC και SG-ITLC). Βρέθηκε ότι σχηματίζεται κατά κύριο λόγο ένα σταθερό, ραδιοεπισημασμένο προϊόν. Σε εξέλιξη βρίσκονται μελέτες βιοκατανομής του σε φυσιολογικά πειραματόζωα και παθολογικά πρότυπα, στα οποία έχουν αναπτυχθεί όγκοι ανθρώπινης προέλευσης που υπερεκφράζουν διάφορους τύπους ιντεγκρινών.

DESIGN, DEVELOPMENT AND SYNTHESIS OF AN RGD-CYCLIC PEPTIDE, LABELED WITH TECHNETIUM-99m, FOR THE STUDY OF ANGIOGENESIS IN PRIMARY AND METASTATIC CARCINOMA

[1]Psimadas D., [2]Petrou Chr., [3]Bouziotis P., [3]Fani M., [1]Xanthopoulos S., [3]Stratis N., [2]Kordopatis P., [1]Archimandritis S., [1]Varvarigou A.

[1]Institute of Radioisotopes and Radiodiagnostic Products, N.C.S.R. "Demokritos", [2]Department of Pharmacy, School of Health Sciences, University of Patras, [3]Biomedica Life Sciences, S.A.

Angiogenesis is the development of new blood vessels from pre-existing ones. It has been observed that in certain pathological conditions, mainly in cancer, the phenomenon of angiogenesis is especially prominent. Furthermore, in the initial stages of the formation of tumors, over-expression of integrins in cancer and endothelial cells is observed, which leads to the multiplication, differentiation and migration of endothelial cells via intercellular signals, so as to form a network of blood vessels. The integrins of the a_v family ($a_v\beta_3$, $a_v\beta_5$) identify the amino-acid sequence Arg-Gly-Asp (RGD). Obstruction of the binding of integrins onto their receptors disturbs angiogenesis, leading to tumor regression. The cyclic peptide cRGDfK (Arg-Gly-Asp-D-Phe-Lys) has been used as an antagonist. The aim of our study is the labeling of this peptide with the radionuclide Technetium-99m (Tc-99m), bearing nuclear characteristics ($T_{1/2}$: 6.08 h, monoenergetic gamma-radiation:140 KeV) which render it ideal for the scintigraphic imaging of tumors. The labeled peptide will be used to investigate the mechanism of antagonistic action for the a_v class integrins, while at the same time it may be used as a diagnostic agent in cases of metastasis. The peptide has been synthesized by solid-phase synthesis, by use of the Fmoc/tBu methodology, with 2-chlorotriphenylmethyl-resin as the solid substrate. After the initial purification with size-exclusion chromatography on a Sephadex G-15 column, the peptide was isolated in pure form by reverse-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) using a semi-preparative column, and was identified by electron-spray mass spectroscopy (ES-MS). The labeling of the peptide was performed via the chelating agent S-Bz-MAG3 (S-benzoyl-mercapto-acetyltriglycine). Radioanalytical techniques (RP-HPLC and SG-ITLC) were used to estimate the reaction yield, to determine the radiochemical form of the peptide and to study the stability of the radiolabeled derivative. It was found that one radiolabeled product is formed, which is stable in time. Biodistribution studies are under evaluation on normal experimental animals and animal models bearing tumors of human origin, which overexpress a variety of integrins.

VANADIUM HALOPEROXIDASES STRUCTURE, FUNCTION AND POSSIBLE APPLICATION

Wever R.

Institute for Molecular Chemistry, Faculty of Science, University of Amsterdam, Nieuwe Achtergracht 129, 1018 WS Amsterdam, The Netherlands (E-mail rwever@science.uva.nl)

Vanadium haloperoxidases are enzymes that catalyze the oxidation of a halide by hydrogen peroxide to the corresponding hypohalous acids according to: $H_2O_2 + H^+ + X^- \rightarrow H_2O + HOX$

The enzymes are named after the most electronegative halide ion they are able to oxidize, therefore chloroperoxidase (CPO) oxidizes Cl^-, Br^-, I^- and bromoperoxidase (BPO) oxidizes Br^- and I^-. This class of enzymes binds vanadate (HVO_4^{2-}) as a prosthetic group [1,2]. The vanadium bromperoxidases are present in a great variety of brown and red seaweed samples. These seaweeds release large amounts of various volatile halogenated compounds particularly bromoform and dibromomethane in the atmosphere. There is strong evidence that the bromoperoxidases are involved in the biosynthesis of these compounds. The X-ray structures [1] of the chloroperoxidase from the fungus *Curvularia inaequalis* and the bromoperoxidase from the seaweed *Ascophyllum nodosum* show that vanadate in these enzymes is covalently attached to a histidine residue while five residues donate hydrogen bonds to the non-protein oxygens. The resulting structure is that of a trigonal bipyramid with three non-protein oxygens in the equatorial plane and which is hydrogen bonded to positively charged residues. The fourth oxygen (hydroxide group) at the apical position is hydrogen bonded to a histidine. The nitrogen atom from another histidine residue is at the apical position. The above mentioned vanadate-binding amino acids were shown to be conserved in three bromoperoxidases from seaweed and several acid phosphatases among others the large group of soluble bacterial non-specific Class A acid phosphatase [2]. Based on sequence similarity it has been proposed that the architecture of the active site in the two classes of enzymes is very similar. Recently the X-ray structure of a novel acid phosphatase from *Escherichia blattae* was determined showing the remarkable similarity of the residues involved in binding vanadate or phosphate [3]. The first step in the catalytic mechanism of the haloperoxidases is the binding of hydrogen peroxide to form an activated peroxo-intermediate in which the peroxide is bound side-on. One of the oxygen atoms of the peroxide is polarized by interaction with a positively charged lysine residue facilitating the nucleophilic attack of the halide to yield hypohalous acids. Various

vanadium bromoperoxidases not only catalyze the oxidation of halide to hypohalous acids but in the absence of a halide they are able to catalyze the enantioselective oxidation of organic sulfides to sulfoxides. These chiral sulfoxides are useful auxiliaries in asymmetric synthesis, in particular for the preparation of biologically active compounds.

Most vanadium enzymes are very thermo- and chemo stable probably as a result of their high helical content and tight packing. Several patent applications of these stable enzymes have been filed and the applications can be divided into two main groups. One group deals with their bleaching properties and possible use of these enzymes in laundry cleaning and bleaching [3]. The other applications deal with microbial control and the microbicidal properties of HOCl and HOBr [4]. Recent discoveries [5] have shown that acylated homoserine lactone cell-to-cell signaling molecules are important for biofilm formation in bacteria. Oxidized halogens react rapidly with these signaling molecules and destroy their properties and thus the enzymes may be used to prevent biofouling of surfaces. Patents have appeared describing the use of these enzymes in antifouling paints [4, 6]. A major problem is that the pH of seawater is about 8.2 and the enzymes have a pH optimum around 5. We use presently Directed Evolution techniques to obtain enzymes with activity in the more alkaline pH range. Finally these enzymes may also be used in organic conversions e.g. enzymatic halogenation reactions and enantioselective sulfoxidation reactions.

1. Messerschmidt and R. Wever, Proc. Natl. Ac. Sci. USA 93 (1996) 392-396
2. W. Hemrika, R. Renirie, H. Dekker, P. Barnett and R. Wever, Proc. Natl. Ac. Sci. USA 94 (1997) 2145-2149
1. P. Barnett, D.H. Hondmann, L.H. Simons, P.F. Ter Steeg and R. Wever. Patent Application PCT/EP95/01229
2. R. Wever, H.L. Dekker, J.W.P.M. van Schijndel and E.G.M. Vollenbroek. Patent Application PCT/NL95/00123
3. S.A. Borchardt, E.J. Allain, J.J. Michels, G.W. Stearns, R.F. Kelly and W.F. McCoy. Appl. Env. Microbiol. 67 (2001) 3174- 3179
4. Svendson, L. Jorgensen. Patent Application PCT/DK99/00133

ΑΦΙΕΡΩΜΑ
στον Καθηγητή Γ. Πανταζή

ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΠΑΝΤΑΖΗΣ, Ο ΔΑΣΚΑΛΟΣ

Λουκάς Χ. Μαργαρίτης

Καθηγητής Κυτταρικής Βιολογίας

Η Ελληνική Εταιρία Βιολογικών Επιστημών, με ομόφωνη απόφαση του Δ.Σ. επέλεξε ως τόπο διεξαγωγής του 25ου επιστημονικού της συνεδρίου, τη Μυτιλήνη για να τιμήσει τον άνθρωπο που με τα σπάνια προσόντα χάραξε την πορεία των βιολογικών επιστημών στη χώρα μας, τόσο στην έρευνα όσο και στην εκπαίδευση από το 1933 μέχρι το 1971. Μια περίοδο δύσκολη, εν μέσω διεθνών ανακατατάξεων, ενός παγκόσμιου πολέμου και της προσπάθειας της Ελλάδας να ορθοποδήσει. Ο Γεώργιος Πανταζής είχε το χάρισμα «να κλέβει την παράσταση» και να γίνεται το επίκεντρο του ενδιαφέροντος όπου και αν βρισκόταν, σε διεθνείς συναντήσεις όχι μόνο βιολογικού, αλλά και κοινωνικού ή ανθρωπιστικού περιεχομένου, σε φοιτητικές εκδρομές (που οργάνωνε κάθε χρόνο με τη συμμετοχή και άλλων φωτισμένων δασκάλων – καθηγητών της Φυσικομαθηματικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών) ή σε φιλικές συναντήσεις (που συνήθιζε να οργανώνει για τους φοιτητές και συνεργάτες του στο σπίτι της οικογένειας Πανταζή στην Αθήνα ή στο εξοχικό τους στη Βούλα).και φυσικά στο πάντα κατάμεστο (από φοιτητές και μη)αμφιθέατρο

Είχα την τύχη να ζήσω από πολύ κοντά τον Γεώργιο Πανταζή κατά τα 10 τελευταία χρόνια της ζωής του , όχι μόνο στο εργαστήριο Βιολογίας ή στις φοιτητικές εκδρομές και στις κοινωνικές εκδηλώσεις αλλά και στην καθημερινή προσωπική ζωή του. Έβλεπα έναν άνθρωπο επιβλητικό και παράλληλα απλό, με απαράμιλλο χιούμορ, να κινείται με άνεση στα σαλόνια της υψηλής κοινωνίας αλλά και στις λαϊκές ταβέρνες. Είχα επίσης την τύχη να μου εμπιστευτεί (από τα φοιτητικά μου χρόνια στη Φυσικομαθηματική Σχολή του Πανεπιστημίου Αθηνών) την υλοποίηση ενός από τα οράματά του, να οργανώσει μια ερευνητική μονάδα ηλεκτρονικής μικροσκοπίας στο υπόγειο της Νομικής Σχολής (Σόλωνος 57) όπου στεγαζόταν το Εργαστήριο Βιολογίας. Ήταν η περίοδος που η ισχύς του από πλευράς κύρους και γνωριμιών βρισκόταν στο αποκορύφωμα. Δεν χρειαζόταν παρά ένα τηλεφώνημά του για να γίνει κάτι που σήμερα θα απαιτούσε, λόγω γραφειοκρατίας, μήνες ή χρόνια. Είμαι ευτυχής που έζησε να δει το όνειρό του να γίνεται πραγματικότητα.

Ειδική εκδήλωση της Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών έχει προγραμματιστεί να πραγματοποιηθεί στη γενέτειρα του Γ. Πανταζή, στον **Πολυχνίτο** Λέσβου στις **31 Μαΐου 2003** κατά τη διάρκεια του 25ου Επιστημονικού της Συνεδρίου, ώστε να παρουσιαστεί το έργο του Δασκάλου μας από μαθητές του και συνεργάτες του. Έχει επίσης εκπονηθεί η εκτύπωση ειδικού «Λευκώματος» με φωτογραφικό και έντυπο υλικό όπου παρουσιάζεται το οδοιπορικό του Γεωργίου Πανταζή από το 1906 μέχρι το 1973.

Ο ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΑΝΤΑΖΗΣ ΠΟΥ ΓΝΩΡΙΣΑ

Βασίλης Κιόρτσης

Ζωολογικό Εργαστήριο & Μουσείο του Πανεπιστημίου Αθηνών

Ένα από τα διαπρεπέστερα τέκνα του Πολιχνίτου Μυτιλήνης, τον Καθηγητή του Πανεπιστημίου και ακαδημαϊκό Γεώργιο Πανταζή είχα το προνόμιο να γνωρίζω για πολλά - πολλά χρόνια.

Πρωτάκουσα γι'αυτόν μικρό παιδί, σχεδόν νήπιο. Στην νεοϊδρυθείσα τότε από τον διάσημο *Normanwhite* Ανωτάτη Υγειονομική Σχολή Αθηνών – όπου μετεκπαιδευόταν και ο νομίατρος πατέρας μου – δίδασκε ένας νεαρότατος καθηγητής της Ιατρικής Ζωολογίας (Εντομολογίας), ο Γεώργιος Πανταζής, γιατρός και διδάκτωρ Βιολογίας του Πανεπιστημίου του Μονάχου. Ήταν αντικείμενο θαυμασμού και εκτίμησης, παρότι μικρότερος σε ηλικία από όλους ανεξαιρέτως τους γιατρούς σπουδαστές της Σχολής.

Αρκετά χρόνια αργότερα, ως πρωτοετής φοιτητής της Ιατρικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, γνώρισα πλέον «με σάρκα και οστά» τον Γεώργιο Πανταζή, τακτικό Καθηγητή της Ζωολογίας. Παρακολουθούσα τις παραδόσεις του στο κατάμεστο αμφιθέατρο του παλαιού Χημείου, στην οδό Σόλωνος και ελάμβανα μέρος στις μοναδικές για την εποχή μικροσκοπικές ασκήσεις του Εργαστηρίου του, στο πίσω μέρος του κεντρικού κτηρίου του Πανεπιστημίου, στην οδό Ακαδημίας.

Ηταν τότε στην ακμή της ηλικίας του, υπερύψηλος, ευθυτενής, λεπτόσωμος, με αέτιο προφίλ και βλέμμα, κατάμαυρα μαλλιά και ωραία, βαριά φωνή. Ρήτορας απαράμιλλος, ξεχώριζε από όλους τους άλλους διδάσκοντες με την σαφήνεια και την κομψότητα του ύφους του, το πηγαίο χιούμορ του, την μεταδοτικότητα της διδασκαλίας του, το εύρος και το βάθος των γνώσεών του. Αλλά και στο Εργαστήριο Ζωολογίας που διηύθυνε, η ανελλιπής παρουσία του – παρότι περιστοιχιζόταν από άξιους επιμελητές-συνεργάτες – οι εύστοχες παρατηρήσεις του, η αξιοπρέπεια, η ευγένεια και η προσήνεια των τρόπων του μας εντυπωσίαζαν. Ηταν, με δυο λόγια, για μας «τα πρωτοετάκια» ο κατ'εξοχήν «πανεπιστημιακός καθηγητής», που αντικρίζαμε πάντα με κάποιο δέος.

Πέρασαν κι άλλα, αρκετά χρόνια. Στα τέλη της δεκαετίας του 1950 οι δρόμοι μας συναντώνται, για τα καλά αυτή τη φορά. Χωρίς να με γνωρίζει προσωπικά, παρά μόνο χάρις στις ερευνητικές εργασίες μου στο Πανεπιστήμιο της Γενεύης όπου δίδασκα, μου γράφει και με προτρέπει να υποβάλω υποψηφιότητα στην Έδρα της Ζωολογίας του Πανεπιστημίου και στην διεύθυνση του Ζωολογικού Μουσείου. Η τιμητική αυτή πρόσκληση από εκείνον, που είχε λαμπρύνει με την παρουσία του την έδρα για μια εικοσιπενταετία, τελεσφόρησε. Έτσι, από το 1961 ως τον αναπάντεχο θάνατό

του το 1973, είχα το αξιοσημείωτο προνόμιο να τον διαδεχθώ και να τον ζήσω από πολύ κοντά ως συνάδελφο, σύμβουλο, στενό συνεργάτη και εγκάρδιο φίλο. Υπήρξε ο μέντοράς μου στην ακαδημαϊκή και επιστημονική κοινότητα της πατρίδας μου! Ο σεβασμός, η ευγνωμοσύνη, η εκτίμηση και η ένθερμη αγάπη που ένοιωθα για τον Γιώργο Πανταζή, παραμένουν άσβεστες μέχρι σήμερα.

Στη συνέχεια θα προσπαθήσω να σκιαγραφήσω με μερικές αδρές πινελιές αυτή την πράγματι χαρισματική προσωπικότητα.

Η πρωιμότητα χαρακτήριζε τις σπουδές και την ακαδημαϊκή σταδιοδρομία του: Τελειώνει το Γυμνάσιο της Μυτιλήνης σε ηλικία 16 ετών και αρχίζει αμέσως σπουδές Ιατρικής στο Πανεπιστήμιο της Λειψίας (Γερμανία). Πτυχιούχος ιατρός, 21 ετών. Μεταπτυχιακές σπουδές Βιολογίας στο Πανεπιστήμιο του Μονάχου, όπου αναγορεύεται Διδάκτωρ, μόλις 23 ετών. Ερευνητής – υπότροφος της Βαυαρικής Ακαδημίας των Επιστημών – εργάζεται στον φημισμένο *Stazione zoologica* της Νάπολης (Ιταλία). Επιστρέφει οριστικά στην Ελλάδα το 1931 και διορίζεται Καθηγητής της Υγειονομικής Σχολής Αθηνών, μόλις 25 ετών. Έκτακτος Καθηγητής της Ζωολογίας στο Πανεπιστήμιο Αθηνών, 27 ετών και τακτικός Καθηγητής της έδρας, 31 ετών. Και όλα αυτά σε εποχή που τα γερμανικά διδακτορικά εθεωρούντο τα πιο αξιόλογα στην ηπειρωτική Ευρώπη και οι τακτικές έδρες στο Πανεπιστήμιο Αθηνών ήταν ελάχιστες. Πιστεύω πως, αν είχε γεννηθεί μουσικός, θα ήταν ένα «παιδί θαύμα».

Πνεύμα οργανωτικό και πολύπλευρο με ακατάβλητη εργατικότητα και οξυδέρκεια, συνδύαζε την πλήρη διδακτική, ερευνητική και διοικητική απασχόληση στο πανεπιστήμιο με τεράστια εξωπανεπιστημιακή δραστηριότητα. Έχοντας οξύτατη αίσθηση των προβλημάτων και των αναγκών της Ελλάδας στην έρευνα, την παιδεία, την υγεία, την αλιεία, το περιβάλλον, δεχόταν αφιλοκερδώς την συμμετοχή του σε πάμπολλα γνωμοδοτικά ή και αποφασιστικά όργανα της Πολιτείας καθώς και σε σημαντικούς μη κυβερνητικούς οργανισμούς και φορείς.

Θα περιορισθώ να αναφέρω την θητεία του ως αντιπροέδρου της Ελληνικής Επιτροπής Ατομικής Ενεργείας και την καταλυτική συμβολή του στην ίδρυση, οικοδόμηση, εξοπλισμό και στελέχωση του Κέντρου Πυρηνικών Ερευνών «Δημόκριτος», ιδιαιτέρως δε των τμημάτων Βιολογίας και Εντομολογίας. Επίσης την για περισσότερο από μια τριακονταετία ενασχόλησή του με την βιολογία της θάλασσας και την αλιεία στο Συμβούλιο Αλιείας του Υπουργείου Γεωργίας, καθώς και στο Υδροβιολογικό Ινστιτούτο της Ακαδημίας Αθηνών (κατόπιν Ινστιτούτο Ωκεανογραφικών & Αλιευτικών Ερευνών), του οποίου υπήρξε Γενικός Διευθυντής.

Θα ήταν κουραστική η απλή απαρίθμηση των άλλων Κέντρων, Επιτροπών, Ινστιτούτων και επιστημονικών Εταιρειών (UNESCO, Κέντρο Κοινων. Επιστημών, Ελλ. Εταιρ. Προστασίας της Φύσεως κα) όπου η συμμετοχή του και η εποπτεία του υπήρξαν καθοριστικές. Ηταν περιζήτητος

για το κύρος, τις γνώσεις, την οξύνοια, τον δυναμισμό του. Συχνά απορούσα, βλέποντάς τον να αγωνίζεται να φέρει σε πέρας πολλές προσπάθειες μαζί. Μου απαντούσε, χωρίς έπαρση, αλλά με πλήρη επίγνωση των ικανοτήτων του: – *Βασίλη, στην Ελλάδα οι κατάλληλοι άνθρωποι γι' αυτά τα έργα σπανίζουν. Οταν λοιπόν βρουν κάποιον, τον επικαλούνται αδιάκοπα και πιεστικά.*

Ηταν πολύγλωσσος. Εκτός από την τέλεια και βαθιά γνώση της γερμανικής, αποτέλεσμα των σπουδών του στην προναζιστική Γερμανία, γνώριζε, μιλούσε, έγραφε άριστα γαλλικά, ιταλικά, αγγλικά και ισπανικά Το τελευταίο αυτό διαπίστωσα σε μια έξοδό μας οικογενειακώς στην Γενεύη, όπου δειπνήσαμε σε εστιατόριο ισπανικής κουζίνας. Ο καθηγητής ευχαριστήθηκε τόσο από τα εδέσματα ώστε κάλεσε τον chef στο τραπέζι μας για να τον συγχαρεί. Στα έκπληκτα βλέμματά μας του απηύθυνε τον λόγο, όχι στα γαλλικά ή στα γερμανικά, αλλά σε άπταιστα ισπανικά με τέλεια προφορά.

Σε εποχές, που στην παγκόσμια επιστημονική κοινότητα δεν κυριαρχούσε ακόμα η αγγλική, η ευχέρειά του και με άλλες ευρωπαϊκές γλώσσες – φαινόμενο σπάνιο, σχεδόν μοναδικό στους πανεπιστημιακούς κύκλους της Ελλαδίτσας μας – του επέτρεψε να έχει μια σφαιρική εποπτεία της διεθνούς βιβλιογραφίας, γνώση των συγχρόνων ρευμάτων της Επιστήμης, άνεση σχέσεων με τους ξένους διπλωμάτες, επιστήμονες και τους τεχνικούς και να βοηθήσει αποφασιστικά στην μεταπολεμική ανοικοδόμηση και στον εκσυγχρονισμό του Εργαστηρίου, του Πανεπιστημίου και της έρευνας στην πατρίδα μας.

Η αγάπη και το ενδιαφέρον του Πανταζή για τους νέους επιστήμονες εκδηλώθηκε με την αποστολή πολλών Ελλαδιτών σε πανεπιστήμια και ερευνητικά κέντρα του εξωτερικού, καθώς και στον επαναπατρισμό πολλών ομογενών για την στελέχωση του Εργαστηρίου του, του Πανεπιστημίου, του Κέντρου Πυρηνικών Ερευνών «Δημόκριτος» κλπ. Από τις γενεές των γιατρών, οδοντιάτρων, φυσιογνωστών και βιολόγων, που μόρφωσε κατά την υπερτριακονταπενταετία της διδασκαλίας του στο πανεπιστήμιο, αλλά και από τους διδάκτορες, συνεργάτες, βοηθούς και επιμελητές του, προέκυψαν διαπρεπείς καθηγητές Ελληνικών και ξένων πανεπιστημίων, ηγετικά στελέχη ερευνητικών κέντρων και άξιοι επαγγελματίες στην χώρα μας και στην αλλοδαπή

Ανθρωπος μεγάλης και πολύπλευρης μόρφωσης, αφάνταστα καλλιεργημένος, γνώστης της ιατρικής, της πανίδας και χλωρίδας, της γεωγραφίας και της ιστορίας, της αρχαιολογίας, της λογοτεχνίας και των κοινωνικών συνθηκών της πατρίδας μας, αλλά και με ευρύτητα ενδιαφερόντων, που ξεπερνούσαν τα όρια της Ελλάδας, ακόμα και της Ευρώπης, διατήρησε μέχρι τέλους μια ανυπόκριτη απλότητα, μια παιδική φρεσκάδα, μια θέρμη καρδιάς που τον έκαναν αγαπητό και συμπαθή σε όλους.

Περιζήτητος στις κοινωνικές συναναστροφές για το πηγαίο χιούμορ του, το κέφι του, τα ανέκδοτά του (όποιος δεν άκουσε από το στόμα του την διήγηση της καταστροφής της Σμύρνης από «ελληνόφωνο» Αρμένιο, δεν γνώρισε ένα από τα πολλά κρυφά ταλέντα του), παρέμεινε κατά βάθος άνθρωπος του σπιτιού, του γραφείου, της οικογένειας – έχοντας την τύχη να έχει δίπλα του την αφοσιωμένη σύζυγό του Λέλα, που υπεραγαπούσε – της μικρής καλής παρέας των φίλων του και του επιτελείου των συνεργατών του.

Ο πολυτάλαντος και χαρισματικός καθηγητής Πανταζής, ως άνθρωπος θα είχε ασφαλώς και ελαττώματα και αδυναμίες. Ποιος μας δεν έχει; Πχ. αυτός, ο τόσο θαρραλέος και μοντέρνος ένιωθε έναν ανεξήγητο φόβο για τα αεροπορικά ταξίδια. Η αδυναμία του αυτή τον εμπόδισε να επισκεφθεί την Αμερική και τον υποχρέωνε να ταξιδεύει στην Ευρώπη με πλοίο, τρένο ή αυτοκίνητο. Κάποτε, προκειμένου να εκπροσωπήσει την Ελλάδα στην διεθνή διάσκεψη της UNESCO, στο Νέο Δελχί της Ινδίας, πήγε με το τρένο μέσω Τουρκίας και Ιράκ ως την Βασόρα, απ'εκεί με πλοίο ως την Βομβάη και πάλι με τρένο ως το Ν.Δελχί. Επέστρεψε από τον ίδιο δρόμο. Ένα ταξίδι, α λα Ιούλιος Βερν, τον 20ον αιώνα.

Εφέτος, συμπληρώνονται 30 χρόνια από τον θάνατο του Γιώργου Πανταζή. Ο πατέρας της σύγχρονης Ελληνικής Βιολογίας ξεκίνησε από τον Πολιχνίτο, από την Λέσβο, για να διαπρέψει στην Αθήνα και στην Ευρώπη. Η ανάμνησή του, σε μας που είχαμε την ευκαιρία να τον γνωρίσουμε και να τον ζήσουμε από κοντά, θα μείνει αξέχαστη και το παράδειγμα της ζωής του για τους συντοπίτες του και τους νέους βιολόγους, υποδειγματικό.

Θ Υ Μ Α Μ Α Ι.....

του Θεοχάρη Α. Παταργιά

Καθηγητή Βιολογίας και Γενετικής του Ε. Κ. Πανεπιστημίου Αθηνών

Είναι πολύ δύσκολο να γράψεις μέσα σε 2-3 σελίδες όσα θυμάσαι από μια δωδεκαετή συνεργασία με τον Καθηγητή Γεώργιο Πανταζή. Όμως, θα προσπαθήσω να το κάνω ξεχνώντας σκόπιμα πολλά περιστατικά.

Τον Καθηγητή Γεώργιο Πανταζή τον πρωτογνώρισα ως πρωτοετής φοιτητής από τις παραδόσεις που μας έκανε στο μάθημα της Γενικής Βιολογίας. Ήταν ψηλός, ρωμαλέος, επιβλητικός, ευγενής και μας καθήλωνε στο αμφιθέατρο με το «λέγειν» του και με την εντυπωσιακή του διδασκαλία. Από τον Πανταζή πρωτοάκουσα το «Ντε Εν Α» (DNA) και το «Ερ Εν Α» (RNA), και τις πάπιες του Μπενουά.

Ήμουνα Β΄ετής φοιτητής και με το συνάδελφο Βασίλη Μαρμάρα, μετά από πρόσκληση του Καθηγητή Πανταζή βρεθήκαμε στο Εργαστήριο Βιολογίας που ήταν εγκατεστημένο στα υπόγεια της Νομικής Σχολής, στη γωνία Σίνα και Σόλωνος. Βρεθήκαμε εκεί για να βοηθήσουμε στη δημιουργία των ασκήσεων Βιολογίας. Την εποχή αυτή ο Πανταζής έφευγε από την Έδρα της Ζωολογίας και αναλάμβανε την Έδρα της Βιολογίας. Τη θέση του Πανταζή θα έπαιρνε ένας νεαρός Καθηγητής από την Ελβετία. Ο Βασίλειος Κιόρτσης.

Το Εργαστήριο Βιολογίας αποτελείτο από μια αίθουσα ασκήσεων 60 θέσεων, από ένα παρασκευαστήριο 3Χ3 τ.μ., από μια μακρόστενη βιβλιοθήκη με ράφια Dexion γύρω-γύρω και από τον προθάλαμο και το γραφείο του Πανταζή. Το προσωπικό του Εργαστηρίου ήταν ο Κώστας Κατρίτσης, ο Χρήστος Περσιάνος, η Miss Βέρα και μερικοί ''εθελοντές''. Στους εθελοντές συμπεριλαμβάνονταν ο Κώστας Ζαφειράτος, ο οποίος υπηρετούσε στο Εργαστήριο Ζωολογίας, ο τελειόφοιτος, τότε, του Φυσιογνωστικού Βαγγέλης Μουδριανάκης, ορισμένοι πτυχιούχοι Φυσιογνώστες που υπηρετούσαν στο ΚΠΕ «ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ», όπως οι Καίτη Δασίου, Ελένη Πολίτη, Κατερίνα Μυριαγκού, Ελευθέριος Σίδερης, Λυδία Ιγνατιάδου, Παύλος Καρατζάς, Χριστίνα Σάββα, Κούλα Βομβογιάννη, και οι δευτεροετείς τότε φοιτητές Βασίλης Μαρμάρας και εγώ. Εμείς οι δύο ήμασταν συνεχώς μαζί. Ήταν δύσκολο να μας ξεχωρίσουν και ακόμη δυσκολότερο να θυμούνται τα επίθετά μας. Η Miss Βέρα, που εκτελούσε και χρέη γραμματέως και αποτελούσε την εύθυμη νότα του Εργαστηρίου μας αποκαλούσε ''παραράδες'' (από συγχώνευση τμημάτων των επιθέτων Παταργιάς-Μαρμάρας). Παρατσούκλι που μας ακολούθησε αρκετά χρόνια μετά.

Ο Πανταζής την εποχή εκείνη ετοίμαζε τις ασκήσεις. Ερχότανε εκτός από τα πρωινά και κάθε απόγευμα. Μπροστά σε μια γραφομηχανή έχοντας

ανοιχτά 3-4 ξενόγλωσσα βιβλία, Γερμανικά και Αγγλικά έγραφε μανιωδώς τις «ασκήσεις μικροσκοπίου». Θαυμάζαμε την ευχέρεια που είχε να μεταφράζει και να συγγράφει.

Από μια τεχνητή λίμνη που βρισκόταν στο φωταγωγό του κτιρίου της Νομικής Σχολής διαστάσεων 3Χ4 τ.μ. με στάσιμο νερό «ψαρεύαμε» φύκη, τα οποία μέσα σε ένα τρυβλίο petri, ο Πανταζής προσπαθούσε να αναγνωρίσει για να αποτελέσουν το υλικό των ασκήσεων. Αυτό γινόταν αναλόγως, άλλοτε στις 6 ή στις 8 το βράδυ. Δεν υπήρχε συγκεκριμένη ώρα αλλά συγκεκριμένη διάθεση.

Συνήθως ο Βασίλης και εγώ καθόμαστε όρθιοι δίπλα ή πίσω του και κάθε τόσο μας έδειχνε στο μικροσκόπιο τι έβλεπε.

Λίγο αργότερα στο Εργαστήριο ήλθε ο Ντίνος ο Χριστοδούλου και ο Νίκος ο Κοκόλης. Αυτοί ήτανε πολύ μπροστά στην Ιεραρχία από εμάς.

Την εποχή αυτή ασκούσαμε περί τους 700-800 φοιτητές κάθε χρόνο. Φοιτητές της Ιατρικής Σχολής, του Φυσιογνωστικού, του Φαρμακευτικού, του Φυσικού, του Μαθηματικού και του Χημικού Τμήματος.

Οι ασκήσεις άρχιζαν το πρωί στις 8 και τελειώνανε το απόγευμα στις 6. Κάθε Τετάρτη είχαμε τους Χημικούς 6-9 μ.μ. Χρήματα για εξοπλισμό δεν υπήρχαν. Ο Πανταζής κατάφερνε, εκμεταλλευόμενος τις γνωριμίες του, να βρίσκει δωρητές, όπως τους Μπακάκο και Μαρινόπουλο. Έτσι αγοράστηκαν τα πρώτα 60 μονοφθάλμια μικροσκόπια, αρκετά από τα οποία λειτουργούν και σήμερα, έτσι αγοράστηκαν τα πρώτα φωτογραφικά όργανα και η πρώτη φωτογραφική μηχανή Leica. Χωρίς υπερβολή το Εργαστήριο Βιολογίας την εποχή εκείνη ήταν το καλλίτερο Εργαστήριο σε όλη τη Φυσικομαθηματική Σχολή.

Η έρευνα τότε δεν ήταν στην κορυφή του καταλόγου προτεραιοτήτων. Ευτυχώς είχαν έρθει στο εργαστήριο ο Χριστοδούλου και η Μαριέτα Ισιδωρίδου, οι οποίοι μας βοήθησαν. Ο Πανταζής δεν μας έλεγε ποτέ όχι σε οτιδήποτε θέλαμε να κάνουμε η οπουδήποτε θέλαμε να πάμε για να μάθουμε κάτι καινούργιο.

Λίγο αργότερα άρχισαν οι προετοιμασίες για το Εργαστήριο Βιοχημείας. Μας παραχωρήθηκε κάποιος διπλανός χώρος και αρχίσαμε την προετοιμασία των Βιοχημικών ασκήσεων. Δημιουργήσαμε 60 θέσεις εργασίας. Η κάθε άσκηση διαρκούσε μια εβδομάδα, σε κάθε άσκηση χρησιμοποιούνταν τουλάχιστον 10-15 διαφορετικά φιαλίδια με αντιδραστήρια και κάθε Σάββατο βράδυ μαζεύαμε περίπου 1000 φιαλίδια αντιδραστηρίων και τοποθετούσαμε άλλα 1000 φιαλίδια για τη επόμενη άσκηση. Παράλληλα βέβαια κάναμε και τις ασκήσεις μικροσκοπίου. Είχαμε περίπου 12 τμήματα των 60 φοιτητών που ασκούνταν δυο φορές την εβδομάδα. Μια στο μικροσκόπιο και μια στη Βιοχημεία.

Ο Πανταζής πάντοτε από πάνω μας έλεγχε την κατάσταση, ενώ εμείς δημιουργούσαμε πολύ ευχάριστη ατμόσφαιρα με τα αστεία, με τις φάρσες, με τα καλαμπούρια που ξεχνάγαμε ότι ήταν Σαββατόβραδο.

Μετά από λίγα χρόνια μας παραχώρησαν το μικρό διαμέρισμα που έμενε ο κλητήρας της Νομικής καθώς και τα ουρητήρια της Νομικής Σχολής τα οποία τα διαμορφώσαμε σε γραφεία (στο γνωστό, σε εμάς, κοτέτσι) και εργαστηριακούς χώρους με προσωπική μας εργασία στις ηλεκτρολογικές και υδραυλικές εγκαταστάσεις.

Περάσανε έτσι αρκετά χρόνια και η γνωριμία μας με τον Πανταζή (ο Χριστοδούλου τον έλεγε Δάσκαλο) έγινε ακόμα μεγαλύτερη. Πολλά βράδια, μετά τη δουλειά στο Εργαστήριο, μας έπαιρνε σπίτι του όπου μας περίμενε η πανέμορφη σύζυγος του, η Λέλα όπως την έλεγε, έχοντας ετοιμάσει μια νόστιμη μακαρονάδα. Στο σπίτι, εκτός από τη γλυκυτάκη κ. Πανταζή, μάς υποδέχονταν και η κ. Παναγιώτα που μαγείρευε υπέροχα, και μια χαριτωμένη και ευγενική δεσποινίς, η Ιουλία, η σημερική κ. Μαργαρίτη. Εκεί βλέπαμε πολύ συχνά έναν νεαρό φοιτητή του Φυσικού, τον Λουκά Μαργαρίτη, ο οποίος διάβαζε, αλλά συνήθως έλυνε και συναρμολογούσε ραδιόφωνα. Αργότερα, όταν στο εργαστήριο ήρθε το πρώτο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο που αγοράστηκε με φροντίδα της Μαριέτας Ισιδωρίδου, ο Λουκάς ανέλαβε τη συναρμολόγηση και τη λειτουργία του. Το μικροσκόπιο αυτό λειτουργεί ακόμη και σήμερα χάρη στη φροντίδα του Λουκά. Ας επιστρέψουμε όμως στη Μακαρονάδα. Τι γινότανε μετά; Μετά ….. χαρτάκι. Μας έμαθε ο Πανταζής και παίζαμε πότε πινάκλ και πότε κούπες. Στην παρέα ερχότανε το ζεύγος Σαμαρά και το ζεύγος Ιορδάνογλου. Φαντάζεσθε πως αισθανόμαστε εμείς οι ..... Παραράδες σ'αυτό το περιβάλλον! Αν πάλι δεν πηγαίναμε σπίτι του; Ε', τότε καθόμαστε πολλά βράδια στη βιβλιοθήκη και συζητούσαμε για τα εργαστήρια , αλλά και περί ανέμων και υδάτων! Θυμάμαι ερχόντουσαν οι Τάκης Παπατρύφωνας (ή φαντομάς) από το εργαστήριο του Διαπούλη, Γρηγόρης Μαράκης από την Ορυκτολογία, Γρηγόρης Μαντούβαλος και Τάκης Τσουκάτος από τη Βοτανική, Κώστας Ζαφειράτος από τη Ζωολογία, και βέβαια εμείς του εργαστηρίου, π.χ. Ντίνος Χριστοδούλου, Κώστας Καστρίτσης, Βαγγέλης Μουδριανάκης, Βασίλης Μαρμάρας κι εγώ. Συνήθως σχολιάζαμε τις φάρσες με τον Παχωπό, επιμελητή της τότε Ζωολογίας, ή τις γκάφες της Miss Βέρας. Ορισμένα βράδια ερχόταν και ο Κώστας Κριμπάς που έβλεπε παρασκευάσματα χρωμοσωμάτων στο μικροσκόπιο στον προθάλαμο του Γραφείου του Πανταζή. Την εποχή εκείνη εμφανίσθηκε και η Καιτούλα, η σημερική σύζυγος του Ντίνου Χριστοδούλου.

Πολλές Κυριακές όταν ο καιρός ήταν καλός μας έπαιρνε και πηγαίναμε ημερήσιες εκδρομές για να μαζέψουμε βιολογικό υλικό για τις ασκήσεις. Θυμάμαι μαζεύαμε χλωροφύκη και φαιοφύκη. Θυμάμαι επίσης ότι πήγαμε μια φορά στο Ξυλόκαστρο, μιαν άλλη φορά στον Ωρωπό, άλλη φορά στη Κοπαΐδα, όπου φάγαμε πέστροφες, ενώ ατυχήσαμε στη προσπάθεια να βρούμε κάτι. Τίποτα!

Ο Πανταζής ήταν πολύ κοινωνικός. Δεξιώσεις, επίσημες εκδηλώσεις, κοινωνικές συναναστροφές. Παντου παρών! Παρ όλ αυτά ήθελε την παρέα μας. Την παρέα ημών, των μικρών....παραράδων. Για αυτό, ιδίως τον

τελευταίο καιρό μας ήθελε διαρκώς κοντά του, και «θύμωνε» αν καμιά φορά το «σκάγαμε» για να πάμε και εμείς σαν νέοι της εποχής μας με άλλη παρέα.

Ο Πανταζής διοργάνωνε κάθε σχεδόν χρόνο εκπαιδευτικές εκδρομές για τους τελειόφοιτους. Στις εκδρομές ερχόντουσαν και οι Καθηγητές Μητσόπουλος της Γεωλογίας, Διαπούλης της Βοτανικής, Φούφας της Βοτανικής, Γαλανόπουλος της Σεισμολογίας, Συμεωνίδης από την Παλαιοντολογία, Ψαριανός από την Φυσική Γεωγραφία και Κρητικός της Φαρμακογνωσίας. Θυμάμαι έτσι πήγαμε στη Ρόδο, στη Μυτιλήνη, στην Καστοριά, στη Σαντορίνη, στην Κρήτη. Εκεί ο Πανατζής γινότανε ένα με εμάς. Γινότανε παιδί. Τα πειράγματά του, οι φάρσες του, ήταν μοναδικές.

Ο Πανταζής ήταν πολύ γνωστός στον ευρύτερο φοιτητικό κόσμο από το στιλ των παραδόσεών του. Όταν έκανε μάθημα, είτε στο Αμφιθέατρο του Παλαιού Χημείου, είτε αργότερα στην ΙΡΙΔΑ, φοιτητές και φοιτήτριες από άλλα Τμήματα ερχόντουσαν να τον ακούσουν. Με τα ανέκδοτά του, με τις εντυπωσιακές εκπαιδευτικές ταινίες, με τις διαφάνειες, έκανε το πιο ωραίο μάθημα!

Ο Καθηγητής Πανταζής για μένα υπήρξε ο πνευματικός πατέρας. Μου δίδαξε πολλά. Μου έμαθε να αγαπώ το εργαστήριο, να το «πονάω» και να το βλέπω σαν το σπίτι μου. Ασφαλώς έζησε σε μιαν άλλη εποχή. Άλλη νοοτροπία, άλλο κλίμα. Υπήρχε όμως ο σεβασμός σε όλους από όλους. Μερικές φορές τη νοσταλγούμε αυτή την εποχή. Εμείς οι μαθητές του συνέχεια τον θυμόμαστε γιατί υπήρξε μια Προσωπικότητα που σπάνια συναντά κανείς. Θεωρώ τον εαυτό μου τυχερό που έζησα κοντά του περισσότερο από μια δεκαετία.

ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΠΑΝΤΑΖΗΣ, Ο ΔΑΣΚΑΛΟΣ ΜΑΣ

Κωνσταντίνος Ζαφειράτος
Ομότιμος Καθηγητής ΕΚΠΑ

Ο Άνθρωπος ο Δάσκαλος ο Πρωτοπόρος Οδηγός
για την Βιολογία στην Ελλάδα είναι Αυτός Δημιουργός

εις την Αθήνα εσπούδασε Ιατρική και μετεκπαίδευση έκαμε στη Γερμανία
έγινε νεότατος καθηγητής με έδρα τη Ζωολογία

εκεί εδημιούργησε το φυτώριο το πρώτο για την Βιολογία
σε χώρο στα κεντρικά κτήρια πίσω από την Πρυτανεία

το μάθημά του «Εισαγωγή στη Βιολογία των Ζωϊκών Οργανισμών»
το άκουσαν και ασκήθηκαν χιλιάδες φοιτητές της Ιατρικής και των Φυσικών Επιστημών

για βιολόγους εσπούδασε τους Φυσιογνώστες φοιτητές
που στην Ελλάδα ήσαν οι πρώτοι στις βιολογικές επιστήμες εκπαιδευτές

και δεν σταμάτησε εδώ προχώρησε και πάλι
γιατί ήθελε στη Βιολογία να δώσει ώθηση μεγάλη

και όταν το 1960 στο Πανεπιστήμιο υπήρχαν μόνο τα παλιά κτήρια
αυτός το πρώτο εργαστήριο Βιολογίας έστησε στης Νομικής τα υπόγεια ουρητήρια

και από εδώ εσχεδίασε τη νέα του πορεία
να οδηγήσει την επιστήμη του στη σύγχρονη Βιολογία

στα Ινστιτούτα ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ και ΙΩΚΑΕ που έκαναν έρευνα και στην Βιολογία
ο Πανταζής την οργάνωσε και είχε την επιστημονική της εποπτεία

και όταν το 1970 απεχώρησε φρόντισε πάλι την επιστήμη
αφήνοντας άξιους συνεχιστές με ήθος και επιστημοσύνη

και στα καινούρια κτήρια του Βιολογικού έδωσε φροντίδα και εκεί
γιαυτό τα σχέδια δόμησης και διανομής έχουν του Πανταζή σφραγίδα και υπογραφή

έτσι ξεκίνησε ο Πανταζής μετά ήλθαν και άλλοι
και έφτιαξαν ένα Βιολογικό με εξειδίκευση μεγάλη

Ήταν καλός ομιλητής σε κάθε ακροατήριο
όμως τους φοιτητές εμάγευε στο μάθημα και εργαστήριο

στην επιστήμη του ήταν σαφής χωρίς περιτολογία
γιατί το Λακωνίζειν πίστευε αποτελεί σωστή παιδεία

έτσι τα αμφιθέατρα στη Σόλωνος πάντοτε επλημμύριζαν
γιατί στις παραδόσεις του οι φοιτητές τη γνώση της Βιολογίας εστήριζαν

πάντοτε εδούλευε σκληρά από το πρωϊ μέχρι το βράδυ
και πάντοτε εύρισκε καιρό στο γάτο του να δώσει ένα χάδι

και εμείς που εβαδίζαμε στα ίχνη τα δικά του
θέλαμε να του μοιάσουμε στο ήθος και στη λεβεντιά του

Αυτός ήταν ο Πανταζής γεμάτος καλοσύνη
με ανθρωπιά και αξιοπρέπεια και περισσή νοημοσύνη

και οι βοηθοί του σήμερα όλοι καθηγητές
έγιναν τώρα οι ίδιοι των Βιολογικών επιστημών οργανωτές

να συνεχίσουν του Δασκάλου την παράδοση κάτι που μπορεί κανείς να δεί
με τις μεθόδους και το πνεύμα τους ΕΚΕΙΝΟΣ πάντα ζεί.

Η ΔΙΑΧΡΟΝΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΥ Γ. ΠΑΝΤΑΖΗ

Ευάγγελος Ν. Μουδριανάκης

Καθηγητής Μοριακής και Κυτταρικής Βιοφυσικής
Πανεπιστημίου Αθηνών

Η αναδρομή στην τελευταία δεκαετία του 1950 και στην επίδραση της προσωπικότητας του αείμνηστου μεγάλου δασκάλου Γεωργίου Πανταζή στις Βιοιατρικές επιστήμες του Ελληνικού χώρου, μου δημιουργεί, ταυτόχρονα, αισθήματα χαράς αλλά και «γλυκού πόνου». Είναι πάντοτε χαρά για μένα να επισκέπτομαι νοερώς την εποχή της χειμαρρώδους μάθησης, τότε που εμπνευσμένοι δάσκαλοι πότιζαν διψασμένα μυαλά με ο,τι καλύτερο είχαν να προσφέρουν. Πόνο μου προκαλεί το γεγονός ότι αισθάνομαι το αδύνατο της προσωπικής επικοινωνίας σήμερα με τον δάσκαλό μου, για να κουβεντιάσω ξανά μαζί του, πρόσωπο με πρόσωπο, και να «φιλτράρω» ιδέες μου, μέσα από το διαπεραστικό πνεύμα της αναλυτικής του νοημοσύνης , και να αισθανθώ και πάλι σιγουριά.

Ο Γεώργιος Πανταζής υπήρξε για την γενιά μας μία προσωπικότητα που ξεπερνούσε τα όρια ενός επιστήμονα συγκεκριμένης ειδικότητας. Γιατί μέσα από τα μαθήματα Βιολογίας μας πέρναγε μηνύματα Φυσικής και Χημείας κατά τρόπο που μας έμαθε να αισθανόμεθα την σύνδεση των τριών αυτών φιλοσοφικών προσεγγίσεων των φαινομένων της ζωής σαν ένα μοναδικό και αδιαίρετο τρόπο μίας αληθινής και ολοκληρωμένης έρευνας.. Το διαχρονικό σύγγραμμα του "Εισαγωγή στην Βιολογία των Ζωικών Οργανισμών" αρχίζει με την παρουσίαση εκείνων των νόμων της Φυσικής και της Χημείας που είναι απαραίτητοι και αναγκαίοι για την ορθολογιστική προσέγγιση και ανάλυση της οργανώσεως του ευκαρυωτικού κυττάρου αλλά και για την εκτίμηση της σοφίας που κρύβει ο συντονισμός του κυτταρικού μεταβολισμού μέσω του νόμου της δράσεως των μαζών. Δεν απομνημονεύαμε "ξερά" μονοπάτια μεταβολισμού μέσα από τις παραδόσεις του! Μάθαμε να συνθέτουμε, να δημιουργούμε, και να περνάμε στο τέλος τις "ανακαλύψεις" του νου μας από το φίλτρο της λογικής που απέρρεε από λιγοστούς θεμελιώδεις γενικούς νόμους της Φύσεως . Αυτό, για μένα, είναι το ευεργέτημα που μου χάρισε η μαθητεία κάτω από τον δάσκαλο Πανταζή, και από τον επίσης εμπνευσμένο δάσκαλο Φυσικής, και καλό του φίλο, κ. Καίσαρα Αλεξόπουλο. Τυχεροί εκείνοι που απήλαυσαν την παιδεία και των δύο αυτών προσωπικοτήτων. Ακόμα και σήμερα στις παραδόσεις των μαθημάτων μου τόσο στο Πανεπιστήμιο Αθηνών όσο και στο Johns Hopkins της Αμερικής, χρησιμοποιώ πολλά από τα διαχρονικά παραδείγματα το συγγράμματος Πανταζή, όπως την αρχή της ηλεκτροστατικής διπλοστιβάδας (για τα μοντέλα των κυτταρικών μεμβρανών), ή τις ιδιότητες των "αναστρεπτών κολλοειδών" για να

ερμηνεύσω την συμπεριφορά της χρωματίνης και των χρωμοσωμάτων, και άλλα.

Ο Πανταζής είναι κατά την γνώμη μου εκείνος που εισήγαγε τη Μοριακή Βιολογία στην Ελλάδα, όχι με τη στενή έννοια της γενετικής μηχανικής της σήμερον (δεν υπήρχαν τότε περιοριστικά ένζυμα, ούτε και PAGE, και η διπλοέλικα του DNA ήταν σε «ηλικία» μόνο 5-10 χρόνων), αλλά με την έννοια ότι μας παρότρυνε όλους να αναλύσομε τις εκδηλώσεις των φαινομένων της ζωής στο επίπεδο των μορίων.

Αυτή την κίνηση την ενσάρκωσε μέσω της άλλης δημιουργίας του, του κέντρου Βιολογικών ερευνών στον αγαπημένο του ΔΗΜΟΚΡΙΤΟ. Με είχε τιμήσει ιδιαίτερα το γεγονός ότι στα αρχιτεκτονικά σχέδια του μελλοντικού κέντρου Βιολογίας του Δημοκρίτου (η εύρεση και διασφάλιση των χρηματικών πόρων ήταν δικό του έργο), με είχε εμπλέξει ουσιαστικά, εμένα ένα απλό τριτοετή φοιτητή. Θυμάμαι τις ατελείωτες συζητήσεις με τους μηχανικούς και το συνεχές και έντονο ενδιαφέρον του στο να γίνει το έργο σωστό και να εξυπηρετεί τις μελλοντικές ανάγκες του κέντρου. Και σε αυτό τον οραματισμό πάλι ενέπλεκε τους νέους φοιτητές του, τους μελλοντικούς συνεργάτες του! Πιστεύω ότι το χαρακτηριστικό του μεγάλου δάσκαλου δεν είναι να σου μεταφέρει νέες γνώσεις αλλά να σε καλέσει να σταθείτε σε μια κοινή σκοπιά και να αγναντίσετε το μέλλον της γνώσης μαζί. Αυτό το είχε στον τέλειο βαθμό ο δάσκαλός μας Πανταζής!. Και το εχρησημοποίησε πολλαπλά με την αποστολή στο εξωτερικό, με υποτροφίες που εκείνος «ανακάλυπτε», εκείνων που μετά από δυο με πέντε χρόνια έγιναν τα πρώτα ερευνητικά στελέχη του Δημοκρίτου. Εκείνος επέλεξε και τους πρώτους στόχους: Βασική έρευνα κατόπιν επιλογής κατευθύνσεων , π.χ. Βιοχημεία, Κυτταρική Φυσιολογία, Γενετική, κλπ. Αλλά, μέσα σε αυτές τις κατευθύνσεις υπήρχαν και στόχοι με κοινωνικές επιπτώσεις: η καταπολέμηση του δάκου με γενετική προσέγγιση, η καταπολέμηση του εχινόκοκκου μέσω κυτταρικής φυσιολογίας και ανοσολογίας, κλπ.

Τέλος, ο δάσκαλός μας υπήρξε και κοινωνικός διαφωτιστής με τα δημοσιογραφικά άρθρα του και τις πολλές και εμπνευσμένες γενικές ομιλίες με τις οποίες κατάφερνε να κάνει κατανοητά, ακόμα και ελκυστικά, τα μηνύματα των επιστημονικών εξελίξεων της εποχής, ακόμα έκανε αγαπητή και την ατομική ενέργεια (τις εφαρμογές της, δηλαδή). Ας κρίνει ο σημερινός φοιτητής την επιτυχία της «σχολής Πανταζή» από τα «προϊόντα» της στον σημερινό διδακτικό και ερευνητικό χώρο της Ελλάδος αλλά και της αλλοδαπής.

Εις μνήμην

Γεωργίου Πανταζή

Βαλτιμόρη, Αύγουστος 1973

Σε μιά ξένη πόλη δεν αισθάνεται κανείς ξένος όταν τον περιμένει κάποιος δικός του. Η παρουσία του γνωστού προσώπου αυτομάτως κάνει όλα τα άγνωστα φιλικά και οικεία. Η παρουσία του Τάκη Πανταζή, (φοιτητή μου πριν από λίγα χρόνια), ήταν η χαρούμενη προσμονή. Ερχόμουν από Βοστώνη, όπου είχα εκπονήσει ένα μέρος της Υφηγεσίας μου. Μέσα στα λίγα πρώτα λεπτά της συνάντησής μας έμαθα ότι «ο θείος πέθανε!..». Δεν φανταζόταν ο Τάκης ότι δεν είχα προλάβει να το μάθω. Ο θείος του, ο Γεώργιος Πανταζής, ήταν ο δάσκαλός μου, ένας ξεχωριστός πνευματικός μου πατέρας. Αυτόματα η πόλη βούλιαξε γύρω μου. Στη μνήμη μου από τότε δεν υπάρχει τίποτε από αυτή την πόλη. Ούτε ακόμη και αυτό το φημισμένο Πανεπιστήμιο, το Johns Hopkins, που με χαρά περίμενα να το γνωρίσω. Υπάρχει μόνο ένα χρονικό κενό. Από τότε, ακόμη και μετά από 30 χρόνια, το όνομα της πόλης τραβάει αυτόματα στη μνήμη μου, τον σιωπηλό μου εσωτερικό θρήνο. Ο δάσκαλός μου πέθανε· ο δεύτερος πατέρας μου πέθανε· ο Πανταζής πέθανε.

Ίσως σε ένα επιστημονικό μνημόσυνο, να είναι ανορθόδοξο να εκφράζονται συναισθηματικοί τόνοι για ένα μεγάλο Άνθρωπο, Καθηγητή, Πρύτανη, Ακαδημαϊκό. Θα περιμένει κανείς να ακούσει τους ύμνους του μεγαλείου μιάς τέτοιας προσωπικότητας, την ανάλυση της επιστημονικής πληρότητας, του έργου, της προσφοράς στην επιστήμη, όταν μάλιστα όλα αυτά ήταν έργο της ζωής του. Ίσως επειδή για πολλά χρόνια υπήρξα κοντινή συνεργάτις του, είχα ξεχωρίσει ένα στοιχείο του χαρακτήρα του, που ήταν η αμέριστη αγάπη του για την εκπαίδευση και θα μείνω κυρίως σ' αυτό, γιατί έβλεπα ότι το βασικό μέλημά του ήταν οι φοιτητές του σε όλα τα επίπεδα σπουδών τους. Ενδιαφερόταν πραγματικά για τους φοιτητές, που αργότερα θα ήταν το φυτώριο των επιστημόνων. Ενδιαφερόταν για τους νεαρούς συνεργάτες του, για το Πανεπιστήμιο, για τον «Δημόκριτο». Ήξερα από κοντά, πώς εκ του μη όντος έγιναν Εργαστήρια τα υπόγεια της Σόλωνος, Εργαστήρια σύγχρονα εκείνους τους χαλεπούς καιρούς. Ένα μελίσσι φοιτητών και νέων έτρεχαν κοντά του. Νεαροί επιστήμονες του Δημοκρίτου (και όχι μόνον) συνεργάζονταν με τα Πανεπιστημιακά Εργαστήρια Βιολογίας, τόσο που έχανε κανείς τα όρια του Πανεπιστημίου και του Ερευνητικού Κέντρου.

Εκπαιδευτικοί της Μέσης Εκπαίδευσης έκαναν μετεκπαίδευση κοντά του και τα Εργαστήρια της Σόλωνος είχαν γίνει κέντρο μετεκπαίδευσης της ΟΛΜΕ, αλλά και εκπαιδευτήριο παρασκευαστών του «Δημοκρίτου». Είχε

ενδιαφερθεί ακόμη και για την (ξενο)γλωσσική κατάρτιση των μαθητών του. Λειτούργησαν στα Εργαστήρια Βιολογίας, υπό την επίβλεψή του και τμήματα διδασκαλίας της γαλλικής γλώσσας, από ειδικό διδάσκαλο της γαλλικής και παρακολουθούσαν τα προγράμματα αυτά δωρεάν φοιτητές και συνεργάτες του που ενδιαφέρονταν. Ο ίδιος γνώριζε πέντε διαφορετικές γλώσσες και μάλιστα διευκόλυνε αλλοδαπούς πρωτοετείς φοιτητές, που ακόμη δυσκολεύονταν στη χρήση της ελληνικής και τους εξέταζε σε γλώσσα της επιθυμίας τους.

Το μεγάλο αμφιθέατρο του Χημείου, την ώρα των παραδόσεών του, γέμιζε ασφυκτικά και τα όρθια παιδιά έκλειναν ακόμη και τους διαδρόμους. Αυτό δεν τον κολάκευε καθόλου. Αντίθετα, τον στεναχωρούσε. Έψαχνε να βρει λύση και την βρήκε, όταν ένα από τα όρθια παιδιά του λιποθύμησε στα σκαλοπάτια του Χημείου. Δεν δίστασε να κάνει αίθουσα διαλέξεων-μαθημάτων τον κινηματογράφο «Ίριδα». Ποιός άλλος καθηγητής θα τολμούσε να προτείνει και να εφαρμόσει μια τέτοια ανορθόδοξη, για τα πανεπιστημιακά δεδομένα, λύση; Ο Πανταζής το έκανε και ήταν ευχαριστημένος που τα παιδιά του δεν ταλαιπωρούνταν, τουλάχιστον στα χέρια του, από τις κτηριακές ανεπάρκειες της εποχής.

Ενθάρρυνε κάθε ιδέα που την έκρινε εποικοδομητική για τους φοιτητές. Είχαν μείνει ιστορικές οι εθελοντικές αιμοδοσίες των φοιτητών που γίνονταν σε συνεργασία του Εργαστηρίου Βιολογίας με το Ιπποκράτειο Νοσοκομείο. Τον Πανταζή τον είχα γνωρίσει ώς μία από τους συνεργάτες του και θυμάμαι το δημιουργικό του έργο στα αμφιθέατρα, στα Εργαστήρια, στο «Δημόκριτο», στο Ε.Ι.Ε., στις δύο Σχολές (Φυσικομαθηματική, Ιατρική) στην Πρυτανεία, στην Ακαδημία, στη Βιολογική Εταιρεία.

Ο Γεώργιος Πανταζής είχε κατακτήσει δικαίως τα υψηλά στην επιστήμη και γι' αυτό ήταν καταξιωμένος, χωρίς ο ίδιος να διακατέχεται από έπαρση για τις επιτυχίες του. Για μένα κάπου στη Βαλτιμόρη, στην Αθήνα, πριν τριάντα χρόνια, εχθές ή σήμερα (αυτό δεν έχει σημασία) πέθανε ο δάσκαλός μου, αφήνοντάς μου ως τελευταίο ενθύμιο ένα γράμμα που είχα λάβει λίγες μέρες πριν, σίγουρα το τελευταίο της ζωής του, ενθαρρυντικό, πατρικό, προτρεπτικό για την εξέλιξή μου.

Είναι βέβαιο ότι τον θυμάμαι με ευγνωμοσύνη και προσεύχομαι για 'κείνον, όχι μόνον σήμερα που είναι το επιστημονικό – τιμητικό μνημόσυνο και εύχομαι να είναι αιωνία η μνήμη του Κυρίου για τον Γεώργιο Πανταζή.

Ελένη Γκελτή-Δούκα
τ. Εντεταλμένη Υφηγήτρια της Γενετικής]
(ομ. Επίκουρος Καθηγήτρια
του Πανεπιστημίου Αθηνών)

EYPETHPIO
INDEX

Baker R.M., 348, 349
Barnes J., 208, 209
Bashir A., 42,43
Bischler N., 364, 365
Buchenauer H., 284, 285
Carabet A., 284, 285
Cervone F., 86,87
Christadoss P., 132,133
Dahm H., 76,77
De Lorenzo G., 86,87
Di Matteo A., 86,87
Divanach P., 304, 305
Efrose R., 52,53, 78,79, 84,85
Federici L., 288, 289, 86,87
Friguet B., 354, 355
Geissen M., 266, 267
Gergely P., 364, 365
Gherraby W., 208, 209
Ghiso J., 342, 343
Hamamouch N., 196, 197
Harfouche A., 196, 197
Hawker V., 208, 209
Hayat S., 104,105
Hurel C., 244, 245
Johnson K.A., 288, 289, 86,87
Kaback H.R., 340, 341
Lurie S., 268, 269
Maios C., 196, 197
Manescu C., 196, 197
Matias L., 208, 209
Mattei B., 86,87
Nagy V., 364, 365
Pisani F., 288, 289
Porat R., 268, 269
Praly J.-P., 364, 365
Richards M.P., 264, 265
Rivett A.J., 354, 355
Robakis K.N., 92,93
Röhner E., 284, 285
Rohrer H., 266, 267
Rossi M., 288, 289
Rozenzvieg D., 268, 269
Salvi G., 86,87
Samach A., 268, 269
Savino C., 288, 289
Savino C., 86,87
Somsák L., 364, 365
Stratford F.L.L., 354, 355
Wang X.R., 36,37
Wever R., 368, 369

A

Αβραμίδης Ν., 260, 261
Αγαλιώτη Θ., 176, 177
Αϊβαλάκης Γ., 78, 79
Αϊβαλάκης Γ., 84, 85
Αϊδίνης Β., 124,125
Ακριώτης Τ. 2, 3
Αλεξανδράκη Δ., 56, 57, 66, 67
Αλεξόπουλος Ι., 24, 25, 42, 43, 188, 189
Αμπατζόπουλος Θ.Ι., 212, 213
Αναγνωστάκης Ν., 26, 27, 126, 127 358, 359
Αναστασιάδης Γ., 96, 97
Αναστασιάδου Χ., 34, 35
Ανδρέου Α., 228, 229
Ανδριανόπουλος Κ., 28, 29
Ανδριόπουλος Π., 30, 31
Αντωνέλου Μ.Χ., 32, 33
Αξαρλή Ε., 152, 153
Απλικιώτη Μ., 34, 35
Αποστολίδης Α.Π., 134, 135
Αραβανόπουλος Φ.Α., 36, 37, 90, 91, 196, 197
Αριανούτσου Μ.,30, 31, 38, 39, 112, 113, 150, 151, 274, 275
Αρχιμανδρίτης Σ., 366, 367
Ασλάνογλου Χ., 314, 315
Αυγητίδου Α., 118, 119

Β

Βαβουλίδου Ε. 80, 81, 82, 83
Βακωνάκης Ι., 66, 67
Βαλάκος Σ., 4, 5, 6, 7, 12, 13, 14, 15, 310, 311
Βαρβαρήγος Β., 40, 41
Βαρβαρήγου Α., 366, 367
Βασιλάκη Ν., 44, 45
Βασιλάκου Μ., 46, 47, 346, 347
Βελισσαρίου Β., 46, 47

Βένδρα Γ., 232, 233
Βενέτης Κ., 48, 49
Βενιεράκη Α., 50, 51, 52, 53, 78, 79, 84, 85
Βερνίκος Γ.Σ., 54, 55
Βλαντή Α., 240, 241
Βογιατζής Ν., 290, 291, 330, 331, 332, 333
Βουνάτσου Β., 262, 263
Βουτσάς Γ.Φ., 140, 141
Βουτσινά Α., 56, 57, 66, 67

Γ

Γαϊτανάκη Κ. 58, 59, 60, 61, 144, 145
Γακιοπούλου Χ., 234, 235
Γαλάνης Χ., 96, 97
Γαλανίδης Α., 8, 9
Γαλανοπούλου Ν., 72, 73
Γαλάτης Β., 40, 41
Γασπαρινάτου Χ., 220, 221
Γερασόπουλος Δ., 268, 269
Γερμανού Α. 6, 7
Γερονικολού Σ., 62, 63, 64, 65
Γεωργακόπουλος Τ., 66, 67
Γεωργιάδου Χ., 152, 153
Γεωργίου Κ., 350, 351, 352, 353
Γεωργίτση Μ., 118, 119
Γεωργοπούλου Ο., 334, 335
Γιάγκου Μ., 260, 261
Γιανναράκης Ι.Κ., 68, 69
Γιαννίτσαρος Α., 70, 71
Γιαννόπουλος Γ., 214, 215, 232, 233, 234, 235
Γκανά Α., 346, 347
Γκανή-Σπυροπούλου Κ., 84, 85
Γκατζόλα Μ., 290, 291
Γκέλης Σ., 138, 139
Γκελτή – Δούκα Ε., 385
Γκιώνης Β., 230, 231
Γκόγκας Χ.Γ., 54, 55
Γκόνος Ε.Σ., 354, 355
Γκόνου-Ζάγκου Ζ., 142, 143
Γκουντοπούλου Α., 72, 73
Γούλας Χ.Κ. 74, 75
Γουργουλιάνης Κ., 126, 127

Δ

Δαλάκα Α., 262, 263
Δαλάκα Α., 76, 77
Δαλακούρας Θ., 152, 153
Δελής Κ., 78, 79, 84, 85
Δελλά Α., 348, 349, 352, 353
Δελλαπόρτα Λ., 80, 81, 82, 83
Δερμών Κ.Ρ., 304, 305
Δημητρακόπουλος Π.Γ., 8, 9
Δημητριάδης Ε., 276, 277
Δημητρίου Ε., 270, 271
Δημόπουλος Ν., 28,29, 158, 159, 252, 253
Δημόπουλος Π., 350, 351, 352, 353
Δήμου Μ., 78,79, 84,85
Διαλλινάς Γ.,156, 157, 222, 223, 240, 241, 318, 319
Δροσόπουλος Ι., 78,79
Δροσοπούλου Ε., 88,89, 166, 167, 168, 169
Δρούζας Α.Δ., 36,37, 90,91

Ε

Ευθυμιόπουλος Σ., 92,93, 254, 255, 336, 337, 342, 343
Ευστρατίου Μ.Α., 10,11
Ζακοπούλου Ρ., 94,95
Ζαμπετάκη Μ., 304, 305
Ζαφειράτος Κ., 94, 95, 381
Ζαφειρόπουλος Α., 96, 97
Ζαχαριουδάκης Γ., 98, 99
Ζηρογιάννης Π., 346, 347
Ζουριδάκης Μ., 100, 101
Ζούρος Ε., 48, 49, 102, 103, 108, 109, 216, 217, 320, 321

Η

Ηλιοπούλου–Γεωργουδάκη Ι., 106, 107, 122, 123

Θ

Θάνος Δ., 176, 177
Θεολογίδης Γ., 108, 109, 320, 321

Ι

Ιακωβίδου Ζ., 220, 221
Ιερεμιάδου Φ., 48, 49
Ισιδωρίδου-Ράδοβιτς Μ., 298, 299
Ιωαννίδη Ε., 110, 111

Κ

Κάγκαλου Ι., 270, 271
Καζάνης Μ.Δ., 112, 113
Κακκανάς Α., 334, 335
Καλαμβόκη Μ., 114, 115, 116, 117
Καλλιαμπάκου Κ., 116, 117
Καλογερίδης Α., 118, 119
Καλογιάννη Μ., 177, 179
Καλπάκης Σ., 356, 357
Καλπαξής Δ.Λ., 228, 229
Καμούτσης Χ., 220, 221
Κανελλής Α., 208, 209, 268, 269
Κανινή Γ.Σ., 120, 121
Κανιούρα Μ., 26,27, 126, 127, 358, 359
Καπράνου Α., 234, 235
Καραγιαννιώτης Γ., 132,133
Καραγκούνη Α.Δ., 120, 121, 192, 193, 194, 195, 278, 279, 308, 309
Καραδήμα Κ., 106, 107, 122, 123
Καραλιώτα Σ., 72,73
Καραμέτου Β., 124,125
Καραμπαμπά Φ.Ι., 32,33
Καραναστάση Γ., 26,27, 126, 127, 358, 359
Καράνη Ε., 128, 129, 316, 317
Καργιολάκης Γ., 130, 131
Καρράς Ε., 132,133, 292, 293
Καρύδης Μ., 20, 21
Καρυστινάκης Κ., 262, 263
Κατινάκης Π., 50, 51, 52, 53, 78, 79, 84, 85
Κατσαλούλης Π., 42, 43
Κατσαρές Β., 134, 135
Κατσαρός Χ., 40, 41, 136, 137
Κατσιάπη Μ., 138, 139
Κατσίφας Ε.Α., 120, 121, 194, 195
Κατσούλας Χ.Λ., 140, 141
Κατσούρη Λ., 346, 347
Κατσώρης Π., 238, 239
Καψανάκη-Γκότση Ε., 142, 143
Κενούτης Χ., 306, 307
Κεντούρη Μ., 304, 305
Κεραμόπουλος Α., 234, 235
Κεφαλιακού-Μπουρδοπούλου Μ., 326, 327
Κεφαλογιάννη Ε., 60,61, 144, 145
Κιαπέκου Ε., 146, 147
Κιόρτσης Β., 373
Κιρτζαλίδου Α., 52, 53
Κίτσιου Δ., 20, 21
Κίτσος Μ-Σ., 314, 315, 356, 357
Κλέτσας Δ., 344, 345
Κοεμτζόπουλος Ε., 148, 149
Κολιάκος Γ., 177, 179
Κολιαλέξη Α., 360, 361
Κολιαράκη Β., 154, 155
Κολιοντζοπούλου Α., 14,15
Κόλλιας Γ., 124,125
Κολοκυθοπούλου Φ., 150, 151
Κομητοπούλου Κ., 182, 183
Κορδοπάτης Π., 366, 367
Κοσμοπούλου Μ.Ν., 186, 187, 364, 365
Κοτζάμπαση Κ., 260, 261
Κοτζιά Γ., 152, 153
Κότσης Δ., 66,67
Κουβάτση Α., 118, 119
Κουβάτση Α., 134, 135
Κουγιανού-Κουτσούκου Σ., 154, 155
Κουκάκη Μ., 156, 157, 240, 241
Κούκουρας Α., 34, 35, 314, 315, 316, 317, 356, 357
Κουλουμέντα Α., 158, 159
Κουνατίδης Η., 160, 161
Κουρμπέτη Μ.Α., 162,163
Κουρουνάκη Α., 260, 261
Κούρτη Α., 164, 165
Κούρτη Ν., 276, 277
Κουρτίδης Α., 166, 167, 168, 169
Κουσουλάκος Σ., 146, 147 170, 171, 172, 173, 210, 211, 218, 219
Κουσουλάκου Δ., 172, 173, 210, 211, 218, 219
Κουτρούμπας Γ., 66, 67, 176, 177
Κουτσοδόντης Γ., 66, 67
Κραβαρίτη Λ., 294, 295
Κυπραίου Α.Π., 174, 175

Κυπραίου Κ.Π., 322, 323
Κυρμιτζόγλου Ι., 316, 317
Κωνσταντακάκη Μ.Ε., 364, 365
Κωνσταντή Ο., 306, 307
Κωνσταντινίδης Δ., 177, 179
Κωνσταντινίδης Θ., 100, 101
Κωσταρίδης Π., 210, 211, 218, 219
Κωτσάκης Ε., 144, 145

Λ

Λαγκουβάρδος Η., 180, 181, 286, 287
Λαγός Δ., 182, 183
Λαδουκάκης Μ., 108,109
Λαδουκάκης Μ., 320, 321
Λάζου Α., 206, 207
Λάϊος Ι., 14, 15
Λάμνησου Κ., 46, 47, 346, 347
Λάμπρου Ν.Ε., 152, 153
Λαναράς Θ., 138, 139
Λεκανίδου Ρ., 248, 249, 294, 295
Λεονάρδος Ι., 34, 35, 270, 271, 314, 315
Λεονταρίτης Γ., 72, 73
Λεωνίδας Δ.Δ., 184, 185, 186, 187, 364, 365
Λιακόπουλος Θ., 42, 43, 188, 189, 256, 257, 300, 301, 312, 313
Λίτου Ζ., 42, 43, 250, 251, 256, 257, 362, 363
Λομβαρδάς Σ., 176, 177
Λουμπουρδής Ν., 190, 191
Λουτράδη Α., 32, 33
Λουτράδης Δ., 146, 147
Λυμπεράκης Π., 12, 13, 14, 15
Λυμπέρη Π., 132, 133, 292, 293
Λυμπέρη Σ., 160, 161
Λυμπεροπούλου Δ.Σ., 192, 193, 278, 279

Μ

Μαβίδης Μ., 34, 35
Μαγκούτα Σ., 194, 195
Μακατσώρης Κ., 46, 47
Μακρής Α., 208, 209
Μακρυγεωργάκη Μ., 130, 131
Μαμαλάκη Α., 244, 245
Μάμαλη Ι., 224, 225
Μαντζίκου Ε., 198, 199
Μανώλης Σ.Κ., 94, 95, 130, 131, 264, 265, 338, 339
Μαραγκού Π., 6,7
Μαργαρίτης Λ.Χ. 32, 33, 68, 69, 96, 97, 172, 173, 200, 204, 205, 224, 225, 226, 227, 236, 237, 306, 307, 372
Μαργέτης Π.Ι., 204, 205
Μαργωμένου Λ.Μ., 140, 141
Μαριδάκη Κ., 26,27, 126, 127, 358, 359
Μαρκάκη Σ., 234, 235
Μάρκου Θ., 206, 207
Μαρμάρη Α., 60,61
Μάτσα Ρ., 244, 245, 266, 267
Μαυραγάνη-Τσιπίδου Π., 88, 89, 160, 161
Μαυρή Μ., 72,73
Μαυρόγιαννου Ε., 210, 211, 218, 219
Μαυρομαρά Π., 44,45,114, 115, 116, 117, 334, 335
Μαυροματίδης Β., 212, 213
Μαυρομμάτης Ι., 234, 235
Μαύρου Α., 360, 361
Μεϊντάνης Χ., 192, 193, 194, 195, 308, 309
Μελά Α., 214, 215
Μερίκα Μ., 176, 177
Μερκουρόπουλος Γ., 208, 209
Μεσσήνη-Νικολάκη Ν., 26,27, 126, 127, 358, 359
Μεταξωτού Α., 360, 361
Μηνά Α., 14, 15
Μίζη Α., 216, 217
Μιόγλου Ε., 220, 221
Μιχάκη Β., 254, 255
Μοδές Β., 224, 225
Μοσχονάς Ν., 216, 217
Μουδριανάκης Ε.Ν., 383
Μουκούλη Μ., 210, 211, 218, 219
Μουλαλής Δ., 36,37
Μουρελάτος Δ., 220, 221
Μουστάκα Μ., 138, 139, 296, 297
Μπάγκος Π.Γ., 24,25,42,43, 188, 189, 250, 251, 300, 301
Μπαζός Ι., 70, 71
Μπάκου Β., 224, 225
Μπακούλια Π., 106, 107
Μπαξεβάνης Α.Δ., 212, 213

Μπαξεβάνης Κ.Ν., 140, 141
Μπαρδαμάσκος Γ., 142, 143
Μπέης Ι., 60,61, 144, 145
Μπερέτσος Π., 146, 147
Μπλέτσα Ρ., 146, 147
Μπουγιούκος Κ., 180, 181, 286, 287
Μπουζαρέλου Δ., 222, 223
Μπουζιώτη Π., 366, 367
Μπρεζετού Ε., 18, 19
Μυλωνάς Μ., 12, 13

Ν

Ναθαναηλίδης Κ., 270, 271
Νακοπούλου Λ., 234, 235
Ναστόπουλος Β., 288, 289
Νέζης Ι.Π., 224, 225
Νεοφύτου Χ., 128, 129
Νικήτα Β., 88, 89
Νικολάκαινα Ε., 18, 19
Νικολαρόπουλος Σ., 158, 159
Νοΐδου Μ., 356, 357
Ντάλιας Π., 16, 17
Ντούλης Α., 196, 197
Ντουντουνάκης Σ., 358, 359
Ντουρούπη Τ.Γ., 226, 227

Ξ

Ξανθόπουλος Σ., 366, 367
Ξαπλαντέρη Μ.Α., 228, 229

Ο

Οικονομάκος Ν.Γ., 186, 187, 364, 365
Οικονομίδου Β., 42, 43, 162, 163, 230, 231
Οικονόμου Ν., 124, 125

Π

Πάλμου Α., 232, 233
Παναγιωτοπούλου Ε.Γ., 234, 235
Παναγιώτου Γ., 140, 141
Παναγόπουλος Δ.Ι., 236, 237
Παναγοπούλου Π., 238, 239
Πανέτσος Κ.Π., 36,37
Πανταζοπούλου Α., 240, 241
Παντζαρτζή Χ., 166, 167
Πάντου Μ.Π., 242, 243
Παπαγεωργίου Α., 220, 221
Παπαδέλης Ε., 252, 253
Παπαδημητρίου Ε., 238, 239
Παπαδόδημα Ο., 244, 245
Παπαμιχαήλ Μ., 140, 141
Παπανδρέου Ν., 42, 43, 362, 363
Παπανικολάου Ι., 246, 247
Παπαντώνης Α., 248, 249
Παπασάικας Π.Κ., 250, 251
Παπασιδέρη Ι., 32, 33, 96, 97, 204, 205, 224, 225, 226, 227, 306, 307
Παππά Α., 252, 253
Παππά Ε., 62, 63
Παραμυθιώτης Δ., 260, 261
Παρασκευά-Χατζηχαμπή Δ., 352, 353
Παρισιάδου Λ., 254, 255
Πασέντσης Κ., 268, 269
Πάσχος Ι., 270, 271
Πάσχου Ε.Ε., 256, 257
Παταργιάς Θ., 377
Πατεράκη Ε., 208, 209
Παυλίδης Μ., 304, 305
Παύλου Κ., 42,43, 258, 259
Παφίλης Π., 4,5, 6,7, 14,15,310, 311
Περιμένης Π., 238, 239
Περούλης Ν., 260, 261
Πετανίδου Θ., 76,77, 262, 263
Πετράτος Κ., 246, 247
Πετρόπουλος Β., 64, 65
Πέτρου Χ., 366, 367
Πετρουτσά Ε.Ι., 264, 265, 338, 339
Πέτσικος Μπ., 16, 17
Πιπεράκης Σ.Μ. 26, 27, 126, 127, 358, 359
Πολίτης Π., 266, 267
Πουλακάκης Ν., 12,13
Πουλόπουλος Α., 342, 343
Πράπα Σ., 332, 333
Πρασσά Μ., 270, 271
Προκόβα Β., 66, 67
Προμπονάς Β., 42, 43, 54, 55, 272, 273

Ρ

Ραδέα Κ., 274, 275
Ράπτη Κ., 276, 277

Ρεντινιώτη Α.Α., 192, 193, 278, 279
Ριζοπούλου Σ., 110, 111, 198, 199, 280, 281
Ρίζου Α., 280, 281
Ροδάκης Γ.Κ., 48, 49, 68, 69, 216, 217, 282, 283
Ρούβαλη Α., 106, 107
Ρούσσο Ι., 330, 331

Σ

Σαββίδου Ε., 182, 183
Σαλίχος Λ., 180, 181
Σαλίχος Λ., 286, 287
Σαμιωτάκη Μ., 140, 141, 276, 277
Σέκερη-Παταργιά Κ.Ε., 174, 175, 322, 323
Σεκερλή Ε., 290, 291, 330, 331, 332, 333
Σεργάκη Μ., 244, 245
Σιαμαντζιούρας Ά., 18, 19
Σιώμου Ε., 290, 291
Σιώμου Ε., 330, 331
Σκοπελίτη Μ., 292, 293
Σκούρας Ζ.Γ., 166, 167, 168, 169, 322, 323
Σούρδη Α., 180, 181, 286, 287
Σούρδης Ι., 68, 69
Σουρλίγκα Θ.Γ., 174, 175, 322, 323
Σουρμελή Σ., 294, 295
Σοφιανοπούλου Β., 302, 303
Σοφιανοπούλου Β., 222, 223
Σοφοκλέους Χ., 360, 361
Σπάστρα Π., 262, 263
Σπερδούλη Η., 296, 297
Σπηλιόπουλος Γ., 106, 107
Σπηλιόπουλος Π., 298, 299
Σπυρόπουλος Ι.Χ., 300, 301
Στάικου Α., 148, 149
Σταματάκης Κ., 302, 303
Στεριώτη Α., 304, 305
Στεφανίδου Δ., 306, 307
Στεφάνου Γ., 28,29,158, 159, 252, 253
Στραβοπόδης Δ.Ι., 32, 33, 96, 97, 224, 225, 226, 227
Στραϊτούρης Α., 308, 309
Στράτης Ν., 366, 367
Συνετός Δ., 100,101
Σφέτσας Χ., 152, 153
Σωζόπουλος Η., 310, 311

Τ

Τζαβάρας Ν.Θ., 312, 313
Τζάμος Ε.Κ., 50,51
Τζάμος Σ., 50,51
Τζερμιά Μ., 66,67
Τζώμος Θ., 314, 315, 316, 317
Τουρναβίτη Σ., 318, 319
Τράγκα Θ., 276, 277
Τριανταφυλλίδης Α., 134, 135
Τριανταφυλλίδης Κ., 134, 135
Τρουγκάκος Π.Ι., 354, 355
Τρούμπης Α., 8,9,18, 19
Τσαγκαράκης Δ., 48,49
Τσανάκας Ι., 118, 119
Τσαούσης Α., 108,109, 320, 321
Τσάπαλη Δ.Σ., 322, 323
Τσαπικούνης Φ.Α., 324, 325, 326, 327, 328, 329
Τσελεπίδης Α., 314, 315, 316, 317
Τσερνόγλου Δ., 86, 87, 288, 289
Τσίγκα Α., 290, 291, 330, 331, 332, 333
Τσιλιμιγκάκη Σ., 26, 27, 126, 127, 358, 359
Τσινασλανίδου Ζ., 220, 221
Τσιρτσής Γ., 20, 21
Τσίτουρα Π., 334, 335
Τσιτσιλώνη Ο., 140, 141, 292, 293
Τύπας Μ.Α., 242, 243

Φ

Φαλάρα Β. , 268, 269
Φάνη Μ., 366, 367
Φάσσα Α., 336, 337
Φερλέ Β., 144, 145
Φλεμετάκης Ε., 52,53, 78,79
Φλεμετάκης Μ., 84,85
Φλωρεντίν-Αραρ Λ., 46,47
Φουντουλάκης Γ., 338, 339
Φραγκιαδάκης Γ.Σ., 56,57, 66,67
Φριλίγγος Ε., 340, 341
Φρυσίρα Ε., 360, 361
Φωτεινοπούλου Α., 336, 337, 342, 343

Χ

Χάλκου Κ.Ι., 192, 193, 278, 279
Χαμόδρακας Ι., 42,43
Χαμόδρακας Σ.Ι. 24,25, 42,43,54,55, 162,163, 188, 189, 230, 231, 250, 251, 256, 257, 258, 259, 272, 273, 300, 301, 312, 313, 362, 363
Χανδρής Π., 344, 345
Χαρτόσια Ν., 128, 129, 314, 315, 316, 317
Χατζή Β., 168, 169
Χατζηπαναγή Δ., 346,347
Χατζηπαυλίδης Ι., 52,53
Χατζηπέτρου Λ., 260, 261
Χατζηχαμπής Α.Χ., 348, 349, 350, 351
Χατζηχαμπής Α.Χ., 352, 353
Χατζόπουλος Π., 208, 209
Χιντήρογλου Χ., 166, 167
Χονδρογιάννη Ν., 354, 355
Χρηστιάς Χ., 104,105, 324, 325, 326, 327, 328, 329
Χριστοδούλου Μ., 356, 357
Χριστόπουλος Γ., 26,27,126, 127, 358, 359
Χρίστου Γ., 346, ,347
Χρίστου Κ., 126, 127
Χριστοφίδου Χ., 360, 361
Χριστοφορίδης Χ.Σ., 362, 363
Χρυσάνθου-Πιτερού Μ., 298, 299
Χρυσικός Γ.Δ., 230, 231
Χρυσίνα Ε.Δ., 186, 187, 364, 365

Ψ

Ψαλτόπουλος Π., 18, 19
Ψημάδας Δ., 366, 367